

BIBLIOTHÈQUE
SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION
DE M. ÉM. ALGLAVE

XIII

**BIBLIOTHÈQUE
SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE**

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

DE M. ÉM. ALGLAVE

Volumes in-8, reliés en toile anglaise. Prix : 6 fr.

82 VOLUMES PARUS

DERNIERS OUVRAGES PUBLIÉS :

- Stanislas Meunier.** LA GÉOLOGIE COMPARÉE, avec 36 figures. 6 fr.
Jaccard. LE PÉTROLE, L'ASPHALTE ET LE BITUME au point de vue géologique, avec figures. 6 fr.
A. Angot. LES AUBORES POLAIRES, avec figures. 6 fr.
P. Brunache. LE CENTRE DE L'AFRIQUE (Autour du Tchad), avec 41 figures et 1 carte. 6 fr.
De Quatrefages. LES ÉMULES DE DARWIN, avec préfaces de MM. E. PÉRIER et HAMY. 2 vol. 12 fr.
— DARWIN ET SES PRÉCURSEURS FRANÇAIS. 2^e édition, augmentée 6 fr.
André Lefèvre. LES RACES ET LES LANGUES 6 fr.
A. Binet. LES ALTÉRATIONS DE LA PERSONNALITÉ, avec figures 6 fr.
Topinard. L'HOMME DANS LA NATURE, avec 101 figures 6 fr.
S. Arloing. LES VIRUS, avec 47 figures 6 fr.
Starcke. LA FAMILLE PRIMITIVE 6 fr.
Sir J. Lubbock. LES SENS ET L'INSTINCT CHEZ LES ANIMAUX, et principalement chez les Insectes, avec 117 figures. 6 fr.
Berthelot. LA RÉVOLUTION CHIMIQUE, LAVOISIER, avec figures. 6 fr.
Cartailhac. LA FRANCE PRÉHISTORIQUE, avec 162 figures. 2^e édit. 6 fr.
Baunis. LES SENSATIONS INTERNES 6 fr.
A. Falsan. LA PÉRIODE GLACIAIRE, principalement en France et en Suisse, avec 105 figures. 6 fr.
Richet (Ch.). LA CHALEUR ANIMALE, avec figures. 6 fr.
Sir John Lubbock. L'HOMME PRÉHISTORIQUE étudié d'après les monuments et les costumes retrouvés dans les différents pays de l'Europe, suivi d'une étude sur les mœurs et les coutumes des sauvages modernes, avec 228 gravures, 3^e édition. 2 vol 12 fr.
Daubrée. LES RÉGIONS INVISIBLES DU GLOBE ET DES ESPACES CÉLESTES, avec 78 figures, 2^e édition, revue et augmentée 6 fr.
F. Lagrange. PHYSIOLOGIE DES EXERCICES DU CORPS, 7^e édit. 6 fr.
Dreyfus (C.). L'ÉVOLUTION DES MONDES ET DES SOCIÉTÉS, 3^e édition 6 fr.
Romanes. L'INTELLIGENCE DES ANIMAUX. 2^e édition, 2 volumes 12 fr.
Binet et Féré. LE MAGNÉTISME ANIMAL, avec figures, 4^e édition. 6 fr.
Schmidt (O.). LES MAMMIFÈRES DANS LEURS RAPPORTS AVEC LEURS ANCÊTRES GÉOLOGIQUES, avec 51 figures. 6 fr.
Stallo. LA MATIÈRE ET LA PHYSIQUE MODERNE, 2^e édition précédée d'une introduction par FRIEDEL 6 fr.
Perrier (Edm.). LA PHILOSOPHIE ZOOLOGIQUE AVANT DARWIN, 3^e édition. 6 fr.
Sir John Lubbock. FOURMIS, ABELLES ET GUÊPES. Etudes expérimentales sur l'organisation et les mœurs des sociétés d'insectes hyménoptères, 2 vol. avec 65 fig. dans le texte et 13 planches hors texte, dont 5 coloriées. 12 fr.

OUVRAGES SUR LE POINT DE PARAÎTRE

- Du Mesnil.** L'HYGIÈNE DE LA MAISON, avec figures.
Cornil. LA MICROBIOLOGIE, avec figures.
Roché. LA CULTURE DES MERS, avec figures.
Kunckel d'Herculais. LES SAUTERELLES, avec figures.
Guignet. POTERIES ET ÉMAUX.
Ed. Perrier. L'EMBRYOGÉNIE GÉNÉRALE, avec figures.
De Lanessan. LA COLONISATION.

ÉVREUX, IMPRIMERIE DE CHARLES HÉRISSE

LES
FERMENTATIONS

PAR

P. SCHÜTZENBERGER

Membre de l'Institut.

AVEC 28 FIGURES DANS LE TEXTE

SIXIÈME ÉDITION

ENTIÈREMENT REFONDUE

PARIS

ANCIENNE LIBRAIRIE GERMER BAILLIÈRE ET C^{ie}

FÉLIX ALCAN, ÉDITEUR

108, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 108

1896

Tous droits réservés.

INTRODUCTION

Les fermentations ne sont que des cas particuliers choisis dans l'ensemble des phénomènes chimiques dont les organismes vivants sont le siège; elles se présentent à nous, ainsi que toutes les réactions biologiques, comme des manifestations de la force spéciale qui réside dans ces organismes, ou plutôt dans leurs éléments cellulaires.

En laissant au second plan la nature du corps qui fermente et les produits qui en dérivent, rien ne distingue les fermentations des autres transformations chimiques qui se passent dans l'économie animale ou végétale.

Si la production d'alcool et d'acide carbonique aux dépens du sucre, si la conversion de la glucose en acide lactique, en acide butyrique, si enfin d'autres phénomènes du même ordre ont été classés à part, sous le nom général de fermentations, la raison en est à ce que pendant longtemps on avait méconnu la cause réelle de ces transformations curieuses. On ne s'était pas aperçu qu'elles avaient pour origine la présence d'organismes vivants, ou tout au moins de principes qui en dérivent directement.

Il résulte de là que, dans l'état actuel de la science, il n'y a plus aucun intérêt à spécialiser par un nom ces diverses réactions; qu'il convient, au contraire, de les

faire rentrer dans la série des phénomènes chimiques de l'organisme vivant. Aussi de deux choses l'une : Ou nous supprimerons le mot fermentation, en tant qu'expression générale s'appliquant à un certain ordre de phénomènes ; ou nous désignerons ainsi tous ceux qui, par les conditions spéciales où ils se produisent, sont évidemment dus à l'intervention d'une force distincte de celles que nous manions dans nos laboratoires.

Il est vrai que les organismes, qui provoquent ce que l'on a appelé jusqu'à présent des fermentations, sont des organismes simples, élémentaires, réduits à une cellule unique ; mais qu'est-ce qu'un végétal ou un animal d'un ordre élevé, sinon la réunion, d'après des lois spéciales, de diverses espèces de cellules, dont chacune fonctionne suivant un sens déterminé ? Lorsque, comme l'a remarqué M. Pasteur, nous semons à la fois, dans le même milieu sucré, de la levure alcoolique, de la levure lactique et du ferment butyrique, ne voyons-nous pas intervenir trois réactions distinctes, dont l'une dédouble le sucre en alcool et acide carbonique, dont la seconde le convertit en acide lactique, et la dernière en acide butyrique ?

Plus un organisme est simple, moins il renferme d'ordres spéciaux de cellules, plus les réactions chimiques qui s'y passent sont simples aussi et faciles à démêler, à isoler par l'expérience. Plus, au contraire, la constitution histologique est variée et hétérogène, plus aussi nous voyons apparaître de composés distincts, comme produits des phénomènes chimiques multiples qui se passent dans les divers tissus.

Comme conséquence de ce que nous venons de dire, notre cadre se trouverait notablement élargi, et l'histoire des fermentations deviendrait celle des phénomènes chimiques dans les êtres vivants.

Cependant, nous ne donnerons pas à cette étude une pareille extension, et nous nous bornerons à l'examen des

phénomènes qui ont été jusqu'ici désignés sous le nom de fermentations. Ainsi restreinte, l'histoire des fermentations peut être considérée comme une introduction à la chimie biologique.

En effet, on voit facilement, d'après les considérations précédentes, que l'étude approfondie des ferments proprement dits, ou plutôt des organismes élémentaires et de leur manière d'être, doit devancer celle des êtres plus complexes. Nous comprenons mieux les propriétés du granit, et l'influence qu'exercent sur lui l'eau et les agents atmosphériques, lorsque nous avons appris qu'il est formé de cristaux juxtaposés de quartz, de feldspath et de mica, et que nous avons étudié les caractères chimiques de chacun de ces composés. De même, l'étude des manifestations chimiques de la force vitale, dans les organismes cellulaires, est destinée à jeter une vive lumière sur les fonctions plus complexes des végétaux et des animaux supérieurs. C'est ce qu'a compris M. Pasteur et ce qu'ont compris, après lui, tous ceux qui ont abordé l'étude physiologique des fermentations et du développement des organismes cellulaires.

Une cellule vivante de levure de bière possède la propriété de décomposer en alcool, en glycérine et en acides carbonique et succinique le sucre interverti qui pénètre par endosmose à travers sa membrane enveloppe.

Remplaçons la cellule de levure de bière par une cellule de levure lactique, nous voyons encore le sucre disparaître ; mais les produits dans lesquels se retrouvent les éléments pondérables de la glucose sont différents : au lieu d'alcool et d'acide carbonique, nous avons de l'acide lactique. Evidemment le *modus faciendi* de l'action chimique de cette cellule n'est pas le même que celui de la première. Est-ce à dire qu'il existe dans les cellules vivantes autant de forces chimiques spéciales que de réactions ? Nous ne le pensons pas.

Lorsqu'on reçoit sur un prisme un faisceau de lumière solaire, les éléments constitutifs de ce faisceau sont isolés, grâce à leur inégale réfrangibilité. Les rayons les moins réfrangibles se révèlent à nous par les effets du calorique (dilatation des corps et changements d'état); viennent ensuite les divers rayons lumineux qui provoquent sur la rétine les impressions colorées du spectre; puis enfin, au delà du violet, une série de rayons invisibles et qui ne sont révélés que par leur action décomposante sur certaines combinaisons (sels d'argent, etc.). Or nous savons aujourd'hui que tous ces rayons calorifiques, lumineux, chimiques, dont les uns chauffent sans éclairer, dont les autres éclairent sans chauffer ou provoquent des réactions chimiques, ne diffèrent que par la rapidité du mouvement vibratoire de l'éther, et ne se distinguent essentiellement que par la longueur d'onde. Il est possible qu'un lien analogue relie les forces chimiques des divers organismes élémentaires. Du sable répandu uniformément à la surface d'une plaque vibrante se réunit en lignes nodales de diverses formes suivant l'acuité du son que nous tirons de cette plaque avec un archet; de même les composés chimiques peuvent se résoudre en combinaisons plus simples, variant dans leur espèce avec le rythme vibratoire qui les entame.

La transformation du sucre en alcool et acide carbonique, la conversion du même corps en acide butyrique, sont, encore à l'heure qu'il est, des phénomènes chimiques que nous ne pouvons reproduire par l'intervention seule de la chaleur, ni par le concours de la lumière ou de l'électricité. La possibilité d'entamer ainsi, dans une direction déterminée, l'édifice complexe que nous appelons sucre, édifice formé d'atomes de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, groupés suivant une loi déterminée, paraît jusqu'à présent liée à l'activité vitale de la cellule de levure, mais en sera-t-il toujours ainsi et n'arrivera-t-on

jamais à réaliser en dehors de la vie le mécanisme moléculaire de la décomposition du sucre en alcool et en acide carbonique ?

Devons-nous nous arrêter devant cette muraille que personne n'a pu franchir encore, et dire aux chimistes : Vous n'irez pas plus loin ! car au delà c'est le domaine de la vie et vous n'en disposez point. L'histoire de la science est là pour nous montrer toute la vanité de ces barrières soi-disant infranchissables. En publiant son beau traité de chimie organique, Gerhardt avait cru pouvoir dire :

« La force vitale seule opère par synthèse et reconstruit l'édifice abattu par les forces chimiques. »

Quelques années plus tard, M. Berthelot, par une brillante suite de découvertes, ouvrait la brèche des synthèses organiques et fixait les principales conditions dans lesquelles elles peuvent s'effectuer.

Dans une remarquable leçon sur la dyssymétrie moléculaire (Leçons de la Société chimique de Paris, 1860), M. Pasteur avait établi une distinction capitale entre les produits organiques artificiels et les composés formés sous l'influence des êtres vivants.

« Tous les produits artificiels des laboratoires sont à image superposable. Au contraire, la plupart des produits organiques naturels, je pourrais dire tous, si je n'avais à nommer que ceux qui jouent un rôle essentiel dans les phénomènes de la vie végétale et animale, tous les produits essentiels à la vie sont dyssymétriques, et de cette dyssymétrie qui fait que leur image ne peut leur être superposée. » Et plus loin : « On n'a pas encore réalisé la production d'un corps dyssymétrique à l'aide de composés qui ne le sont pas. »

Cette distinction, parfaitement justifiée par les faits connus jusqu'alors, ne tardait cependant pas à être écartée à son tour.

Deux savants anglais (Perkin et von Dupa) parvenaient

à transformer l'acide succinique en acide tartrique. M. Pasteur reconnaissait lui-même que le produit artificiel de Perkin est un mélange d'acide paratartrique et d'acide tartrique inactif. Or, l'acide paratartrique se dédouble facilement, d'après les belles recherches de Pasteur, en acide tartrique droit et en acide tartrique gauche, et M. Jungfleisch nous a montré que l'acide tartrique inactif chauffé avec de l'eau à 175° se convertit partiellement en acide paratartrique.

L'acide succinique employé par les chimistes anglais provenait de l'oxydation du succin. Ce n'était pas un produit synthétique; on pouvait croire que, bien qu'inactif, il résultait, comme l'acide racémique, de l'union de deux molécules actives et inverses. Jungfleisch a levé ce dernier doute. Il a préparé, d'après une méthode connue, l'acide succinique synthétique, au moyen du cyanure d'éthylène et de la potasse. Cet acide a fourni de l'acide paratartrique, comme celui du succin.

Nous savons du reste maintenant, grâce aux travaux de MM. Le Bel et Van t'Hoff, à quoi tient la dyssymétrie moléculaire des composés organiques. Il suffit, pour qu'elle apparaisse, qu'il y ait dans la molécule un atome de carbone lié à quatre éléments ou radicaux distincts. La synthèse chimique permet aujourd'hui de réaliser de toutes pièces la formation de semblables composés, sans le concours des organismes vivants.

Les barrières posées entre les produits naturels et artificiels disparaissent ainsi successivement, et il convient d'être très réservé dans les distinctions que l'on croit pouvoir établir entre les réactions chimiques de l'organisme vivant et celles du laboratoire. De ce qu'un phénomène chimique n'a pu encore être provoqué que sous l'influence de la vie, il ne s'ensuit pas qu'il ne pourra jamais l'être autrement.

Personne ne peut plus admettre aujourd'hui que la force

vitale a puissance sur la matière pour changer, contre-balancer, annuler le jeu naturel des affinités chimiques. Ce que l'on est convenu d'appeler affinité chimique n'est pas une force absolue; cette affinité se modifie d'une foule de manières, dès que les circonstances qui enveloppent les corps varient. Aussi les différences apparentes entre les réactions du laboratoire et celles de l'organisme doivent-elles être cherchées surtout dans les *conditions spéciales* que ce dernier a pu seul réunir jusqu'à présent.

En d'autres termes, il n'y pas réellement de force vitale chimique. Si les cellules vivantes provoquent des réactions qui semblent spécifiques pour elles, c'est parce qu'elles réalisent des conditions de mécanique moléculaire que nous n'avons pu encore saisir, mais que l'avenir nous réserve, *sans aucun doute*, de trouver. La science ne peut rien gagner à être limitée dans la possibilité des buts qu'elle se propose et de la fin qu'elle poursuit.

Si, dans la suite, nous employons encore l'expression de force vitale chimique d'un organisme élémentaire, il est bien entendu que dans notre pensée ces mots signifient : réalisation des conditions de mécanique moléculaire nécessaires pour provoquer telle ou telle réaction.

Sans nous arrêter davantage à ces considérations générales qui ne sont encore que de simples hypothèses, se présentant naturellement à l'esprit de celui qui cherche à se rendre compte des causes déterminantes d'effets observés, mais sur lesquelles il ne convient pas d'insister pour le moment, nous aborderons sans plus tarder l'examen des faits.

L'étude des fermentations peut être partagée en deux parties, d'après la nature du ferment. La première comprendra les fermentations que l'on attribue à l'intervention d'un ferment organisé ou figuré; la seconde sera réservée aux fermentations provoquées par des produits solubles, élaborés par les organismes vivants.

Dans toute cette monographie des fermentations, le grand nom de Pasteur se présentera si souvent sous notre plume, le vaste et bel ensemble de ses travaux domine tellement tout ce qui a été fait dans cette voie, il a jeté une telle lumière sur ces questions capitales qu'en dédiant à sa mémoire cette seconde édition d'un livre déjà ancien, nous croyons remplir un devoir de reconnaissance scientifique.

LES FERMENTATIONS

FERMENTATIONS DUES AUX ORGANISMES CELLULAIRES OU FERMENTATIONS DIRECTES

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Le mot fermentation dérive de *fervere*, bouillir; il doit évidemment son origine à la réaction que présentent les liquides sucrés, lorsqu'ils sont abandonnés à eux-mêmes ou mis en présence de levure. On constate, en effet, dans ce cas, un dégagement de gaz plus ou moins abondant, qui fait mousser, bouillir le liquide. Le sucre disparaît et le produit devient spiritueux. Ce n'est que plus tard que cette expression de fermentation a été appliquée à d'autres phénomènes, dans lesquels un corps organique se modifie, s'altère, se transforme sous l'influence d'une cause restée longtemps occulte et mal définie. Ainsi, l'on a désigné par fermentation l'acidification du vin; bien que dans ce cas il n'y ait pas d'effervescence. On avait plutôt en vue l'analogie de cause déterminante que l'apparence du phénomène.

La fermentation alcoolique est la plus anciennement connue, et aussi la plus étudiée des réactions de cet ordre. C'est Osiris, selon les Égyptiens, Bacchus d'après les Grecs, Noé suivant la tradition israélite, qui apprirent aux hommes l'art de cultiver la vigne et de fabriquer le vin. Moïse distingue dans ses livres le pain sans levain du pain levé, et raconte que, lors de leur

fuite d'Égypte, les Israélites furent tellement pressés qu'ils n'eurent pas le temps de mettre du levain dans leur pâte. Les anciens se servaient, comme levain pour le pain, soit d'une pâte ancienne et devenue acide, soit de levure de bière. « Gallia et Hispania frumento in potum resoluta, spuma ita concreta pro fermento utuntur, quâ de causa levior illis, quam ceteris, panis est, » dit Pline qui ajoute que dans la fermentation du pain, c'est l'acidité qui est surtout active. Dès la plus haute antiquité, aussi bien en Égypte qu'en Germanie, on connaissait certains liquides fermentés, préparés avec des sucres naturels, abandonnés à la fermentation; tels que la bière, l'hydromel, le vin de palmier, le cidre.

En résumé, il résulte de tous les documents anciens que la fermentation alcoolique était connue empiriquement dans ses principaux effets, et utilisée à une époque bien plus reculée que celle qui nous a laissé des traces écrites de son histoire.

Parmi les écrits des alchimistes du XIII^e au XV^e siècle, on trouve très fréquemment les expressions de fermentation et de ferments (*fermentatos* et *fermentum*), sans qu'il soit facile de se faire une idée nette de ce qu'ils comprenaient par là. Pour eux, la distinction entre les substances minérales et organiques n'existait pas; les phénomènes d'altération des produits organiques étaient assimilés et confondus avec les transformations des composés minéraux, avec les dissolutions des sels et des métaux. Bien souvent le mot ferment s'applique à la *Pierre philosophale* elle-même.

« Apud philosophos fermentum dupliciter videtur dici: Uno modo ipse lapis philosophorum et suis elementis compositus, et completus in comparatione ad metalla; alio modo illud, quod est perficiens lapidem et ipsum complens ¹.

« De primo modo dicimus, quod sicut fermentum pastæ vincit pastam, et ad se convertit semper, sic et lapis convertit ad se metalla reliqua. Et sicut una pars fermenti pastæ habet convertere infinitas partes pastæ et non converti, sic et hic lapis habet convertere plurimas partes metallorum ad se, et non converti. »

(1) Petrus Bonus de Ferrare, 1330-1340.

On voit que l'écrivain est surtout frappé de ce fait, qu'une très petite quantité de levain transforme en levain nouveau une proportion pour ainsi dire indéfinie de pâte. Cette propriété de transmettre une force à une grande masse, sans s'affaiblir, doit précisément caractériser la pierre philosophale tant cherchée.

Dans son *Char de triomphe de l'Antimoine*, Basile Valentin admet que la levure, employée dans la préparation de la bière, communique au liquide une inflammation intérieure, et détermine par là une purification et une séparation des parties claires d'avec les parties troubles. L'alcool, dont il connaissait la présence dans le liquide fermenté, préexiste pour lui dans la décoction d'orge germée; mais il ne devient actif et susceptible d'être séparé par distillation qu'après avoir été débarrassé des impuretés qui l'accompagnent et qui masquent ses propriétés spéciales.

Pour Libavius (*Alchymia*, 1595) : « Fermentatio est rei in substantia, per admisionem fermenti quod virtute per spiritum distributo totam penetrat massam et in suam naturam immutat, exaltatio. » Le ferment doit être de nature semblable à celle de la matière qui entre en fermentation, et celle-ci doit être liquide ou tout au moins dans un état de grande division; l'agent principal réside dans la chaleur du ferment.

De même que les chimistes d'une époque postérieure, Libavius rapproche la fermentation et la putréfaction, qu'il considère comme des effets différents d'une même cause. Il s'élève, au contraire, contre la confusion que l'on a faite entre la digestion et la fermentation. La digestion pour lui est un (motus admisionem, non ad perfectionem), comme l'est la fermentation.

L'école iatrochimique attribua un rôle prépondérant aux fermentations, et confondit même sous cette dénomination un grand nombre de réactions chimiques.

Ainsi Van Helmont s'exprime comme il suit dans son *Ortus medicinx* (1648) : « Docebo omnem transmutationem formalem præsupponere fermentum corruptivum. »

La formation des gaz intestinaux, la production du sang et des liquides animaux, les générations spontanées, l'effervescence de la craie sous l'influence des acides sont autant de phénomènes où intervient la fermentation.

Van Helmont eut cependant le mérite, disons-le en passant, de distinguer nettement la production d'un gaz spécial (gaz vinorum) pendant la fermentation alcoolique. Il dit que ce gaz vinorum est différent de l'esprit-de-vin, comme il a pu s'en assurer par des expériences. On ne saurait affirmer, d'après ses écrits, s'il a reconnu ou non l'identité du gaz vinorum et du gaz carbonum produit pendant la combustion du charbon.

En 1664, Wren fait observer que le gaz produit par la fermentation alcoolique est absorbable par l'eau, comme celui qui se dégage par l'action d'un acide sur le sel de tartre.

Silvius de la Boë (1659) ne consent pas à envisager l'effervescence des alcalis carbonatés sous l'influence des acides comme un phénomène de même ordre que la fermentation.

Dans le premier cas il y aurait combinaison, dans le second décomposition.

Lémery (*Cours de chimie*, 1675) n'est pas aussi explicite lorsqu'il dit : « La fermentation qui arrive à la paste, au moust, et à toutes les autres choses semblables, est différente de celle dont nous venons de parler (effervescence), en ce qu'elle est bien plus lente; elle est excitée par le sel acide naturel de ces substances, lequel se dégageant et s'exaltant par son mouvement, raréfie et élève la partie grossière et huileuse qui s'oppose à son passage, d'où vient qu'on voit soulever la matière.

« La raison pour laquelle l'acide ne fait point fermenter les choses sulfureuses avec tant de bruit et tant de promptitude qu'il fait fermenter les alcalis, c'est que les huiles sont composées de parties pliantes qui cèdent à la pointe de l'acide, comme un morceau de laine ou de coton céderait à des aiguilles qu'on pousserait dedans. Ainsi il me semble qu'on pourrait admettre deux sortes de fermentations; une qui serait de l'acide avec l'alcali, et on l'appellerait effervescence; et l'autre qui serait, lorsque l'acide raréfie peu à peu une matière molasse comme la paste, ou claire et sulfureuse comme le moust, le sydre et tous les autres sucs de plantes; on nommerait cette dernière sorte, fermentation. »

A propos de la fermentation alcoolique, Lémery dit encore : « Pour expliquer cet effet, il faut savoir que le moust contient

beaucoup de sel essentiel; ce sel comme volatil faisant effort dans la fermentation pour se détacher des parties huileuses par lesquelles il était comme lié, il les pénètre, il les divise et il les écarte jusqu'à ce que par ses pointes subtiles et tranchantes, il les ait raréfiées en esprit; cet effort cause l'ébullition qui arrive au vin, et en même temps sa purification; car il en fait séparer et écarter les parties les plus grossières en forme d'écume, dont une portion s'attache et se pétrifie aux côtés du vase, et l'autre se précipite au fond, c'est ce qu'on appelle le tartre et la lie. L'esprit inflammable du vin n'est donc autre chose qu'une huile exaltée par des sels. »

Nous trouvons dans les travaux et les écrits de Becher (1682) un progrès très marqué dans l'étude des produits de la fermentation. Le premier, il fait ressortir le fait capital que les liquides sucrés sont seuls capables d'entrer en fermentation spiritueuse. Pour lui l'alcool ne préexiste pas dans le moût, mais se forme pendant le travail de fermentation; l'intervention de l'air est nécessaire pour provoquer le phénomène qu'il considère comme analogue de la combustion. Becher réunit sous le nom de fermentation : les productions de gaz par effervescence ou dans l'estomac des animaux malades (intumefactio), la fermentation spiritueuse (propre fermentatio), l'acétification (acetificatio seu acescentia).

On doit à Willis (1659) et à Stahl, le célèbre promoteur de la théorie du phlogistique (1697), la première conception philosophique sur la nature intime de la fermentation, ou plutôt des fermentations. Pour eux le ferment est un corps doué d'un mouvement intime, qui transmet ce mouvement à la matière fermentescible. C'est ainsi que Willis dit dans son diatribe *De fermentatione* :

« Fermentatio est motus intestinus eujusvis corporis, cum tendentia ad perfectionem ejusdem corporis vel propter mutationem in aliud.

« Plures sunt modi quibus fermentatio promovetur. Primus et principuus erit fermenti eujusdam corpori fermentando adjectio; cujus particulæ cum prius sint in vigore et motu positæ, alias in massa fermentanda otiosas et torpidas exsucitant, et in motum vindicant. »

Stahl considérait la fermentation alcoolique comme un phénomène de même ordre que la putréfaction, un cas particulier de celle-ci. Comme on n'avait à cette époque aucune idée nette sur la composition élémentaire des substances fermentescibles et des produits de leur fermentation, on ne pouvait évidemment établir aucune relation sérieuse entre ces corps, et toutes les hypothèses pouvaient se produire avec sécurité. C'est ainsi que Stahl admet que la matière fermentescible (sucre, farine, lait) est composée de particules formées par l'union peu intime de sel, d'huile et de terre; sous l'influence du mouvement intérieur provoqué par le ferment, les particules hétérogènes sont séparées les unes d'avec les autres, puis recombinaées de manière à former des composés plus stables, renfermant les mêmes principes, mais en d'autres proportions.

De Stahl à Lavoisier nous ne trouvons plus de noms bien marquants ni de découvertes intéressantes au point de vue de la fermentation.

Lorsque la chimie subit sa grande transformation, à la fin du siècle dernier, sous l'influence puissante du génie de Lavoisier, les fermentations durent attirer de nouveau l'attention des expérimentateurs. Lavoisier lui-même s'en occupe (*Éléments de chimie*, t. I, p. 139, 2^e édit.), et comme pour toutes les questions auxquelles il touche, il jette un trait de lumière dans les ténèbres. Procédant, comme il le fait toujours, balance en main, par poids et mesures, et appliquant à la solution du problème les nouvelles méthodes d'analyse organique qu'il a imaginées, il cherche à établir le lien ou la relation qui existe entre la matière fermentée, le sucre, et les produits de la fermentation, l'alcool et l'acide carbonique.

A partir de ce moment nous quittons le domaine de l'histoire de la science, nous entrons dans celui des faits réels et bien observés qui seront étudiés dans les chapitres suivants.

En résumé, nous pouvons dire qu'avant les travaux de Lavoisier et de ses continuateurs, on connaissait qualitativement les produits fermentescibles et les principaux termes de leurs transformations (gaz carbonique, alcool, acide acétique, etc.). On savait distinguer la fermentation acide ou acétique de la fermentation alcoolique; on saisissait l'analogie qui existe entre

la putréfaction et la fermentation alcoolique; enfin on avait cherché à expliquer le mode d'agir du ferment.

Ce dernier n'était connu que comme une espèce d'écume, de dépôt ou de pâte dans lesquels résidait une force occulte et spéciale, capable de déterminer des phénomènes chimiques. Ajoutons encore que ces phénomènes étaient considérés comme distincts, par leurs allures et la cause provocatrice, des réactions ordinaires de la chimie. C'est un bien mince bagage, on le voit, pour tant de volumes écrits sur ce sujet.

La fermentation spiritueuse ou alcoolique étant à tous les points de vue le phénomène de cet ordre le plus complètement étudié, nous commencerons par elle notre monographie.

CHAPITRE II

FERMENTATION ALCOOLIQUE OU SPIRITUEUSE

Dans son beau mémoire (*Ann. de chimie et physique*, 3^e série, t. LVIII, p. 323), M. Pasteur appelle *fermentation alcoolique* la fermentation qu'éprouve le sucre sous l'influence du ferment qui porte le nom de levure de bière.

Nous adopterons cette définition qui s'applique, sans incertitude possible, à un phénomène bien limité dans sa cause et ses effets; mais nous aurons à rechercher plus tard si l'alcool ne peut pas prendre naissance aux dépens du sucre, sous d'autres influences que celles du produit connu sous le nom de levure de bière.

Comme nous l'avons dit plus haut, la scission d'une molécule de sucre en plusieurs produits plus simples, parmi lesquels figurent l'alcool et l'acide carbonique, est la conséquence d'une action mécanique spéciale, s'exerçant sur les dernières particules de la matière composée. Quelle que soit la source (organisme vivant ou matière morte) qui réalise les conditions propres à cette rupture d'équilibre, le phénomène sera le même dans son essence. A un point de vue général et philosophique, il n'y a pas plus d'intérêt à séparer la fermentation alcoolique provoquée par la levure de bière, de la fermentation alcoolique due à tout autre agent, que de distinguer le sucre de canne du sucre de betterave.

En restreignant, comme l'a fait M. Pasteur, l'expression de fermentation alcoolique et en n'y rattachant pas tout phénomène d'altération où il se produirait de l'alcool, nous avons à envi-

sager le corps qui fermente, le sucre ou plutôt les sucres, les produits de la fermentation parmi lesquels figure en première ligne l'alcool, enfin la cause déterminante de la fermentation du sucre, la levure de bière.

PRODUITS DE LA RÉACTION

Envisageons tout d'abord la fermentation alcoolique comme une réaction chimique ordinaire; en d'autres termes, étudions-la au point de vue du corps qui se décompose et des produits qui en dérivent; nous aborderons ensuite la cause de la décomposition et les propriétés de cette levure ainsi que celles de produits analogues.

Nous disions plus haut que Becher avait, le premier, reconnu la nécessité de la présence du sucre dans les vins qui subissent la fermentation spiritueuse, mais qu'à Lavoisier revenait l'honneur d'avoir étudié et fait ressortir les relations de composition qui relie le sucre à ses dérivés.

Partant de ce principe que rien ne se crée ni dans les opérations de l'art, ni dans celles de la nature; que dans toute opération il y a une égale quantité de matière avant et après l'opération; que la qualité et la quantité des éléments est la même et qu'il n'y a que des changements et des modifications dans leurs groupements, l'illustre savant établit par l'analyse les proportions centésimales de carbone, d'hydrogène et d'oxygène contenues dans le sucre; opérant de même pour l'alcool, l'acide carbonique et l'acide acétique reconnus par lui comme les produits de la décomposition du sucre, enfin dosant les quantités respectives de ces trois corps qui prennent naissance aux dépens d'un poids connu de sucre, il établit le bilan de la réaction et arriva aux conclusions suivantes :

« Les effets de la fermentation vineuse se réduisent donc à séparer en deux portions le sucre qui est un oxyde, à oxygéner l'une aux dépens de l'autre pour en former de l'acide carbonique; à désoxygéner l'autre en faveur de la première pour en former une substance combustible qui est l'alcool; en sorte que s'il était possible de recombinaison ces deux substances, l'alcool et

l'acide carbonique, on reformerait du sucre. » Nous sommes loin déjà des conceptions de Stahl fondées sur un mélange de sel, d'huile et de terre.

Les recherches de Lavoisier peuvent se résumer par l'équation suivante :

95,9 parties de sucre de canne cristallisé contiennent :

26,8 carbone.
7,7 hydrogène.
61,4 oxygène.

et se dédoublent en :

37,7 parties d'alcool contenant ;

16,7 carbone.
9,6 hydrogène.
31,4 oxygène +

35,3 parties d'acide carbonique contenant :

9,9 carbone.
25,4 oxygène +

2,5 parties d'acide acétique contenant :

0,6 carbone.
0,2 hydrogène.
1,7 oxygène.

On trouve ainsi :

| | | | |
|------------------|--------|------------------------------------|---------|
| Carbone du sucre | 26,8 | somme de carbone des trois dérivés | 27,2. |
| Hydrogène | — 7,7 | de l'hydrogène | — 9,8. |
| Oxygène | — 61,4 | de l'oxygène | — 58,5. |

Vu les imperfections de ses procédés d'analyse, Lavoisier considérait l'accord entre les deux termes de même ordre comme suffisant pour confirmer le principe général énoncé plus haut.

Si en regard de ses nombres nous plaçons ceux fournis par les méthodes si parfaites employées par les chimistes modernes, nous verrons qu'en réalité :

95,9 parties de sucre de canne contiennent :

40,4 carbone.
6,1 hydrogène.
49,4 oxygène.

et donnent :

51,6 d'alcool contenant :

26,9 carbone.
6,7 hydrogène.
18,0 oxygène +

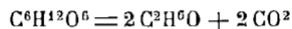
49,4 parties d'acide carbonique contenant :

13,5 carbone.
36,9 oxygène.

Ce n'est donc que par une compensation d'erreurs assez fortes que Lavoisier est amené à une solution approchée.

Vers 1815, les analyses si bien faites de Gay-Lussac et Thénard et de de Saussure fixaient d'une manière définitive la composition du sucre et de l'alcool. Ces résultats, loin d'infirmes les conclusions de Lavoisier, leur prêtèrent un appui solide. Aussi Gay-Lussac (*Ann. de chimie*, t. XCV, p. 318) put-il écrire : « Si l'on suppose maintenant que les produits que fournit le ferment puissent être négligés relativement à l'alcool et à l'acide carbonique qui sont les seuls résultats sensibles de la fermentation, on trouvera qu'étant données 100 parties de sucre, il s'en convertit pendant la fermentation 51,34 en alcool et 48,66 en acide carbonique. »

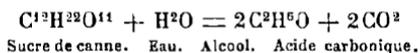
Ces résultats traduits en équation chimique conduisent à faire attribuer au sucre de canne la formule $C^6H^{12}O^6$ et l'on aurait :



Or les analyses du sucre de canne faites par Gay-Lussac et Thénard eux-mêmes concordent, comme celles faites depuis par un grand nombre de savants, avec la formule $C^{12}H^{22}O^{11}$. Pour arriver à l'accord que nous venons de signaler Gay-Lussac supposa que ses analyses du sucre de canne étaient imparfaites, et il les modifia sans raison de 2 à 3 p. 100, en vue de rétablir l'harmonie entre les deux membres de son équation.

« La théorie de la fermentation établie par Gay-Lussac laisse donc quelque chose à souhaiter, disent MM. Dumas et Boullay qui dès 1828 firent ressortir cette erreur, mais il n'en est plus

de même dès qu'on substitue l'éther à l'alcool dans la composition théorique du sucre. L'accord le plus parfait se rétablit entre la théorie et l'expérience. La conclusion que les deux savants tirèrent de cette observation, c'est que le sucre de canne ne peut fermenter sans assimiler les éléments d'une molécule d'eau. En d'autres termes, l'équation de Gay-Lussac en tant qu'expression numérique est exacte, il convient seulement d'écrire le premier membre sous la forme.



Un peu plus tard (1832) Dubrunfant observait qu'avant de fermenter, le sucre de canne se transforme en sucre incristalisable.

M. Berthelot a prouvé depuis que l'hydratation du sucre, qui précède la fermentation alcoolique, est due à la présence dans la levure d'un ferment soluble; nous reviendrons plus tard sur ce point important. Enfin, en 1833, Biot découvrit l'inversion du sucre sous l'influence des acides.

L'équation de Gay-Lussac, modifiée par Dumas et Boullay, fut admise généralement pendant plus de vingt ans comme l'expression mathématique de la décomposition du sucre par la levure.

Cependant, en 1856, Dubrunfant, en dosant l'acide carbonique dégagé par la fermentation, observe qu'on ne peut faire expérimentalement l'équation des sucres fermentescibles avec de l'alcool et de l'acide carbonique seuls. (*Comptes rendus de l'Ac. des Sc.*, t. XLII, p. 945.)

Le dernier travail important d'analyse qualitative et quantitative sur les produits de la fermentation alcoolique des sucres est dû à M. Pasteur. (*Ann. chimie et physique*, 3^e série, t. LVIII, p. 330.) Par une série de recherches d'un haut intérêt et par des expériences indiscutables, notre illustre savant prouve : 1^o que dans toute fermentation alcoolique, il se forme, outre l'alcool et l'acide carbonique, termes principaux, de la glycérine et de l'acide succinique; 2^o que la glycérine et l'acide succinique sont produits aux dépens des éléments du sucre et que la levure n'y prend aucune part; 3^o qu'en outre, le sucre cède

une certaine portion de sa substance à la levure nouvelle qui se développe; nous reviendrons sur ce dernier point lorsque nous nous occuperons plus spécialement de la levûre; 4° que l'acide lactique dont on avait observé la production en quantités variables dans la fermentation alcoolique, est le résultat d'une fermentation spéciale, différente de la fermentation alcoolique et marchant parallèlement avec elle.

Il convient de rappeler, pour être juste, que la présence de l'acide succinique dans les liquides fermentés avait été déjà constatée par le Dr Schmidt de Dorpat (*Handwörterbuch der Chemie*, von Liebig, Poggendorff, 1^{re} édition, t. III, p. 224, 1848), ainsi que par Schunck dans la fermentation du sucre au moyen de l'érythrozyme (ferment de la garance). Ces faits, auxquels ces observateurs n'avaient pas su donner leur véritable signification, avaient passé inaperçus et étaient oubliés, au moment où Pasteur reprenait la question. Sans entrer dans le détail des expériences sur lesquelles reposent les conclusions de Pasteur et que l'on trouvera dans son mémoire (*loco citato*), nous nous contenterons de résumer avec lui l'ensemble de ses recherches quantitatives.

100 parties de sucre de canne $C^{12}H^{22}O^{11}$ correspondant à 103,26 de sucre de raisin $C^6H^{12}O^6$ donnent à peu près :

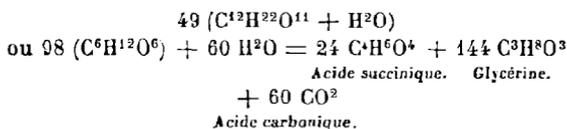
| | |
|--------------------------------|--------------------|
| Alcool | 51,41 |
| Acide carbonique | 48,89 ¹ |
| Acide succinique | 0,53 ² |
| Glycérine | 3,16 |
| Matière cédée à la levure. . . | 1,00 |
| | 100,00 |

Ainsi sur 100 parties de sucre de canne, 95 parties environ se décomposent d'après l'équation de Gay-Lussac, 4 parties se détruisent en donnant de l'acide succinique, de la glycérine et de l'acide carbonique; 1 partie s'ajoute à la levure de nouvelle formation.

Pasteur cherche à représenter par une équation la décompo-

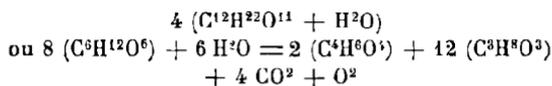
(1) Quantité conforme à l'équation de Gay-Lussac.
 (2) Excès sur l'équation de Gay-Lussac.

sition des 4 parties de sucre qui fournissent l'acide succinique et la glycérine. Cette expression est très complexe :



Cette égalité ne doit être considérée, Pasteur le dit lui-même, que comme une traduction très approchée des résultats numériques de l'analyse, et non comme l'expression mathématique de la réaction.

M. Monoyer (Thèse de la Faculté de médecine de Strasbourg) propose, pour résumer les analyses de Pasteur, une équation bien plus simple.



Il suppose, en même temps, que l'oxygène en excès sert à la respiration des globules de levure, interprétation fort plausible, comme nous le verrons plus loin.

Du reste pour comprendre la possibilité chimique de la production de glycérine et d'acide succinique aux dépens du sucre, il suffit de remarquer qu'en additionnant les formules de la glycérine et de l'acide succinique atome pour atome, on arrive à une somme dans laquelle l'hydrogène et l'oxygène sont dans les proportions pour former de l'eau.



D'un autre côté on a :



Ces deux équations expliquent assez naturellement la formation de glycérine et d'acide succinique aux dépens de la glucose.

D'après les recherches mêmes de Pasteur les proportions de glycérine et d'acide succinique, par rapport à l'alcool, fournies

par un même poids de sucre, ne sont pas absolument constantes. Il se forme d'autant plus de glycérine et d'acide succinique et d'autant moins d'alcool, que la fermentation est plus longue, qu'elle se fait avec de la levure plus épuisée, moins pure, ayant peu d'aliments et des aliments mal appropriés à la multiplication de ses globules.

Les fermentations par ensemencement, en présence d'une quantité plus que suffisante de matières albuminoïdes et minérales appropriées à la nature des globules, fournissent moins de glycérine et d'acide succinique, et plus d'alcool.

Une faible acidité de la liqueur paraît également diminuer la proportion des deux produits secondaires; le contraire arrive si le milieu est neutre. Cependant Pasteur dit lui-même que dans les vins on trouve ordinairement de très fortes proportions de glycérine et d'acide succinique, quoique la fermentation du moût de raisin ait lieu dans un milieu acide, en présence de matières albuminoïdes et minérales suffisantes.

Quoi qu'il en soit de ces variations, il n'en est pas moins vrai que la glycérine et l'acide succinique n'ont jamais fait défaut dans plus de cent analyses de fermentations exécutées par Pasteur¹.

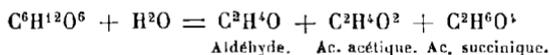
(1) Voici la méthode suivie par M. Pasteur, pour mettre en évidence et doser la glycérine et l'acide succinique, contenus dans un liquide fermenté. Le liquide, lorsque la fermentation est terminée, et que tout le sucre a disparu, ce qui exige de quinze à vingt jours dans de bonnes conditions, est filtré sur un filtre dont la tare a été faite avec un autre filtre du même papier. Après dessiccation à 100°, une pesée donne le poids à l'état sec du dépôt de levure qui s'est rassemblé au fond du vase. Le liquide filtré est soumis à une évaporation très lente (à raison de douze à vingt heures par demi-litre). Lorsqu'il est réduit à 10 ou 20 centimètres cubes, on achève l'évaporation dans le vide sec. Le résidu sirupeux de la capsule est traité à diverses reprises par un mélange d'alcool et d'éther, formé de 1 partie d'alcool à 30 ou 32, et de 1 et demie partie d'éther rectifié. Après 6 à 7 lavages, il ne reste plus d'acide succinique ni de glycérine. Le liquide étheré alcoolique est distillé dans un matras, puis évaporé au bain-marie dans une capsule, puis dans le vide sec. On ajoute au résidu de l'eau de chaux pure jusqu'à neutralisation; on évapore de nouveau, et on reprend la masse sèche par le mélange d'alcool et d'éther qui ne dissout plus que la glycérine, laissant le succinate de chaux sous forme d'une poudre cristalline, souillée d'une petite quantité de matière extractive, et d'un sel de chaux à acide incristallisable. Le succinate de chaux se purifie facilement par un traitement à l'alcool à 80 p. 100, qui ne dissout que les matières étrangères. La solution alcoolique étherée de glycérine est évaporée et pesée, après dessiccation dans le vide sec.

Parmi les produits que l'on rencontre normalement et d'une manière constante dans toute fermentation alcoolique du sucre, nous devons encore relever l'acide acétique et l'aldéhyde correspondant. La formation de l'acide acétique signalée par Béchamp (*Comp. rendus de l'Académie*, 1863) fut attribuée d'abord par Pasteur à une fermentation acétique concomitante ou subséquente, et à la présence du *mycoderma aceti*; mais depuis les recherches très précises et si concluantes de Duchaux (Thèses présentées à la Faculté des sciences, 1865) il est établi : 1° Que l'acide acétique ne fait jamais défaut, même dans les fermentations les mieux dirigées en vue de se préserver du contact de l'air ; 2° que la proportion de cet acide est sensiblement constante, surtout si l'on a soin d'arrêter la fermentation aussitôt que tout le sucre est transformé ; elle ne dépasse du reste pas alors 0,05 p. 100 du poids du sucre. Cette dose d'acide acétique augmente sensiblement si l'on continue la fermentation au delà des limites indiquées tout à l'heure. Comme nous verrons plus loin que la levure abandonnée à elle-même, sans sucre et sans oxygène, peut, en agissant sur ses propres éléments, former de l'acide acétique, on comprend l'augmentation signalée dans la dose d'acide et l'on serait enclin à attribuer d'une manière générale la production de cet acide aux transformations qu'éprouve la levure pendant qu'elle agit sur le sucre. Nous dirons la même chose de la leucine et de la tyrosine trouvées par Béchamp dans l'extrait de glucose fermentée. Ce sont là des éléments à la production desquels le sucre ou la matière fermentescible sont étrangers.

Cependant les derniers travaux de Béchamp sur la question ne sont pas favorables à cette opinion en ce qui touche l'acide acétique (*Comp. rend.*, t. LXXV, p. 1036). Ils tendent à établir : 1° que le contact de l'air, loin d'augmenter la production d'acide acétique, la diminue. Une fermentation qui, dans l'acide carbonique, produit 0,25 à 0,40 de ce corps pour 100 de sucre n'en donne plus que 0,1 au contact de l'air ; 2° que l'acide acétique provient du sucre et non de la levure, car en dirigeant convenablement les expériences, on peut obtenir un poids d'acide supérieur à celui de la levure employée. Plus la levure est bien nourrie et mieux elle se multiplie, moins elle donne

d'acide acétique. Celle qu'on ne nourrit que de sucre de canne s'épuise et produit plus d'acide acétique. La température et l'augmentation de pression ont une influence positive sur le sens du phénomène.

L'acide acétique ne différant de l'alcool que par H² en moins et par O en plus, sa formation aux dépens du sucre peut être liée à celle de l'acide succinique et de l'aldéhyde, comme l'équation suivante permet de le prévoir :



La présence *constante* de quantités variables, mais toujours relativement faibles, d'aldéhydes dans les liquides fermentés a été observée par un grand nombre d'expérimentateurs.

Ce n'est pas seulement dans les vins et les liquides fermentés industriels où l'on peut craindre l'intervention de ferments étrangers et l'action de fermentations secondaires dues à d'autres principes que le sucre que l'aldéhyde acétique a été constaté. La présence de ce corps peut être facilement mise en évidence dans les produits de la fermentation du sucre pur, à l'abri de l'air, sous l'influence de la levure de bière.

La plupart des jus sucrés naturels tels que ceux de betteraves, de marc de raisins, donnent lieu à la production de petites quantités d'alcools homologues de l'alcool ordinaire. On trouve, en effet, lorsqu'on opère industriellement sur de grandes masses de produits, et qu'on distille avec soin l'alcool brut, au moyen d'appareils rectificateurs convenables, un résidu moins volatil que l'alcool éthylique, doué d'une odeur forte et désagréable. Ce résidu huileux, connu sous le nom d'huile de pommes de terre, a fait l'objet de nombreux travaux (Chancel, Wurtz, Pelletan, Faget, etc.); on l'a trouvé constitué en grande partie par les alcools propylique C³H⁸O, butylique C⁴H¹⁰O, amylique (dominant) C⁵H¹²O, caproïque C⁶H¹⁴O, œnanthylique C⁷H¹⁶O, caprylique C⁸H¹⁸O.

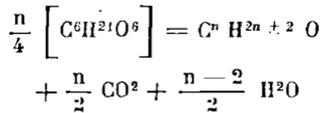
M. Jeanjean a, en outre, constaté dans les produits de la fermentation de l'eau de lavage de la garance, la présence de l'alcool campholique (camphre de Bornéo, C¹⁰H¹⁶O).

On peut se demander si ces produits secondaires relativement

peu abondants, doivent leur origine à la fermentation alcoolique proprement dite ou à des fermentations distinctes, concomitantes, ayant chacune un ferment spécial, ou enfin s'il convient d'en attribuer l'apparition à des principes spéciaux accompagnant la glycose dans les jus sucrés naturels.

L'état actuel de la science ne permet pas encore de résoudre définitivement ces questions.

M. Berthelot fait observer (*Ch. org. fondée sur la synthèse*, t. II, p. 631) que la production de tous ces homologues de l'alcool ordinaire, aux dépens du sucre, peut se formuler par l'équation générale :



CORPS FERMENTESCIBLES

Les progrès de la chimie nous ont appris à distinguer plusieurs variétés de matières sucrées hydrocarbonées, différentes par leurs propriétés ou leur composition ; elles n'offrent pas toutes les mêmes caractères, lorsqu'on les met en présence du ferment alcoolique par excellence (la levure de bière).

La glycose ou sucre de raisin et d'amidon, la levulose ou sucre de fruits acides, sucre incristallisable, la galactose dérivée du sucre de lait (lactose) par l'action des acides ont tous pour formule $C^6 H^{12} O^6$. A cette analogie dans la composition, correspond une ressemblance presque complète dans leur manière d'être en présence de la levure. Ces sucres se dédoublent progressivement en alcool et acide carbonique sans subir de transformation préalable. Comme l'a observé Mitscherlich (*Ann. de Poggen.*, t. CXXXV, p. 95), le pouvoir rotatoire d'une solution de glycose diminue proportionnellement à la dose d'alcool fourni.

L'équation de Dumas et Gay-Lussac modifiée par Pasteur s'applique sans restriction à ces diverses variétés de matières sucrées. Ajoutons seulement que, d'après les observations inté-

ressantes de Dubrunfaut, la glycose mélangée à la levulose et additionnée de levure fermente avant celle-ci. C'est ce qui arrive toujours, lorsque après avoir interverti le sucre de canne par un acide, on soumet à la fermentation le mélange à poids égaux de glycose et de levulose, qui résulte de cette intervention ; la glycose disparaît avant la levulose qui ne subit qu'en dernier la décomposition alcoolique. Dubrunfaut a donné à ce phénomène le nom de fermentation élective.

Les sucres dont la composition est représentée par la formule $C^{12}H^{22}O^{11}$ peuvent également fermenter, mais à condition de subir préalablement une hydratation qui les convertit en sucre de formule $C^6H^{12}O^6$.

La saccharose ou sucre de canne se change en s'hydratant en deux molécules isomères, dont l'une dévie à droite le plan de la lumière polarisée, dont l'autre dévie à gauche (levulose). Les deux termes de ce dédoublement sont fermentescibles. Quant à l'hydratation elle s'effectue, comme on le sait, sous l'influence des acides, de l'eau seule, de la lumière et enfin des végétaux inférieurs cellulaires. On comprend, d'après cette dernière observation, pourquoi le sucre de canne peut fermenter ; dès qu'il est mis en contact avec la levure, il commence par s'intervertir et ce n'est qu'ultérieurement que les glycoses engendrées forment de l'alcool. La levure joue donc vis-à-vis de la saccharose un double rôle ; le premier est beaucoup plus simple que le second. Le pouvoir inversif est dû à la présence dans la levure d'un principe soluble et non organisé formé aux dépens des matières protéiques de cet organisme. Cette substance active, invertine, s'accumule surtout en forte proportion dans la levure qui a été abandonnée à elle-même, et qui a subi le phénomène connu sous le nom de ramollissement. L'eau de lavage d'une semblable levure intervertit le sucre de canne avec une telle rapidité, que lorsqu'on mélange les deux liquides (eau sucrée et eau de lavage) le liquide réduit énergiquement la liqueur de Fehling, qu'on y verse quelques secondes après. Nous reviendrons sur cet ordre de phénomènes à propos des fermentations indirectes dites à ferments solubles.

La maltose, variété de sucre formée par hydrolyse de l'amidon sous l'influence de la diastase, offre la même composition que

la saccharose, $C^{12}H^{22}O^{11}$. Elle fermente comme elle et peut se dédoubler en deux molécules plus simples, de formule $C^6H^{12}O^6$ en fixant une molécule d'eau. Mais ces deux molécules au lieu d'être isomères sont identiques. La maltose en s'hydratant ne fournit que de la glucose.

La mélézitose, la mélitose et la lactose ou sucre de lait sont dans le même cas que le sucre de canne, et doivent préalablement s'hydrater. Pour la mélitose, M. Berthelot a observé une particularité remarquable : la moitié seulement de ce sucre se décompose en alcool et acide carbonique, l'autre moitié reste sous forme d'un isomère de la glycose : l'eucaline, non fermentescible.

Tous les corps qui par hydratation sont susceptibles de fournir de la glycose ou ses congénères appartiennent à la classe des substances indirectement fermentescibles : tels sont l'amidon, la dextrine, la gomme, le glycogène, les glucosides variés que l'on rencontre dans les tissus végétaux.

CHAPITRE III

LEVURES ALCOOLIQUES

Nous avons envisagé jusqu'à présent les corps susceptibles de fermenter alcooliquement ainsi que les détails de la réaction connue sous le nom de fermentation alcoolique, il nous reste à parler du côté le plus intéressant de notre sujet, de la cause qui provoque la fermentation. C'est surtout sur ce point de la question, le plus obscur et le plus difficile, que se sont produites les discussions les plus variées et l'on peut dire les plus vives. Les autres parties du problème n'exigeaient, en effet, pour être résolues, que de bonnes analyses et des expériences rigoureuses de dosage ¹.

Historique. Le premier, Leuwenhœk (1680) examine la levûre de bière au microscope et constate qu'elle est formée de très petits globules sphériques ou ovoïdes. Il ne put cependant pas déterminer la nature de ces globules.

Dans son Mémoire sur les fermentations présenté à l'Académie de Florence (1787), Fabroni rapproche la levûre des matières animales. « La matière qui décompose le sucre est une substance végétal-animale ; elle siège dans des uticules particuliers, dans le raisin comme dans le blé. En écrasant le raisin, on mêle cette matière glutineuse avec le sucre ; dès que les deux matières sont en contact, l'effervescence et la fermentation commencent. »

(1) Pasteur. *Annales de chimie et de physique*, 3^e série, t. LVIII, p. 364.
Monoyer. *Thèse de médecine*. Strasbourg, 1862.
L. Engel. *Thèse pour le doctorat ès sciences*. Paris, 1872.

Les expériences et les conclusions de Fabroni ne parurent pas suffisamment éclaircir la question, car en l'an VIII la classe des sciences physiques de l'Institut proposait pour sujet de prix la question suivante : « Quels sont les caractères qui distinguent dans les matières végétales et animales celles qui servent de ferment, de celles auxquelles elles font subir la fermentation ? » Trois ans après Thénard ¹ présentait un Mémoire remarquable sur la fermentation alcoolique et le ferment. Il arrive à conclure que tous les jus sucrés naturels, mis en fermentation spontanée, donnent un dépôt qui a l'aspect de la levure de bière, et, comme elle, le pouvoir de faire fermenter l'eau sucrée pure. Cette levure est de nature animale ; elle est azotée et donne beaucoup d'ammoniaque à la distillation. En disant que la levure est de nature animale, Thénard n'avait en vue que la composition chimique et ne faisait aucune allusion à l'organisation du ferment. Nous reviendrons aux travaux de ce savant, en étudiant les transformations éprouvées par la levure pendant l'acte de la fermentation.

De son côté, Gay-Lussac prouve, par des expériences bien connues, que la fermentation ne se développe dans le moût de raisin qu'autant que celui-ci a reçu momentanément le contact de l'air ; il conclut de ses travaux que l'oxygène est nécessaire pour commencer la fermentation ; qu'il ne l'est point pour la continuer.

En 1828, Colin fit de nombreuses expériences qui semblaient démontrer qu'une foule de substances organiques azotées, différentes de la levure de bière et en voie d'altération peuvent, lorsqu'on les place dans l'eau sucrée, y déterminer au bout de quelques heures une fermentation alcoolique ; en même temps, l'odeur fétide de la putréfaction est remplacée par l'odeur agréable du moût de vin (Colin, *Ann. chim. phy.*, 2^e série, t. XXVIII, p. 128, 1828).

La question du ferment en était là, et la levure de bière était regardée comme un principe immédiat des végétaux, ayant la propriété de se précipiter en présence des sucres fermentescibles, lorsque Cagniard de Latour reprit les observa-

(1) *Ann. de chimie*, t. XXVI, p. 247.

tions microscopiques de Leuwenhoek incomplètes et tombées dans l'oubli.

Il reconnut que la levure est formée par un amas de globules organisés, susceptibles de se reproduire par bourgeonnement ou par séminules, paraissant appartenir au règne végétal, et non une matière simplement organique ou chimique, comme on le supposait. Il conclut que c'est très probablement par quelque effet de leur végétation que les globules de levure dégagent de l'acide carbonique de la liqueur sucrée et la convertissent en liqueur spiritueuse. (*Ann. chim. phy.*, 2^e série, t. LXVIII.)

La découverte de Cagniard de Latour fut refaite presque en même temps, d'une manière indépendante, par le docteur Schwann à Iéna et par Kützing à Berlin (Schwann, *Poggend. Ann.*, 1837, t. XLI, p. 184. — Kützing, *Journ. für prakt. Chem.* XI, p. 383); confirmée par les observations de Quevenne (*Journ. de pharm.* (2), t. XXIV), de Turpin (*Compte rendu de l'Ac.*, IV, p. 369), de Mitscherlich (*Poggend Ann.*, LV, p. 223), elle conduisit, sans contestation possible, aux conclusions suivantes, touchant la nature de la levure de bière. Ce corps fut considéré comme un amas de cellules organisées et vivantes, composées comme les cellules végétales ou animales d'une enveloppe et d'un contenu granuleux.

Dès le début on ne s'entendit pas sur la place qu'il convenait de donner à ce nouvel être vivant. Les uns y virent un champignon dépourvu de mycélium, les autres en firent une algue.

Ainsi Turpin (*Compte rendu*, p. 379, 1838) fit rentrer les cellules de levure dans le genre *Torula* de Persoon pour lequel (*sporæ in floceos moniliformes concertenatæ, dein seudentes*). On assimilait ainsi ces cellules à des spores, sans considérer leur mode de production qui est tout différent et sans faire la remarque que les *Torula* ont un mycélium qui n'existe jamais chez les ferments.

La découverte des véritables spores a démontré depuis que les ferments ne peuvent être rangés dans la famille des *Torulacées*. Meyen (*Pflanzenphysiologie*, 3^e v., 455) considérait aussi le ferment de la bière comme un champignon, et créa pour lui un genre nouveau sous le nom de *Saccharomyces*. Ce nom fut

adopté par Rees, Engel, etc. Kützing, au contraire, soutint avec beaucoup d'autres auteurs que les ferments sont des algues qu'il rangea dans un genre à part, le genre *crypto coccus*. L'opinion des savants qui veulent assimiler la levure et les ferments en général à des algues était fondée sur l'observation que leurs cellules ne se multiplient que par bourgeonnement. Or nous verrons bientôt qu'en se plaçant dans certaines conditions on arrive à les faire fructifier; de plus, les algues ferment presque toujours de la chlorophylle, tandis que les champignons et les ferments n'en contiennent pas.

On admet donc assez généralement aujourd'hui que les ferments sont des champignons.

Sans rien enlever au mérite de Cagniard de Latour, nous devons dire qu'il avait été précédé dans la voie des observations microscopiques, non seulement par Leuwenhoek, mais encore par Kieser (1814, Schweiggers, *Journ.*, XII, p. 229) qui décrit la levure comme formée de petits corpuscules sphériques, tous à peu près de même grandeur, transparents et sans mouvement; par Desmazières qui, en 1826 (*Ann. des sciences naturelles*, t. X, p. 4), examina la pellicule formée à la surface de la bière et nommée par Persoon *mycoderma cerevisia*.

Desmazières donne le premier la figure des globules qu'il observe et y retrouvant un mouvement particulier, qui n'est autre que le mouvement brownien encore inconnu alors, il range ces globules parmi les animalicula monadina. Déjà en 1813, Astier (*Ann. de chimie*, t. LXXXVII, p. 271) ne doutait pas que le ferment, reconnu d'essence animale par Fabroni, ne fût en vie et ne se nourrit aux dépens du sucre, d'où résultait la rupture d'équilibre entre les éléments du corps. Au moyen de cette théorie on s'explique facilement, dit-il, que toutes les causes qui tuent les animaux ou empêchent leur développement, doivent s'opposer à la fermentation.

Les observateurs qui avaient démontré la nature organisée de la levure établirent en même temps que dans un grand nombre de liquides en fermentation alcoolique (jus sucrés naturels, solution de sucre avec albumine, etc.), il se forme, comme l'avait observé Thénard, des globules de levure. Schmidt de Dorpat arriva aux mêmes conclusions en répétant

les expériences de Colin, sur les fermentations provoquées par les matières albuminoïdes en voie de décomposition. Les observations microscopiques lui révélèrent le développement de globules de levure toutes les fois qu'il y avait production d'alcool.

De toutes ces recherches successives qui se confirmaient et se complétaient l'une l'autre, sortit l'opinion généralement admise, que la levure de bière accompagne toute fermentation alcoolique franche; il semble alors que la théorie d'Astier et de Cagniard de Latour sur la fermentation, devait prévaloir facilement et trouver crédit parmi les savants. Cependant, il n'en fut rien. Dès le début, les conclusions de Cagniard de Latour et Schwann trouvèrent un puissant adversaire. Liebig, dont le nom faisait alors autorité en chimie, avait une théorie arrêtée des phénomènes de fermentation en général, et il la défendit avec vigueur, même après les expériences de Pasteur qui admet que la fermentation alcoolique est un acte corrélatif de la vie et de l'organisation des globules.

« Mon opinion la plus arrêtée, dit Pasteur, sur la nature de la fermentation alcoolique, est celle-ci : L'acte chimique de la fermentation est essentiellement un phénomène corrélatif d'un acte vital, commençant et s'arrêtant avec ce dernier. Je pense qu'il n'y a jamais fermentation alcoolique sans qu'il y ait simultanément organisation, développement, multiplication de globules ou vie continuée, poursuivie, des globules déjà formés. » Quant aux hypothèses qui tendent à approfondir davantage la cause physiologique de la décomposition, M. Pasteur ne les repousse ni ne les admet, au moins dans son premier mémoire. Ainsi les idées de Pasteur reproduisent et étendent celles de Cagniard de Latour.

Quant à la théorie de Liebig, elle n'est autre que celle de Willis et Stahl. Pour le chimiste allemand, la cause des fermentations est le mouvement interne, moléculaire qu'un corps en décomposition communique à d'autres matières dans lesquelles les éléments sont maintenus avec une très faible affinité. « La levure de bière, et en général toutes les matières animales et végétales en putréfaction, reportent sur d'autres corps l'état de décomposition dans lequel elles se trouvent

elles-mêmes; le mouvement qui, par la perturbation d'équilibre, s'imprime à leurs propres éléments, se communique également aux éléments des corps qui se trouvent en contact avec elles. » (Liebig, *Ann. de chimie et de phys.*, 2^e série, t. LXXI, p. 178.) Cette explication du reste, très philosophique et très séduisante, d'un phénomène obscur, eut d'autant plus de crédit parmi les savants qu'elle donnait la clef, non seulement de la fermentation alcoolique, mais encore d'autres phénomènes du même genre, tels que la transformation du sucre en acide lactique et en acide butyrique, dans lesquels on n'avait pu jusqu'alors observer de productions organisées, et qui semblaient être uniquement le résultat du conflit d'une matière fermentescible avec une matière azotée en voie de putréfaction. Frémy et Boutron supposèrent que, dans les matières capables d'agir comme ferments, le caractère de la fermentation varie avec le degré d'altération de la substance. Celle-ci serait successivement ferment alcoolique, ferment lactique ou butyrique suivant l'état plus ou moins avancé de sa décomposition.

C'est ainsi que la présence reconnue constante d'un être organisé dans tout liquide en voie de fermentation alcoolique, ne fut peu à peu considérée que comme un fait de médiocre importance au point de vue de la réaction; celle-ci est provoquée, non par l'action directe des globules de levure, en tant qu'être vivant, mais par la décomposition des matières azotées protéiques de cette levure envisagée seulement comme substance azotée. Dans cette opinion, l'expérience de Gay-Lussac trouvait une interprétation naturelle; la présence momentanée de l'oxygène était indispensable pour commencer l'ébranlement moléculaire des matières albuminoïdes du moût de raisin.

De son côté, Berzélius, traitant l'organisation de la levure de rêverie poético-scientifique, et repoussant la doctrine de Liebig renouvelée de Willis et Stahl, ne voulait voir dans la fermentation qu'une action de contact, due à la force *catalytique*, et dans la levure qu'un principe amorphe. Mitscherlich s'est rallié aux idées de Berzélius tout en admettant la nature organisée de la levure.

Cependant les travaux si clairs et si bien faits de Pasteur sur la fermentation, et la fermentation alcoolique en particulier, avaient ramené en partie l'opinion des savants vers la théorie physiologique; aussi, Liebig crut-il devoir recommencer la lutte en faveur de ses idées. En 1870, il publia un long mémoire sur la fermentation et la source de la force musculaire (*Ann. der Chemie und Pharmacie*, t. CLIII, p. 1), mémoire dans lequel il cherche à démontrer que les principales expériences de Pasteur ne sont pas concluantes. Il fait d'abord ressortir que la théorie physiologique de Pasteur, qui explique la décomposition du sucre par la nutrition et le développement d'un être organisé, n'est pas opposée à la doctrine mécanique dont il est le champion. Cet aveu est déjà une concession énorme faite par le chimiste allemand, presque un aveu de défaite, car ce langage est bien différent de celui qu'il tenait antérieurement.

Cependant l'attaque fut assez vive pour que Pasteur crût devoir y répondre (*Ann. chimie, phys.*, 4^e série, t. XXV, p. 145, 1872), et pour que Dumas entreprit une série d'expériences, en vue de rechercher s'il était possible de vérifier les conséquences de la théorie de Liebig.

Au moyen d'expériences ingénieuses et dirigées avec la précision qui ne lui a jamais fait défaut, Dumas (*Ann. de chimie et de physique*, 5^e série, t. III, p. 69) arrive à prouver péremptoirement :

1^o Qu'à travers les colonnes liquides les plus courtes, les membranes les plus minces, ou même, sans intermédiaire, les liqueurs sucrées n'éprouvent aucune influence de la part du ferment, et qu'il faut son contact immédiat et direct; 2^o que les vibrations sonores n'exercent aucune influence sur le mouvement de la fermentation; 3^o qu'aucune action chimique, parmi le grand nombre de celles qui ont été essayées, n'a pu entraîner la décomposition du sucre en alcool et acide carbonique.

Ces résultats négatifs sans apporter une solution décisive de la question sont cependant contraires à l'opinion d'un mouvement transmis.

En résumé, à côté des trois grandes théories de la fermentation, savoir :

1° La théorie vitaliste formulée par cette phrase de Turpin : « Fermentation comme effet, et végétation comme cause, sont deux choses inséparables dans l'acte de décomposition du sucre, » soutenue par Astier, Cagniard de Latour, Schwann, Kützing, Turpin, Bouchardat, Van de Brock, Schroeder, Pasteur, Bichat ;

2° La théorie mécanique de Willis, Stahl et Liebig, admise par Gerhardt ;

3° La théorie des forces catalytiques et des actions de contact de Berzélius et Mitscherlich ;

A côté de ces trois théories, viennent se placer des opinions mixtes. C'est ainsi que M. Berthelot considère les fermentations comme le produit de l'action d'une substance élaborée par les organismes ferments, comparant en cela les fermentations alcoolique et lactique, à la conversion de l'amidon en dextrine et en sucre sous l'influence de la diatase (ferment soluble non organisé). Le savant chimiste appuie son opinion sur des expériences qui prouvent que dans de certains cas il peut y avoir production d'alcool sans formation de levure (Chimie organique fondée sur la synthèse) ; ce qui n'exclut pas le fait, bien avéré aujourd'hui, que les fermentations peuvent être provoquées, et le sont plus énergiquement, par des êtres organisés spéciaux. Quant à une relation plus précise entre le phénomène chimique et les fonctions physiologiques de l'organisme ferment, elle reste encore à trouver, et tout ce que l'on a dit, écrit et avancé pour résoudre la question, manque de contrôle expérimental et ne peut nous occuper ici qu'en passant.

Il n'est douteux pour personne que dans les cellules organisées et vivantes, soit qu'elles existent isolées comme celles de la levure, soit qu'elles fassent partie intégrante d'un être plus compliqué, réside une cause spéciale, capable de provoquer des réactions chimiques semblables à celles que nous réalisons dans le laboratoire mais dans des conditions tout autres.

Soit que l'on explique les décompositions éprouvées par des molécules chimiques complexes par l'action d'un produit soluble élaboré par le ferment organisé auquel il a emprunté sa puissance, soit que l'on suppose que le ferment figuré tout entier exerce une action de ce genre, en fin de compte on arrive à un

mouvement communiqué plus ou moins directement et dépendant de la vie.

Il ne faudrait pas confondre cette interprétation des phénomènes avec la théorie de Liebig. Pour le chimiste allemand ce sont les principes albuminoïdes, qui, en se décomposant spontanément, produisent le mouvement moléculaire qui se transmet au sucre pour le dédoubler; ici, au contraire, c'est l'être vivant qui développe la force en l'empruntant lui-même au grand réservoir extérieur et en la transformant. Cette force peut agir chimiquement, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire d'un ferment soluble.

Description du ferment.— Nous donnerons avec Rees le nom de saccharomyces *cerevisiæ*, au ferment alcoolique de la bière; c'est le ferment le mieux étudié et qu'on se procure le plus facilement.

Il y a trois manières de faire fermenter le moût de bière, les deux premières sont les plus employées; ce sont la fermentation par le haut et la fermentation par le bas.

Dans la troisième méthode, usitée seulement en Belgique, on abandonne le moût à lui-même dans un local situé au-dessus du sol et l'on attend le développement spontané de la fermentation; dans les deux premières on provoque le phénomène, en mêlant au moût une proportion convenable de levure provenant d'une opération antérieure du même ordre.

Pour la bière par le haut, la saccharification de l'amidon du malt se fait par des trempes d'infusion successives; la fermentation a lieu dans des tonneaux, à une température relativement élevée: 15 à 18°. La levure, dans ce cas, sort à mesure qu'elle se forme, par les trous de bondes, à la partie supérieure du tonneau. En Angleterre, cette fermentation se fait aussi dans de grandes cuves ouvertes; la levure nage alors à la surface du liquide, et peut être enlevée au moyen d'écumoirs.

Dans la fabrication de la bière inférieure, la saccharification s'opère par des trempes de décoction, et la transformation a lieu dans des cuves ouvertes, à une température ne dépassant pas 12 à 14° centigrades. La levure se dépose au fond des cuves et adhère sous forme d'une masse pâteuse, une fois la première fermentation, la plus active, terminée (elle dure deux

ou trois jours pour la fermentation supérieure et huit à dix jours pour l'inférieure), on soutire le liquide clair, et on le conserve dans des tonneaux, des bouteilles ou des cruchons. Cependant la séparation de la levure n'a pas été complète; celle-ci continue à agir sur le sucre non encore modifié; aussi la teneur en alcool et en acide carbonique augmente-t-elle avec la durée de conservation, en même temps que le liquide se trouble par la production de nouvelle levure.

La levure dépasse toujours de beaucoup (7 à 8 fois), en poids et en volume, celle qu'on avait introduite dans le moût. Ce fait



Fig. 1. — *Saccharomyces cerevisiae*. Levure de bière inférieure.

Grossissement : 400.

que nous ne signalons ici qu'en passant, pour y revenir plus loin, tient à la multiplication par bourgeonnement, qui se produit toutes les fois que les cellules de levure sont placées dans un milieu sucré, convenablement approprié; et le moût de bière offre sous ce rapport d'excellentes conditions. Après la fermentation inférieure, la levure, retrouvée au fond de la cuve, se compose presque uniquement de cellules d'une seule espèce de ferment alcoolique, le *saccharomyces cerevisiae* (fig. 1). On y voit encore au microscope, mais en très petite proportion, des granules de lupuline, des cristaux d'oxalate de chaux, des spores et des moisissures. Elle a la consistance d'une pâte blanche jaunâtre ou jaune d'ocre.

Les cellules sont rondes ou ovales, de 8 à 9 millièmes de millimètre, dans leur plus grand diamètre. Elles sont formées d'une membrane mince et élastique de cellulose, non colorée, et d'un protoplasma, également incolore, tantôt homogène, tantôt composé de petites granulations. On observe dans le protoplasma une ou deux vacuoles plus ou moins grandes, contenant du suc cellulaire. Les cellules sont ou isolées ou réunies par deux.

Lorsqu'on dépose ces cellules dans un liquide fermentescible, on voit bientôt naître en un, ou plus rarement deux points de leur surface, des renflements vésiculeux, dont l'intérieur se remplit aux dépens du protoplasma de la cellule mère; ces renflements s'accroissent, finissent par atteindre la gran-

deur de la cellule primitive; puis ils s'étranglent à la base (fig. 2). Ils prennent généralement naissance sur les côtés les plus larges, plus rarement sur les extrémités. Une fois l'étranglement produit, les nouvelles cellules se séparent assez rapidement de la cellule mère, dans laquelle le protoplasma cédé aux jeunes cellules est remplacé par une ou deux vacuoles. Si les conditions sont favorables, la même cellule peut produire plusieurs générations de cellules, mais peu à peu elle perd tout son protoplasma, qui finit par se réunir en granules, nageant au milieu d'un suc cellulaire surabondant. La cellule cesse alors

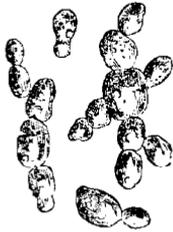


Fig. 2. — *Saccharomyces cerevisiaë*.
Levure de bière inférieure en
voie de bourgeonnement.
Grossissement : 400.

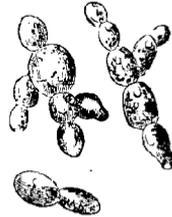


Fig. 3. — *Saccharomyces cerevisiaë*.
Levure de bière supérieure en
voie de bourgeonnement.
Grossissement : 400.

de se reproduire, et même de vivre; la membrane se rompt, et le contenu granuleux se répand dans le liquide.

Lorsque le *saccharomyces cerevisiaë* n'est pas en contact avec un liquide fermentescible, il peut rester plus ou moins longtemps sans se modifier.

Les cellules isolées du ferment supérieur (fig. 3) ne diffèrent pas sensiblement de celles du ferment inférieur, et bien que l'on ait soutenu que les formes ovales et agrandies y dominant, il est difficile d'établir une distinction à ce point de vue, car on trouve dans les deux variétés, toutes les formes intermédiaires qui relient les deux extrêmes.

D'ailleurs une élévation de température au-dessus de 14° pendant la fermentation suffit pour augmenter considérablement le volume des cellules inférieures, leur faire atteindre un grand diamètre de 13 à 14 millièmes de millimètre, en leur donnant la forme d'un ovale allongé; en même temps on voit

apparaître deux vacuoles circulaires; l'une grande, située vers le gros bout, l'autre plus petite se trouve dans la partie rétrécie de la cellule.

Le saccharomyces supérieur bourgeonne beaucoup plus vite que la première variété lorsqu'il est mis en présence d'un liquide fermentescible (fig. 3). Ce bourgeonnement est très rapide; aussi les diverses cellules issues les unes des autres, restent-elles attachées entre elles, formant ainsi des chaînons ramifiés composés de 6 à 12 et même plus d'articles. On comprend que les bulles de gaz adhérentes à ces chapelets aient



Fig. 4. — *Saccharomyces cerevisiæ*.
Levure supérieure au repos.

Grossissement : 400.



Fig. 5. — *Saccharomyces cerevisiæ*.
Levure inférieure en culture.

Grossissement : 400.

plus de prise sur eux que sur une cellule isolée; de là l'entraînement de la levure de nouvelle formation à la surface du liquide, d'autant plus que la fermentation est aussi plus active. Dans ces chapelets, les cellules ont une forme elliptique. La seule différence bien constatée entre les deux levures est donc la rapidité du bourgeonnement et la plus grande activité du ferment dans l'un des cas; mais ceci n'autorise pas à considérer ces deux levures comme appartenant à des espèces différentes. Nous verrons plus loin s'il est possible, en changeant leurs conditions d'existence, à les transformer l'une dans l'autre.

La multiplication par bourgeonnement n'est pas le seul mode de reproduction du *saccharomyces cerevisiæ*. Il est vrai qu'il apparaît seul tant que la levure se trouve en contact avec un liquide fermentescible approprié. On doit à Rees (1869, *Botanische Zeitung*, décembre) la découverte de la fructification de la levure et des ferments en général, c'est-à-dire de leur reproduction par spores. En ce qui touche les *saccharomyces*, les conditions qui paraissent surtout favorables à cette évolution spéciale du champignon sont de le priver brusquement de

toute nourriture, surtout sucrée, et de l'exposer à une atmosphère humide, ou mieux de le placer sur une substance capable de lui fournir une humidité suffisante et constante.

On obtient, d'après Rees, la plus riche production de spores en laissant pendant quelques jours de la levure de bière plusieurs fois lavée en contact avec de l'eau distillée, puis en décantant la plus grande partie de l'eau, et en éloignant plus tard, journellement, les petites portions d'eau qui s'en séparent. Dans les cas favorables, on obtient, au bout de quinze à seize jours, une formation très riche de spores; mais très souvent aussi le résultat est nul par suite de la putréfaction de la levure.

M. Engel, à la thèse duquel nous empruntons la plupart de ces détails, s'est également occupé de cette question; il propose pour déterminer la fructification de la levure, l'emploi de l'artifice suivant :

On gâche du plâtre et on le coule sur une surface polie, mais non huilée, telle que verre à vitre, glace ou marbre. On donne au bloc une forme quelconque, en rapport avec la forme intérieure du vase dans lequel on veut le conserver. Les dimensions en tous sens devront être d'environ deux centimètres plus petites que les dimensions internes du vase, afin de laisser entre les parois de ce dernier et le bloc de plâtre, un espace suffisant pour y verser de l'eau distillée. On prend alors de la levure très fraîche, on décante autant que possible tout le liquide fermentescible qui surnage, et on délaye la levure dans l'eau distillée de façon à obtenir une bouillie très fluide; on verse quelques gouttes de cette bouillie sur la surface polie du plâtre, en inclinant le bloc en tous sens pour répartir uniformément le liquide. Cette opération doit se faire rapidement, car le plâtre absorbant très vite l'eau, la bouillie deviendrait trop épaisse, ne se répandrait pas avec assez d'uniformité, et la couche de ferment resterait trop forte en certains points. On dépose alors le bloc dans le vase (la face recouverte de ferment tournée en haut), et l'on verse au moyen d'une pipette de l'eau distillée entre les parois du vase et le bloc de plâtre, jusqu'à ce que le niveau du liquide arrive à environ un centimètre au-dessous de la face supérieure du bloc. On recouvre le vase d'une plaque

de verre pour empêcher, autant que possible, le contact des poussières et des spores de l'atmosphère.

Dans ces conditions, la vie végétative de la levure cesse brusquement, et l'on voit en peu d'heures des changements profonds s'opérer dans le protoplasma des cellules. Les plus vieilles et les moins riches en protoplasma périment et tombent en débris. D'autres, au contraire, s'agrandissent; leurs lacunes disparaissent, et le protoplasma se disperse uniformément dans le suc cellulaire. Au bout de six à dix heures, on voit apparaître au milieu de ce protoplasma, deux à quatre îlots plus brillants et plus denses, autour desquels se rassemblent de fines granulations. Ces îlots denses n'offrent point l'apparence de nucléus et ils se différencient de plus en plus en devenant exactement

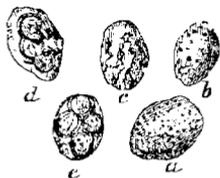


Fig. 6. — *Saccharomyces cerevisiæ*.
Formation des spores.

Grossissement : 750.

a, b, c, d, e. phases successives de la production des spores.

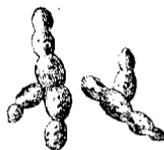


Fig. 7. — Triades de spores
en voie de germination.

Grossissement : 750.

sphériques (fig. 6 et fig. 7). Douze à vingt-quatre heures plus tard, chacune de ces sphérules se revêt d'une membrane, très fine d'abord, mais qui s'épaissit peu à peu, et offre alors, à un grossissement de 600, un double contour.

La spore est alors mûre. La cellule-mère ou thèque contient ainsi de deux à quatre spores. Lorsqu'il n'y a que deux spores, elles sont placées suivant le grand diamètre; lorsqu'il y en a trois, elles sont ordinairement disposées en triangle; lorsqu'il y en a quatre, elles sont en croix, ou trois d'entre elles forment un triangle auquel la quatrième est superposée sous forme de tétraèdre.

Pendant leur évolution, les spores se touchent; il se produit, par conséquent, au point de contact, une surface plane; elles restent attachées entre elles pendant quelque temps après leur maturité, et forment ainsi des dyades, des triades et des tétrades.

Les deux spores de dyades n'ont qu'une face plane, celle des triades en offrent deux inclinées l'une sur l'autre de 120° , enfin, dans les tétrades en croix, on observe aussi deux faces planes à angle droit. Lorsque les spores mûrissent, les thèques se moulent sur elles et prennent ainsi des formes diverses. La thèque des dyades est elliptique, celle des triades est triangulaire à angles arrondis; celle des tétrades en croix a la forme de losanges à angles arrondis; pour les tétrades empilées, la thèque est tétraédrique; à la maturité complète, la membrane de la thèque, ou cellule-mère devenue fruit, se déchire et laisse échapper les spores. Les thèques mêmes varient de 10 à 15 millièmes de millimètre, les spores ont un diamètre de 4 à 5 millièmes de millimètre.

La quantité innombrable de thèques que l'on obtient par la méthode de fructification sur le plâtre ne laisse subsister aucun doute sur l'origine de ces organes; du reste Rees et Engel ont souvent pu observer des thèques encore attachées à des cellules végétatives ou en voie de bourgeonnement, et en reconnaître ainsi la filiation.

Jusqu'ici, tout ce que nous avons dit s'applique à la levure de bière inférieure proprement dite, au *saccharomyces cerevisiæ*, mais ce champignon spécial n'est pas le seul capable de déterminer la fermentation alcoolique de la glycose.

Les micrographes qui se sont occupés de cette délicate question distinguent, outre le ferment spécial de la bière, d'autres variétés dont la plupart appartiennent au genre *saccharomyces* de Meyen¹.

Sous le nom de *saccharomyces minor*, Engel décrit une espèce de levure retirée par lui du levain de farine et à laquelle il doit son activité.

Le procédé d'extraction est semblable à celui qu'emploient

(1) Champignons thécapores simples, sans véritable mycélium. Les organes végétatifs sont des cellules nées le plus souvent par bourgeonnement de cellules semblables, et qui, se détachant tôt ou tard de la cellule mère, se multiplient de la même façon. Une partie des cellules ainsi formées se transforme (dans un autre milieu) en thèques sporifères nues; spores uni-cellulaires au nombre de 1 à 4 dans chaque thèque. La germination des spores reproduit directement des cellules végétatives analogues à celles qui sont nées par bourgeonnement. (Engel, *thèse de la Faculté des sciences de Paris*, 1872.)

les chimistes pour séparer l'amidon du gluten dans la farine. Le liquide qui passe à travers le tamis lorsqu'on malaxe le levain des boulangers sous un filet d'eau, contient de l'amidon et des globules de levure qui, en raison de leur moindre densité, se déposent les derniers. On peut ainsi, par des lavages successifs, arriver à un produit très riche en globules de levure et pauvre en grains d'amidon. Engel propose d'employer dans ces lavages de l'eau sucrée au lieu d'eau pure, pour ne pas diminuer l'activité physiologique des cellules.

Examiné au microscope, le ferment se présente sous forme



Fig. 8.—*Saccharomyces ellipsoideus* en voie de bourgeonnement.

Grossissement : 600.



Fig. 9.—*Saccharomyces ellipsoideus*. Développement des spores.

Grossissement : 400.

de globules isolés, géminés ou quelquefois réunis par trois. Les plus gros de ces globules ont 6 millièmes de millimètre de diamètre; leurs vacuoles sont moins apparentes que ceux de la levure de bière.

Ce ferment semé dans le milieu sucré le plus favorable, préparé d'après la formule de M. Pasteur, n'a donné qu'une fermentation très lente. En renouvelant 7 fois l'expérience et en ne se servant chaque fois que du ferment obtenu dans l'expérience précédente, on ne voit apparaître aucune modification dans la forme et les dimensions des globules. Le bourgeonnement de cette espèce s'effectue de la même manière que pour la levure de bière.

Placé dans les conditions favorables à la formation de spores dont nous avons parlé plus haut, le *saccharomyces minor* se transforme en thèques sporifères sphériques et très rarement ovoïdes de 6 à 7 millièmes de millimètre de diamètre. Les spores n'ont que 3 millièmes de millimètre, réunies en dyades ou triades. En résumé, sauf la forme toujours sphérique, la dimen-

sion moindre et une activité moins grande, le ferment du pain ressemble au ferment de la bière.

Le *saccharomyces ellipsoïdeus* de Rees n'est autre chose que le ferment alcoolique ordinaire du vin de M. Pasteur (*Études sur le vin*, fig. 8, 9, 11); il ne doit pas être confondu avec le cryptococcus vini de Kützing. Les cellules adultes ont une forme ellipsoïdale (6 millièmes de millimètre de longueur, sur 4 à 5 de large, avec une vacuole ovale). La sporulation et le bourgeonnement ne diffèrent en rien des phénomènes analogues que l'on observe pour la levure de bière (fig. 8, 9 et 10).

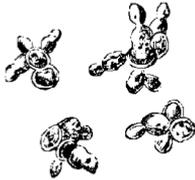


Fig. 10. — *Saccharomyces ellipsoïdeus*. Réunion de spores en voie de germination.

Grossissement : 400.



Fig. 11. — *Saccharomyces Pastorianus*.

Grossissement : 400.

Rees a donné le nom de *Sacch. Pastorianus* (fig. 11) à une variété de ferment alcoolique du vin observé par Pasteur (fig. 7, *Étude sur le vin*). Les cellules sont ovales, pyriformes ou allongées en massues. Les cellules ovoïdes ont 6 millièmes de millimètre de longueur, celles en massues que l'on voit sortir sous forme de bourgeons des cellules ovoïdes atteignent 18 à 20 millièmes de millimètre de longueur sur 8 à 10 de largeur au gros bout; elles sont réunies en flocons composés de 3 à 7 articulations.

Le *Sacch. exiguus* (Rees) (fig. 12) se rencontre comme les précédents dans les suc de fruits fermentés. Les cellules n'ont que 3 millièmes de millimètre de longueur, sur 2,5 de largeur au gros bout; il se multiplie par bourgeonnement et sporulation comme toutes les autres variétés de cette espèce.

Le *saccharomyces conglomeratus* de Rees (fig. 13) est assez rare; on le rencontre dans les moûts de raisin vers la fin de la fermentation. Cellules sphéroïdales de 6 millièmes de millimètre de diamètre. Lorsque la première cellule a bourgeonné, ce bour-

geon atteint la grandeur de la cellule mère, sans s'en détacher; il naît d'abord dans l'aisselle des deux cellules, puis sur différents points de leur surface, un assez grand nombre de nouvelles



Fig. 12. — *Saccharomyces exiguus*.

Grossissement : 350.



Fig. 13. — *Saccharomyces conglomeratus*.

Grossissement : 600.

cellules qui, au lieu de former une chaînette ou des flocons, constituent un véritable conglomérat.

Le ferment *apiculé* (*Carpozyma*) n'appartient pas, d'après les observations de M. Engel, au genre *saccharomyces*. C'est le ferment alcoolique le plus abondant. On le rencontre sur toutes les espèces de fruits, notamment sur les baies et les

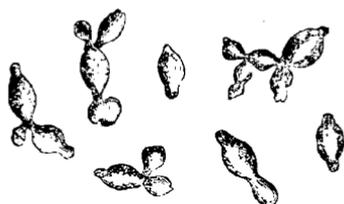


Fig. 14. — *Saccharomyces apiculatus* (Rees). *Carpozyma apicul.* (Engel). Ferment apiculé.

Grossissement : 600.

drupes ainsi que dans la plupart des moûts de fruits en voie de fermentation. On l'a également observé dans certaines bières, bière de Belgique, d'Obernai; celles de Strasbourg n'en contiennent point. C'est lui qui généralement apparait et bourgeonne le premier dans ces moûts.

Les cellules (fig. 14) adultes et isolées ont la forme d'un ellipsoïde dont le grand diamètre est de 6 millièmes de millimètre et le diamètre transversal de 3. A chaque extrémité se trouve une petite saillie ou apicule qui donne à la cellule la forme d'un citron. L'intérieur renferme une vacuole sphérique ou ellipsoïde, autour de laquelle se trouve une couche mince de protoplasma, effilée vers les saillies. Les cellules bourgeonnantes se présentent toujours à l'extrémité des saillies. Lorsque le développement est normal, les cellules nouvelles s'étendent dans le sens de l'axe principal de la cellule mère, de sorte que les trois cellules forment une file

longitudinale; mais arrivées au terme de leur croissance, elles prennent une forme elliptique et se replient à leur point d'insertion, de façon que leur grand axe finit par faire un angle droit avec le grand axe de la cellule mère; l'une des cellules se replie à gauche et l'autre à droite. Elles se détachent alors; à ce moment elles ressemblent beaucoup aux cellules du *saccharomyces ellipsoideus*; mais on voit bientôt apparaître les apicules caractéristiques.

Lorsque le ferment apiculé est déposé sur du plâtre humide, la transformation en thèque ou sporange suit des phases bien distinctes de celles que l'on observe avec les diverses espèces de *saccharomyces*, et se rapproche des évolutions du *protomyces macrosporus*, étudiées par de Bary.

D'après Engel le ferment apiculé serait un *protomyces* sans mycélium; ce botaniste propose pour lui le nom de *Carpozyma*. Les thèques en sont sphériques, revêtues d'une périthèque et sont hibernantes. Développement des spores très lent; spores nombreuses.

Rees a rencontré dans les mouûts fermentés de vin rouge une forme de levure spéciale, qui accompagne le *saccharomyces ellipsoideus*. Elle se compose de cellules cylindriques allongées. Quoique ce ferment n'ait pas encore pu être observé dans les diverses évolutions de sa vie végétative, on a cru devoir l'ériger en espèce spéciale, sous le nom de *saccharomyces Reesii* (fig. 15).

Le *saccharomyces mycoderma* (fig. 16 et fig. 17) ou fleurs de vin, fleurs de bière, doit également, d'après les observations de M. Pasteur, être rangé parmi les ferments alcooliques. En effet, bien qu'il n'agisse pas dans ce sens, dans les circonstances ordinaires de son développement, lorsqu'il croît à la surface des liquides fermentés, peut-être parce que l'alcool qu'il peut produire alors est détruit par une oxydation consécutive, M. Pasteur a montré que le *mycoderma vini* enfoncé dans de l'eau sucrée pouvait y déterminer la fermentation alcoolique.

Il se présente à la surface de tous les liquides alcooliques exposés à l'air, lorsque la fermentation est achevée ou qu'elle



Fig. 15. — *Saccharomyces Reesii*.
Levure de vin rouge.

Grossissement : 350.

est languissante. La croissance se fait avec une grande rapidité ; il suffit d'en déposer quelques cellules sur un liquide faiblement alcoolique, pour voir la surface se recouvrir, en moins de quarante-huit heures, d'une pellicule mince, blanchâtre ou jaunâtre, d'abord lisse, puis ridée.

M. Engel évalue, par un calcul fondé sur ses observations, qu'en quarante-huit heures une cellule de *mycoderma vini* peut produire une multiplication de 35,378 cellules environ. Les cellules de ce *mycoderma* ont des formes multiples, ovoïdes, ellipsoïdales, cylindriques, aux extrémités arrondies.

Les cellules ovoïdes ont leur grand diamètre de 6 millièmes

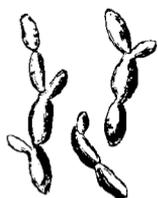


Fig. 16. — *Saccharomyces mycoderma*.

Grossissement : 350.



Fig. 17. — *Saccharomyces mycoderma*.

de millimètre et leur petit diamètre de 4 millièmes de millimètre. Les cylindres ont un grand diamètre de 12 à 13 millièmes de millimètre et un petit de 3 millièmes de millimètre.

Les cellules sont généralement pauvres en protoplasma ; offrent dans leur intérieur 1 à 3 points brillants de matière grasse. Le bourgeonnement s'effectue à l'extrémité, par un ou quelquefois deux bourgeons naissant à chaque bout. Il se forme ainsi des chaînettes ou des flocons ramifiés et entrelacés, donnant à l'ensemble l'aspect d'une fine membrane.

Lorsqu'on étend le liquide alcoolique sur lequel végète le *mycoderme* d'une forte proportion d'eau, les cellules subissent de grandes modifications. Les plus anciennes s'altèrent et meurent en laissant échapper leur protoplasma. Les autres s'allongeant acquièrent un grand diamètre de 16 à 20 millièmes de millimètre ; leur protoplasma se rassemble en divers points pour former des spores. Ceux-ci sont ordinairement au nombre de trois à quatre, rangés en file longitudinale dans la cellule.

Les spores ont le plus souvent 3 millièmes de millimètre de diamètre.

Beaucoup d'auteurs font dériver les saccharomyces mycoderma du saccharomyces cerevisiæ dont il représenterait une des formes aériennes. Cette question ne semble pas encore définitivement jugée, bien qu'il y ait plus de raisons de croire qu'il constitue une espèce à part et indépendante.

Nous aurons à revenir sur les propriétés oxydantes du mycoderma vini à propos de la fermentation acétique.

Le *mucor mucedo* et le *mucor racemosus* (fig. 18) possèdent la propriété, lorsqu'on les immerge, à l'abri de l'oxygène, dans une solution de sucre, de transformer ou de diviser leur mycélium en articles ayant la forme de boules.

Ces boules se multiplient par bourgeonnement et provoquent la fermentation alcoolique du sucre tant qu'elles sont placées dans ces conditions anor-

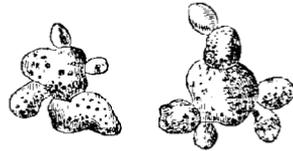


Fig. 18. — *Mucor racemosus*.
Levure en boules.

males. Ce fait, qui est bien positivement prouvé, prête un appui sérieux aux idées émises par divers savants sur la transformation des ferments les uns dans les autres, suivant les conditions dans lesquelles ils se trouvent. Nous voyons, en effet, le *mucor racemosus* changer complètement son mode de reproduction lorsqu'il est placé, à l'abri de l'oxygène, dans un milieu sucré. Des faits analogues ne peuvent-ils pas se produire avec d'autres organismes ?

Ces diverses variétés de ferments ont été trouvées, non seulement dans les moûts de fruits, mais encore à la surface de leur péricarpe, où elles restent adhérentes dans un état de repos, jusqu'à ce que par suite de circonstances convenables elles soient mises en contact avec le liquide sucré contenu dans les cellules. A partir de ce moment elles se développent par bourgeonnement et propagent en même temps la fermentation alcoolique.

A cette liste d'organismes divers, capables de provoquer la fermentation alcoolique, on doit ajouter encore : une levure ne contenant pas d'invertine, se présentant sous forme de cellules

arrondies de 4 à 5 millièmes de millimètre de diamètre, rencontrée par M. E. Roux, dans des échantillons de glucose altérée spontanément. Elle décompose rapidement la glucose, en formant au fond du liquide un dépôt blanc tassé; mais elle est sans action sur la saccharose qu'elle n'intervertit pas ;

une levure aérobie observée par M. Le Bel sur une solution acidulée d'éther à 2 p. 100. Elle forme des cellules rondes de 3 à 4 millièmes de millimètre.

M. Pasteur a constaté qu'à la fin d'une fermentation alcoolique pure les cellules de levure au lieu de rester inertes se remettent à bourgeonner pendant un certain nombre de mois, lorsque le liquide est exposé au contact de l'air stérilisé. Elles forment alors à la surface du liquide et contre les parois du ballon, une sorte de voile mycodermique assez semblable à un voile de mycoderme vini. Ces formes particulières appelées par Pasteur *levures aérobies*, étant ensemencées dans un moût sucré, le font fermenter alcooliquement, en bourgeonnant comme les levures ordinaires anaérobies. Mais ces nouvelles levures anaérobies ne sont pas identiques avec la levure d'origine. En partant, par exemple, de la levure basse ordinaire, la transformant en levure aérobie et la semant de nouveau dans un moût de bière, on constate en général une fermentation haute et la bière obtenue présente des caractères spéciaux. Les différences subsistent après plusieurs générations.

L'étude des levures de bière (saccharomyces) dirigée en vue d'établir l'existence d'espèces distinctes à caractères spécifiques constants, a été reprise dans ces dernières années par M. le Dr Hansen, chef du laboratoire de physiologie de Carlsberg¹, au moyen de procédés nouveaux et d'après un plan systématique.

Ce savant éminent est arrivé à la conclusion qu'il existe plusieurs espèces de saccharomyces, à caractères constants et très précis pour chacune d'elles. Ces espèces ne sont pas susceptibles de se fondrefacilement les unes dans les autres : il semble au contraire exister entre elles des limites appréciables et jusqu'ici infranchissables.

(1) *Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg*, vol. II, 5^e livraison, Copenhague, 1888.

Les principales différences résident :

1° Dans les courbes des températures du développement de leurs spores. Ces courbes ont en général la même forme ; mais les points principaux, ceux qui dépendent des températures maxima et minima, offrent des caractères distinctifs ;

2° Ces espèces ne réagissent pas de la même manière contre la chaleur ; ainsi dans l'eau distillée la mort survient, toutes choses égales d'ailleurs, pour certaines espèces, à des températures différentes ;

3° L'on observe également chez elles des variations relatives au bourgeonnement, au pouvoir fermentatif, à la production des voiles ;

4° Lorsqu'on cultive les saccharomyces dans des conditions identiques, la forme des cellules peut fournir des caractères spéciaux pour des groupes et quelquefois aussi pour des espèces. Ces différences s'observent aussi bien lorsque la culture est faite dans un liquide que lorsqu'elle a lieu sur un substratum nourricier solide.

Presque toutes les espèces du groupe saccharomyces peuvent apparaître avec les mêmes formes et la plupart peuvent, dans leur évolution, prendre tour à tour les apparences des espèces établies par M. Rees ; mais les mêmes formes ne se montrent pas, chez les différentes espèces, dans les mêmes conditions.

Le caractère spécifique ne git donc pas dans la forme seule comme on le pensait auparavant, mais plutôt dans les conditions extérieures qui lui donnent naissance ;

5° Les diverses espèces de saccharomyces se distinguent également par leur action sur les sucres et notamment sur la maltose et par les réactions chimiques qu'elles provoquent au sein des liquides nourriciers.

La pratique industrielle montre que certaines espèces sont utilisables dans la fermentation du moût de bière, que d'autres ne le sont pas, quelques-unes même provoquent de véritables maladies dans la bière.

M. le Dr Hansen a également observé des différences graduées dans la manière dont ces organismes se comportent vis-à-vis de plusieurs méthodes de coloration.

Les apparences distinctes qui, dans certaines conditions de culture, se manifestent dans la structure des spores des levures industrielles et des levures sauvages est d'une grande importance pour l'analyse pratique. Dans tous les cas on ne peut distinguer les espèces entre elles à l'aide d'un seul des caractères indiqués plus haut. Le plus souvent il faut en rechercher plusieurs. Le plus important est la marche du développement des spores; son étude permet de faire directement l'analyse d'une levure basse de brasserie et de s'assurer de la présence ou de l'absence des levures de mauvaise nature.

Il est relativement facile de produire en divers sens des variations temporaires, souvent profondes, des levures; mais une culture convenable les fait disparaître et l'espèce revient à son état primitif. L'expérience suivante relatée par M. Hansen en fournit une preuve concluante :

On part d'une culture absolument pure de levure basse n° 1 de Carlsberg; on sème au hasard quelques cellules de cette culture pure dans une couche de gélatine nutritive étendue à la face inférieure de la lame de verre fixée à une chambre humide. On observe ensuite les cellules dont la position permet à chacune d'elles de former une tache de végétation différente, incapable de se confondre avec les colonies voisines. Ces taches qui toutes ont pour origine une seule et unique cellule ont des aspects souvent très différents, les unes se composent de cellules à forme allongée et en boudin qui conduirait à les assimiler au *saccharomyces pastorianus* de Rees, les autres présentent au contraire la forme habituelle du *saccharomyces cerevisiæ*.

Si avec ces taches on ensemence plusieurs ballons renfermant du moût de bière, en ayant soin que tous les ballons d'une première série ne reçoivent que des cellules de la forme pastorianne et que chaque ballon de la deuxième série ne reçoive que des cellules de la forme *cerevisiale*, les végétations qu'on obtient dans le moût offriront la même différence de forme; mais en continuant les cultures, cette différence entre les deux séries diminue progressivement. Les cellules en boudin disparaissent peu à peu et finalement toutes les végétations ne se composent plus que de cellules ovales. Les deux formes donnent des bières de même qualité.

M. Hansen a appliqué ses méthodes à la solution d'une question restée jusqu'ici douteuse et que nous avons déjà discutée plus haut : à savoir s'il y a ou non identité d'espèce entre la levure haute et la levure basse. M. Rees les envisage comme étant deux variétés d'un seul et même organisme, le *saccharomyces cerevisia*, variétés pouvant se transformer l'une dans l'autre.

En expérimentant avec diverses variétés de levures basses (*sacch. pastorianus* I, *ellipsoideus* I et II, n° 1 et 2 de Carlsberg) et en cultivant dans du moût de bière stérilisé des générations sans nombre de cellules, à une température qui provoque généralement la fermentation haute, même en poussant par intervalle la température jusqu'à 25° et 30°, M. Hansen n'a jamais vu se produire les phénomènes de fermentation haute. Les organismes ont toujours conservé les formes de fermentation basse, malgré une durée d'expérience qui, dans certains cas, atteignait quatre ans.

Inversement, des cultures analogues faites avec de la levure haute, à des températures de 5° à 7° qui correspondent à la fermentation basse, n'ont jamais révélé le passage du ferment haut à l'état de ferment bas, même après une durée de cultures successives atteignant quatre ans. On peut en conclure avec certitude que les ferments haut et bas ne se transforment pas aisément l'un dans l'autre sous l'influence d'une température déterminée.

Dans la méthode expérimentale de M. Hansen, le point de départ des ensemencements est toujours une cellule *unique*. Pour obtenir une culture absolument pure ce savant emploie des ballons Pasteur contenant du moût de bière stérilisé. L'ensemencement des ballons se fait avec des dilutions de levures telles qu'une partie seulement des ballons se trouve fécondée. On peut alors distinguer les ballons qui n'ont reçu qu'une seule cellule de ceux qui en ont reçu plusieurs. En effet, les cellules séparées les unes des autres par une vive agitation, et réparties dans le liquide nourricier, se déposent par le repos sur le fond des vases en des places différentes et y forment des taches tout à fait distinctes. C'est grâce à cet artifice que M. Hansen a pu caractériser et cultiver séparément six espèces de saccharo-

myces et déterminer les différents facteurs qui interviennent dans la production des spores, établir les courbes thermiques qui régissent le développement des spores dans les six espèces et étudier les maladies de la bière provoquées par certains saccharomyces.

Les six espèces principales de Saccharomyces établies par M. Hansen ont reçu les noms suivants :

| | | |
|---------------|---------------------|-----|
| Saccharomyces | <i>cerevisiæ</i> | I |
| — | <i>pastorianus</i> | I |
| — | — | II |
| — | — | III |
| — | <i>ellipsoïdeus</i> | I |
| — | — | II |

Elles développent toutes de l'invertine et par conséquent transforment la saccharose en sucre interverti qui fermente ensuite. Elles provoquent également une fermentation active dans les dissolutions de maltose, surtout en présence d'un peu de liquide nourricier, tel que la décoction d'eau de levure. Ce sont des ferments actifs qui dans le moût de bière, à la température ordinaire d'un appartement, donnent facilement, au bout de quatorze jours, 4 à 6 volumes p. 100 d'alcool. Elles ne provoquent pas la fermentation dans les dissolutions de lactose.

Ces caractères s'appliquent du reste à toutes les formes de levures basses industrielles qui ont été étudiées.

M. Hansen distingue encore trois autres espèces de saccharomyces qui se comportent tout à fait différemment, savoir :

Le saccharomyces marxianus, nov. spec. — Cultivé dans le moût de bière, suivant la méthode Hansen, il se développe en petites cellules ovales et oviformes, ayant le même aspect que le *Sacch. exiguus* et la *Sacch. ellipsoïdeus*. Mais, outre ces cellules, il s'en produit rapidement d'autres, allongées en boudins, souvent réunies en colonies.

Laisse-t-on la culture reposer pendant quelque temps, on voit se former de petits corps ressemblant à des moisissures, qui nagent en partie dans le liquide et en partie se précipitent. Ils se composent de colonies enchevêtrées, ayant l'apparence d'un mycélium, et essentiellement de même nature que les

voiles que donnent les six espèces de *saccharomyces* nommées plus haut. Ils sont comme eux formés d'articles étranglés à leur points de jonction et se séparent facilement.

Le *saccharomyces marxianus* ne développe pas beaucoup d'endospores; ceux-ci se distinguent par leur forme le plus souvent réniforme, plus rarement ronde ou ovale.

Après deux ou trois mois de repos, les cultures au moût, dans des ballons à deux cols ne présentent que des traces de voiles, formés d'un petit nombre de cellules ovales ou courtes et en forme de boudins.

Dans le moût de bière, même après un long repos, cette levure ne fournit que 1 à 1,3 p. 100 d'alcool; elle ne fait pas fermenter la maltose; elle intervertit la saccharose et provoque *lentement* la fermentation du sucre interverti.

Une dissolution de saccharose dans de l'eau de levure, contenant 15 p. 100 de saccharose additionnée de ce ferment donne après dix-huit jours, à 25° centigrades, 3,75 volumes p. 100 d'alcool, et après trente-huit jours, 7 volumes p. 100.

Ce *saccharomyces* a été découvert sur des raisins du midi par M. Louis Marx (de Marseille).

Le saccharomyces exiguus. — Dans les conditions de culture indiquées plus haut il développe une végétation qui cadre avec les formes de cellules auxquelles M. Rees a donné le nom de *sacch. exiguus*. Il ne se prête pas mieux que le *sacch. marxianus* au développement des endospores; sa formation en voiles est également très pénible.

Il ne fait pas fermenter la maltose et dans le moût de bière ne fournit pas, même après plusieurs mois, plus de 1 à 1,3 volume p. 100 d'alcool.

Avec la saccharose et la dextrose, il développe une fermentation plus active que le *sacch. marxianus*. Il intervertit la saccharose.

Le saccharomyces membranifaciens, nov. spec., a été trouvé par M. Hansen dans une masse gélatineuse qui s'était développée sur des racines d'orme attaquées par divers champignons. Sous plusieurs rapports, il ressemble au *mycoderma vini* et au *mycoderma cerevisiæ*, mais il s'écarte surtout de ces deux espèces par le caractère d'un véritable *saccharomyces*;

il donne lieu à un développement très marqué d'endospores qui font complètement défaut chez les mycodermes.

C'est une espèce rare ; cultivé dans le moût de bière il produit rapidement, sur toute la surface du liquide, un voile gris clair, plissé et fortement développé, composé principalement de cellules en forme de boudins et de cellules allongées ovales.

Ce *saccharomyces membranæfaciens* ne provoque pas la fermentation du moût de bière ni d'aucune des quatre espèces de sucre ; il n'intervient pas la saccharose. Les végétations développées sur gélatine nutritive ont la propriété de liquéfier celle-ci.

L'espèce en question est intéressante comme exemple d'une levure appartenant bien au genre *saccharomyces* mais qui est dépourvue de la faculté d'agir comme ferment.

En résumé, les travaux de M. Hansen ont notablement modifié la conception qu'on s'était faite du genre *saccharomyces*. Les espèces qui le composent ne peuvent plus être uniquement caractérisées par la propriété de faire fermenter les sucres ; au point de vue morphologique, quelques-unes peuvent développer un mycélium.

En dehors du genre *saccharomyces* on connaît un certain nombre d'organismes à cellules ressemblant à des *saccharomyces* et possédant à des degrés plus ou moins marqués la propriété de fonctionner comme levures alcooliques, mais dépourvues d'endospores.

On peut les désigner par le nom générique de pseudo-*saccharomyces*. Tels sont : le ferment connu sous le nom de *saccharomyces apiculatus*, bien qu'il ne rentre pas dans le genre *saccharomyces* ; diverses espèces de *torula* ; le *monilia candida*.

Il n'existe qu'un petit nombre de ces espèces dont la puissance fermentative puisse être comparée à celle des vrais *saccharomyces*. Parmi les dix espèces examinées par M. Hansen, une seule, la *monilia candida*, s'est montrée capable de faire fermenter la maltose. De plus on rencontre très fréquemment dans ce groupe des espèces complètement incapables de provoquer la fermentation alcoolique, tandis que dans le groupe des *saccharomyces* une seule espèce (*sacchar. membranæfaciens*) s'est trouvée inactive.

Les *saccharomyces*, le *marxianus* et l'exiguus exceptés,

agissent sur la maltose comme sur la dextrose ; ils renferment tous de l'invertine, à l'exception du *membranefaciens*. Au contraire parmi les microorganismes dépourvus d'endospores et à cellules ressemblant à celles des saccharomyces, on rencontre fréquemment des espèces qui ne fabriquent pas d'invertine et qui cependant produisent la fermentation alcoolique de la dextrose. Parmi celles-ci la *monilia candida* est la seule qui puisse faire fermenter la saccharose sans interversion préalable.

Toutes les combinaisons possibles se montrent dans cette section : on y trouve des espèces où la production d'invertine et la puissance fermentative font à la fois défaut ; d'autres chez lesquelles il y a à la fois production d'invertine et pouvoir de fermentation ; enfin des espèces qui font de l'invertine mais ne provoquent pas la fermentation : d'autres enfin qui font fermenter sans produire d'invertine.

Au point de vue industriel de la fabrication de la bière les saccharomyces ont seuls de l'importance.

Les pseudo-saccharomyces actifs par rapport à la dextrose et au sucre interverti peuvent prendre une part plus ou moins grande dans la fermentation du moût de raisin.

Dans le genre des pseudo-saccharomyces on trouve un grand nombre d'espèces qui ne se distinguent pas les unes des autres au point de vue morphologique et qui cependant ont une action très différente sur les sucres.

Toutes les espèces de pseudo-saccharomyces développent des végétations de cellules de levure ; très peu se comportent en même temps comme des moisissures et produisent un mycélium complet.

Genre mucor. — La plupart des espèces de ce genre ne développent pas de l'invertine ; toutes, en tant qu'elles provoquent une fermentation alcoolique nettement accusée, font fermenter la maltose ; les fermentations sont lentes et ce n'est qu'après un temps relativement long qu'elles produisent leur quantité maximum d'alcool. Au point de vue du pouvoir fermentatif elles présentent entre elles de grandes différences. Ainsi, tandis que le *mucor erectus* a donné dans le moût de bière jusqu'à 8 p. 100 d'alcool, le *mucor racemosus* n'en a produit que 3 p. 100.

Les levures vigoureuses de ce genre envoient, pendant la fermentation, leur mycélium, leurs chlamydospores et leurs cellules à la surface du liquide, en produisant les phénomènes de fermentation haute. Aucune de ces espèces n'est employée dans l'industrie.

Il ne sera pas inutile de résumer brièvement ce qui a été dit plus haut touchant l'action des levures sur les divers sucres.

1° En ce qui concerne le genre *saccharomyces*, les espèces dont il se compose se divisent en deux groupes principaux, suivant qu'elles développent de l'invertine et provoquent la fermentation alcoolique, ou suivant qu'elles ne possèdent pas les deux propriétés. Le *saccharomyces membranæfaciens* est le seul représentant connu jusqu'ici du second groupe.

Toutes les espèces du premier groupe produisent une fermentation alcoolique active dans les dissolutions de saccharose et développent de l'invertine. Ce premier groupe se subdivise en deux sections dont la première comprend les levures qui n'agissent pas sur la maltose (*sacch. marxianus*; *sacch. exiguus*) et dont la seconde section compte les espèces beaucoup plus nombreuses capables de déterminer la fermentation active de la maltose.

Cette fermentation de la maltose paraît se faire directement sans dédoublement préalable en deux molécules de dextrose. L'invertine ne dédouble pas la maltose.

La saccharose soumise à l'action des levures alcooliques fermente tantôt directement sans se dédoubler, comme cela arrive avec la *monilia candida* dépourvue d'invertine, tantôt indirectement après avoir été convertie en sucre interverti (la plupart des *saccharomyces*, quelques espèces de *torula*, le *mucor racemosus*); ou bien enfin la saccharose n'est pas entamée et ne fermente pas (*sacch. apiculatus*, diverses espèces de *torula*, la plupart des espèces du genre *mucor*).

La dextrose est la seule variété de sucre que toutes les levures alcooliques font fermenter. Elle fermente toujours avec plus de rapidité et d'énergie que la saccharose et la maltose.

Quant à la lactose, parmi toutes les levures alcooliques jusqu'ici connues, il n'y en a qu'une seule qui la fasse fermenter; c'est la levure découverte dans le lait par M. Duclaux. On ne sait pas si cette espèce produit ou non des endospores.

CHAPITRE IV

COMPOSITION DE LA LEVURE

Avant d'aborder le chapitre où nous aurons, entre autres questions, à envisager les modifications chimiques éprouvées par la levure dans les diverses conditions où on peut la placer, nous devons résumer les résultats obtenus par les expérimentateurs qui se sont occupés de la composition chimique de cet organisme.

Plusieurs travaux ont été exécutés dans cette direction. Ainsi Schlossberger a publié des recherches très soignées sur la composition élémentaire et immédiate des deux levures de bière débarrassées, autant que possible, par des lavages et des décantations, des impuretés qui se trouvent dans la levure brute. Ce savant a trouvé comme moyenne de deux analyses :

| | 1 ^o Levure sup. | Levure inf. | |
|---------------------------------|----------------------------|-------------|------|
| Déduction faite des cendres. | Carbone. | 49,9 | 48,0 |
| | Hydrogène. | 6,6 | 6,5 |
| | Azote | 12,1 | 9,8 |
| | Oxygène | 31,4 | 35,7 |
| | Cendres | 2,5 | 3,5 |

De leur côté, MM. Mitscherlich, Mulder et Wagner, ont publié indépendamment les résultats suivants :

| | Levure inf. (Wagner). | Levure sup. (Mitsch). | Levure sup. (Mulder). | Levure sup. (Wagner). | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------|
| Cendres non déduites. | Carbone. | 44,4 | 47,0 | 50,8 | 49,8 |
| | Hydrogène. | 6,0 | 6,6 | 7,2 | 6,8 |
| | Azote | 9,2 | 10,0 | 11,1 | 9,2 |
| | Soufre. | » | 0,6 | » | » |
| | Oxygène. | 35,8 | | | |

M. Dumas (*Traité de chimie*) trouve :

| | |
|---------------------|------|
| Carbone | 50,6 |
| Hydrogène | 7,3 |
| Azote | 15,0 |
| Oxygène | 27,1 |
| Soufre | |
| Phosphore | |

Ce résultat diffère des autres par une plus forte proportion d'azote ; mais on comprend des variations dans la composition d'un produit tel que la levure qui est constamment en voie d'évolution chimique. C'est ainsi que la moindre teneur en azote et en carbone fournie par l'analyse de la levure inférieure, comparée à celle de la levure supérieure, s'explique facilement, si l'on tient compte du fait, que la première reste beaucoup plus longtemps après la fermentation en contact avec le liquide. Il peut donc s'établir des phénomènes d'altération spontanée qui, transformant en principes solubles une partie des produits azotés albuminoïdes du protoplasma, leur permet de s'échapper dans le liquide ambiant.

Schlossberger a cherché à isoler les divers principes immédiats contenus dans la levure. C'est ainsi, qu'en traitant celle-ci par une lessive très faible de potasse, filtrant et neutralisant le liquide par un acide, il a obtenu un précipité floconneux blanc, exempt de cendres, qui a donné à l'analyse élémentaire les nombres suivants :

| | |
|---------------------|------------------------|
| | Moyenne de 2 analyses. |
| Carbone | 53,5 |
| Hydrogène | 7,5 |
| Azote | 13,9 |
| Soufre | 0,0 |

L'azote est ici trop faible pour une matière albuminoïde normale. L'analyse se rapporte assez bien à celle que m'a fournie l'hémi-protéine, l'un des produits du dédoublement de l'albumine par l'acide sulfurique étendu. Ce rapprochement est d'autant plus frappant que l'hémi-protéine est également soluble dans les alcalis étendus et précipitable par les acides ; le précipité bien lavé ne donne pas de cendres après combustion. D'un autre côté, il est très probable que la levure agit sur les matières

albuminoïdes en les dédoublant progressivement, comme nous en trouverons les preuves plus loin.

Les propriétés et la composition du principe azoté extrait par Schlossberger se rapprochent aussi beaucoup de celles de la mycoprotéine retirée des bactéries par une méthode analogue. Action des lessives alcalines très faibles et neutralisation du liquide filtré par l'acide acétique.

En épuisant la levure par l'acide acétique et en précipitant la liqueur filtrée par le carbonate d'ammoniaque, Mulder obtint un principe plus voisin par sa composition de l'albumine et qui donne :

| | |
|--------------------|------|
| Carbone. | 53,3 |
| Hydrogène. | 7,0 |
| Azote. | 16,0 |

On peut donc admettre dans la cellule de levure la présence de une ou plusieurs matières albuminoïdes; sous ce rapport, elle ne se distingue pas des autres cellules végétales; du reste, comme cela ressort de l'étude des produits d'altération de la levure, il est très probable que dans la levure fraîche le protoplasma est constitué par une ou plusieurs matières azotées complexes, de nature albuminoïde, se décomposant sous l'influence des agents chimiques les plus faibles en produits plus simples de composition. Il est donc difficile de conclure des résultats de l'analyse immédiate dans laquelle on fait intervenir de semblables agents, à la véritable nature chimique de ce protoplasma dont nous ne retirons que les termes de transformation.

Le résidu insoluble dans la potasse, dans l'expérience de Schlossberger, a été épuisé par l'acide acétique et l'eau. Il offrait alors une composition voisine de celle de la cellulose.

| | |
|-------------------------|------|
| Carbone. | 44,9 |
| Hydrogène. | 6,7 |
| Azote | 0,5 |
| Cendre déduite. | 1 |

Cette cellulose bouillie avec de l'acide sulfurique se convertit facilement en sucre fermentescible. D'après Liebig, elle n'est pas soluble dans l'oxyde de cuivre ammoniacal. Elle semble

donc différer de la cellulose normale, soluble dans l'oxyde de cuivre ammoniacal et que les acides étendus ne transforment pas en sucre.

D'après nos propres expériences faites en collaboration avec M. Destrem, le résidu insoluble obtenu en traitant la levure jusqu'à épuisement par la potasse caustique étendue, à froid contient de l'azote.

Nous avons trouvé à l'analyse élémentaire, déduction faite des cendres, pour 100 de ce résidu :

| | Dans un cas. | Dans un autre cas. |
|---------------------|--------------|--------------------|
| Carbone | 54,79 | 50,3 |
| Hydrogène | 8,01 | 7,2 |
| Azote | 5,73 | 6,65 |
| Oxygène | 31,47 | 33,5 |

Ce résidu a donc une composition variable. Bouilli avec une solution plus concentrée de potasse, il se désagrège en laissant des flocons blancs, ne contenant plus que très peu d'azote et dont l'analyse élémentaire ¹ conduit à la formule (C²H¹⁶O⁵) qui est celle d'un homologue supérieur de la cellulose (C⁶H¹⁰O⁵ + 3 CH²), en négligeant l'azote qui n'entre plus dans le composé qu'en proportions très faibles.

Les analyses des résidus insolubles dans la potasse étendue et froide peuvent se traduire par les formules non moléculaires C¹¹ H¹⁹ Az O⁵ et C⁹ H¹⁵ Az O⁵ qui sont homologues l'une par rapport à l'autre, ne diffèrent que par 2 CH².

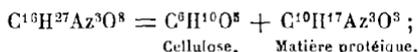
L'enveloppe cellulaire serait donc, d'après cela, un composé complexe, analogue aux glucosides et contenant dans la molécule de quoi former par hydratation des corps amidés et de la cellulose ou un homologue de la cellulose.

Ce que nous venons de dire de l'enveloppe de la cellule s'applique à la cellule tout entière et par conséquent au contenu semi-fluide qui forme le protoplasma, abstraction faite des

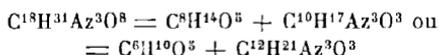
| | | |
|-----|---------------------|-------|
| (1) | Carbone | 53,21 |
| | Hydrogène | 7,69 |
| | Oxygène | 37,3 |
| | Azote | 1,8 |

matériaux solubles. En général, les analyses élémentaires des résidus insolubles dans l'eau bouillante de levures soumises à des

conditions variées peuvent se traduire par des formules décomposables comme celles des enveloppes en matière protéique et en cellulose ou homologues et isomères de la cellulose. Par exemple, l'analyse du résidu insoluble dans l'eau chaude d'une levure que nous désignerons par A conduit à l'expression :



Celle d'une autre levure B peut se traduire par la formule :



L'homologie, suivant les cas, peut se reporter ou sur la matière cellulosique ou sur la matière protéique. Le résidu du lavage à l'eau bouillante de la levure ramollie et digérée à jeun donne des nombres que l'on peut représenter par la formule $C^{21}H^{37}Az^3O^8$ également homologue des précédentes.

Cette analogie de composition de toute la masse de l'utricule du saccharomyces, y compris l'enveloppe, explique beaucoup mieux qu'auparavant l'accroissement et la multiplication de la levure par bourgeonnement, lorsqu'elle est placée dans les conditions normales de nutrition. Ce bourgeonnement ne représente, en réalité, qu'une expansion de matière nouvelle dans une direction déterminée. Les bourgeons sont de véritables hernies provoquées par pléthore; à un point de vue général, le phénomène est donc comparable à une extension indéfinie de la cellule dans tous les sens.

Payen (*Mémoire des savants étrangers*, t. IX, p. 32) donne l'analyse immédiate suivante pour la levure :

| | |
|--------------------------------|-------|
| Matière azotée. | 62,73 |
| Cellulose (enveloppes) | 22,37 |
| Graisse. | 2,10 |
| Matière minérale | 5,80 |

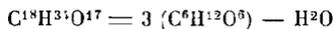
D'autres expérimentateurs, tels que Pasteur et Liebig, en employant les moyens de séparation usités dans l'analyse des végétaux supérieurs n'ont trouvé que 18,5 p. 100 de cellulose pure, dans la levure fraîche. Si l'on admet que l'azote (11,8 à

12,5 p. 100) contenu dans la levure fait partie intégrante de matières albuminoïdes, on peut calculer, par une simple règle de trois, que la levure renferme 60 p. 100 environ de matières protéiques et près de 40 p. 100 de substance hydrocarbonée.

Cette manière de calculer la composition immédiate de la levure n'est pas tout à fait légitime. On trouve en effet, dans l'eau de lavage de la levure fraîche, lavée à l'eau glacée, des quantités notables de tyrosine, de leucine, etc., qui renferment moins d'azote que les matières albuminoïdes (10 et 7,7 p. 100 au lieu de 15,5 à 16).

Comme les analyses directes ne fournissent que 18,5 ou au plus 30 p. 100 de cellulose, on est conduit à supposer que dans la cellule de levure se rencontrent d'autres matières hydrocarbonées, plus facilement attaquées par les acides ou les alcalis que la véritable cellulose. Cette opinion est corroborée par la production d'alcool pendant la digestion de la levure à l'abri du sucre, bien que l'on ne puisse y déceler la présence de la glucose. D'un autre côté on constate, dans l'extrait de levure spontanément altérée, des quantités notables d'une matière gommeuse spéciale (Béchamp, Schützenberger).

La composition élémentaire de cette matière gommeuse ou mucilagineuse peut être représentée par la formule :



Elle est douée d'un pouvoir rotatoire dextrogyre égal à 78°. Aisément soluble dans l'eau chaude, elle ne réduit la liqueur de Fehling qu'après saccharification par les acides minéraux étendus, à l'ébullition. Sa saccharification s'opère lentement. L'origine de cette gomme, si elle ne préexiste pas toute formée dans la cellule fraîche, ne peut être attribuée qu'au dédoublement d'un composé de la famille des glucosides ou qu'à une transformation moléculaire d'une matière hydrocarbonée insoluble, autre que la cellulose. Pasteur (*Compt. rendus*, t. XLVIII, p. 640) a obtenu 20 p. 100 de sucre par l'ébullition de la levure avec de l'acide sulfurique étendu.

Plus récemment, MM. Von Nägely et O. Læw ont trouvé par l'analyse immédiate d'une levure pauvre en azote (8 p. 100 de matière sèche) :

| | |
|---|----|
| Cellulose et gomme. | 37 |
| Matières albuminoïdes insolubles dans l'alcool (mycopoléine, etc.) | 36 |
| Matières albuminoïdes solubles dans l'alcool bouillant, analogues à la glutenfibrine de Ritthausen. | 9 |
| Peptones précipitables par le sous-acétate de plomb. | 2 |
| Matières grasses. | 5 |
| Matières extractives. | 4 |
| Cendres | 7 |

On doit à Mitscherlich (*Ann. der Chemie und Pharmacie*, t. LVI) d'excellentes analyses et déterminations des cendres de levure. La matière sèche, placée dans une nacelle d'argent, disposée elle-même sur une nacelle de platine était brûlée dans un tube de verre, dans un courant d'oxygène; on commençait à distiller la matière organique dans une atmosphère d'acide carbonique et l'on achevait la combustion dans l'oxygène.

Quantité de cendres de la levure :

| | | | |
|---|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| Levure supérieure (Wagner et Schlossberger). | Levure inférieure (Schlossberger). | Levure supérieure (Bull). | Levure supérieure (Mitsch). |
| 2,5 p. 100 | 3,5-4 p. 100 | 8,9 p. 100 | 7,7 p. 100 |
| | Levure inférieure (Mitsch). | Levure inférieure (Wagner). | |
| | 7,5 p. 100 | 5,3 p. 100 | |

En ne prenant que les résultats de Mitscherlich qui paraissent les plus certains, il n'y aurait pas de différence au point de vue des quantités de matières minérales entre les deux espèces de levures. Les doses faibles de matières minérales trouvées par Schlossberger, peuvent tenir à ce que cet expérimentateur lavait sa levure, opération, qui, comme l'a montré Béchamp, donne lieu à une élimination continue de phosphates.

Les cendres de levure contiennent pour 100 :

| | | | |
|-------------------------------|--------------------------------|-------------|--|
| | Levure sup. (Mitscherlich.) | Levure inf. | Levure sup. de bière blanche. (Bull.) |
| Acide phosphorique. | 53,9 | 59,4 | 54,7 |
| Potasse | 39,8 | 28,3 | 35,2 |
| Soude | » | » | 0,5 |
| Magnésie. | 6,0 | 8,1 | 4,1 |
| Chaux | 1,0 | 4,3 | 4,5 |
| Silice | traces | » | » |
| Oxyde de fer | » | » | 0,6 |
| Acide sulfurique | » | » | » |
| Acide chlorhydrique | » | » | 0,1 |

Les éléments dominants sont donc l'acide phosphorique et la potasse, à côté d'un peu de magnésium et de chaux. Les analyses de Mitscherlich peuvent aussi se calculer ainsi :

| | Levure supérieure. | Levure inférieure. |
|---|--------------------|--------------------|
| Acide phosphorique. | 41,8 | 39,5 |
| Potasse | 39,8 | 28,3 |
| Soude. | » | » |
| Phosphate de magnésium. | 16,8 | 22,6 |
| ($\text{Ph}^2\text{O}^62\text{MgO.}$) | | |
| Phosphate de chaux | 2,3 | 9,7 |
| ($\text{Ph}^2\text{O}^42\text{CaO.}$) | | |

Les renseignements que nous venons de fournir sur la composition immédiate et élémentaire de la levure sont encore, on le voit, bien incomplets, et cette question mériterait d'être reprise avec attention.

Cette opinion a été déjà mise en avant par Pasteur qui s'exprime ainsi (*Ann. chim. phys.* (3), LVIII, p. 403) :

« La levure renferme des matières azotées diverses et également des matières non azotées distinctes les unes des autres. Il y aurait une étude très intéressante à faire à ce sujet. J'ai vu qu'on parviendrait à des résultats utiles en examinant séparément l'action de l'eau, de l'acide sulfurique étendu et de la potasse. Je crois qu'un examen de la levure, fait à ce point de vue, des divers matériaux qui la composent, pourrait donner le secret de certains changements qui s'observent dans la nature de l'extrait du liquide fermenté. »

Malgré l'insuffisance des données sur cette question, on voit qu'au point de vue qualitatif les cellules de levure se rapprochent des autres cellules entrant dans la composition des grands végétaux et des champignons en général. Enveloppes formées de cellulose à divers degrés d'évolution, contenu en grande partie composé d'un protoplasma albumineux, matières hydrocarbonées analogues à la gomme, substances grasses et même résineuses. En effet, la levure contient une petite quantité de résine amère soluble dans les alcalis.

Quantitativement elle offre un caractère spécial, elle est très riche en azote, beaucoup plus que les tissus végétaux pris en bloc. Ainsi dans les champignons, sur 100 grammes de matière

sèche MM. Schlossberger et Doepping ont trouvé les doses suivantes d'azote :

| | Cantarelles. | Russules. | Lact deliciosus. |
|-----------------------|--------------|-------------------|------------------|
| Azote p. 100. | 3 gr. 22 | 4 gr. 25 | 4 gr. 68 |
| | Ceps noirs. | Agar. campestris. | |
| Azote p. 100. | 4 gr. 7 | 7 gr. 26 | |

La composition des champignons, d'après Payen, est la suivante :

| | Champignon de couche. | Morille. | Truffe blanche. | Truffe noire. |
|--|--------------------------|----------|--------------------|------------------|
| Eau. | 91,01 | 90 | 72,34 | 72 |
| Composés azotés avec trace de soufre. . . . | 4,68 | 4,4 | 9,96 | 8,76 |
| Matière grasse | 0,40 | 0,56 | 0,44 | 0,56 |
| Cellulose, dextrine, sucres, matières tertiaires | 3,45 | 3,68 | 15,161 | 7,59 |
| Sels (phosphates et chlorures alcalins, calciques, magnésiques, silice). | 0,46 | 1,36 | 2,10 | 2,07 |
| Azote pour 100 de matière sèche. | 7,33 | • | 1,532 | 1,35 |

Les champignons de couche sont donc presque aussi riches en matière albuminoïde que la levure, puisque 100 parties de matière sèche contiennent 52 parties de ces corps.

La levure en renferme 60.

CHAPITRE V

FONCTIONS DE LA LEVURE

La levure est un organisme vivant appartenant à la famille des champignons, genre *saccharomyces*, le plus souvent dépourvu de mycélium, susceptible de se reproduire, comme tous les champignons élémentaires, par bourgeonnement et par sporulation; sa composition, nous venons de le voir, se rapproche singulièrement de celle d'autres tissus végétaux et notamment de ceux des plantes de la même famille. L'examen de ses fonctions biologiques, étudiées surtout au point de vue chimique, nous montre qu'en définitive, cet être élémentaire ne diffère pas non plus essentiellement des autres cellules élémentaires, dépourvues de chlorophylle, isolées ou groupées, des organes plus complexes. Elle respire, transforme et modifie ses principes immédiats d'une manière continue et certainement de la même façon que d'autres cellules; comme elles, elle peut se multiplier par bourgeonnement et sporulation. Le seul caractère différentiel et bien tranché qui semblait en faire un être absolument à part, parmi les êtres de la création, lui a été enlevé par M. Pasteur lui-même et par MM. Lechartier et Bellamy, lorsque ces chimistes sont venus établir que les cellules des fruits, des graines, des fenilles, voire même les cellules animales, sont aptes à décomposer le sucre en alcool et acide carbonique.

Dès lors l'étude approfondie des fonctions biologiques de la levure ne nous apparaît plus comme un chapitre isolé au milieu de ceux qui composent la physiologie générale, mais au con-

traire, comme un exemple particulier, d'où l'on pourra tirer d'importantes conclusions sur les phénomènes chimiques des organismes vivants en général. La levure offre cet immense avantage, pour le savant, de se prêter avec une grande facilité à toutes espèces d'expériences. C'est une véritable argile qui se pétrit à volonté, composée d'une seule et même espèce de cellules élémentaires, ce qui permet d'éviter les complications dues à l'intervention de phénomènes multiples.

Conditions normales de la vie de la levure. — Les conditions que nous appellerons normales de la vie de la levure de bière sont celles où cet être se développe et se nourrit avec le plus d'activité et d'énergie. Elles sont de deux ordres, *physiques* et *chimiques*.

En fait de conditions physiques nous n'avons à relever que la température. Le degré le plus favorable de la nutrition de la levure est aussi celui que l'on observe pour tous les autres organes cellulaires végétaux, il est compris entre 25 et 35° centigrades. En deçà et au delà de ces limites les manifestations vitales ne sont enrayées que lorsqu'on descend au-dessous de 9° ou qu'on s'élève au-dessus de 60°, température à laquelle les principes albuminoïdes commencent à se coaguler.

Quant aux conditions chimiques, à la composition la plus favorable du milieu où doit vivre et se multiplier cet organisme, elles ne sont pas aussi simples.

On doit aux savantes et patientes recherches de Pasteur sur cette question les meilleurs renseignements que nous possédons à cet égard. Il a été suivi dans cette voie féconde par quelques-uns de ses élèves (Duclaux, Raulin), des travaux desquels nous aurons à parler dans la suite.

A priori, nous pouvons prévoir que le milieu le plus favorable est celui qui contient les éléments nutritifs les plus appropriés. Ces éléments doivent être ceux que nous retrouvons dans l'organisme de la cellule, ou tout au moins des principes susceptibles de permettre à la cellule de former avec eux par synthèse, ses composants immédiats. Or nous avons vu que la levure contient de l'eau en plus ou moins forte proportion, des sels minéraux, principalement des phosphates de potasse, de magnésie et de

chaux. L'eau, les phosphates alcalins et alcalino-terreux feront donc forcément partie intégrante du milieu nutritif. Nous trouvons ensuite une forte proportion de matières azotées, albuminoïdes ou autres. L'aliment de la levure doit donc renfermer de l'azote. Il se pose de suite une question : sous quelle forme l'azote doit-il être apporté à la cellule pour qu'il puisse être assimilé? L'expérience seule peut répondre.

Nous savons, grâce aux belles recherches de M. Boussingault, que les végétaux supérieurs ne sont pas susceptibles d'absorber l'azote libre de l'atmosphère. Ce savant a fait germer dans un sol siliceux calciné, arrosé avec de l'eau pure, des poids connus de graines, pour lesquelles on avait établi la dose moyenne d'azote. Lorsque le végétal, malgré ces conditions défavorables, avait acquis un certain développement, on dosait la totalité de l'azote contenu dans la masse totale. Cette dose ne dépassait pas la quantité primitive contenue dans la graine.

La levure ne fait pas exception à la règle.

Assimilation de l'azote des nitrates. — Parmi les aliments azotés utilisés par les plantes en général, les expériences agricoles, faites sur une grande échelle et répétées depuis des années, aussi bien que les essais de laboratoire des savants, ont établi l'efficacité des nitrates et des sels ammoniacaux.

L'importance du salpêtre comme engrais est connue depuis longtemps; cependant, au point de vue des phénomènes biologiques de la nutrition et de l'assimilation, on peut se demander si le nitrate, introduit dans le sol, ne subit pas, avant d'arriver à la plante qui utilise son azote, des réductions qui le ramèneraient à une autre forme, celle de sels ammoniacaux par exemple. M. Boussingault a donné une solution complète de cette question, en opérant sur des plantes semées dans un milieu ou un sol absolument privé de matières organiques et dans lequel les réductions de nitrates sont inadmissibles. Le tableau suivant donne une idée de l'influence des nitrates sur la végétation dans un sol stérile.

Il a fait trois séries d'expériences : la première avec un sol purement siliceux ; la seconde avec sels nutritifs et nitrate ; la troisième avec sels nutritifs seulement.

| | Poide de la ré- colte sèche, la graine étant 1. | Matière végét. élaborée. | Ac. carbon. décomposé en 24 h. | Acquis par les plantes en 86 jours de végétation. | |
|---|---|--------------------------------|--------------------------------------|--|--------|
| | | | | Carb. | Azote. |
| 1° Le sol n'a rien reçu. | 3,6 | 0,283 | 2,45 | 0,114 | 0,0023 |
| 2° Lesolareçudesphos- phates, de la cendre et du nitrate de po- tasse. | 198,3 | 21,111 | 182,00 | 8,446 | 0,1666 |
| 3° Lesolareçudesphos- phates, de la cendre, du bicarbonate de po- tasse. | 4,6 | 0,391 | 3,42 | 0,156 | 0,0027 |

Ces nombres nous révèlent des différences tellement considérables entre les résultats obtenus dans le même temps, avec ou sans le concours des nitrates, toutes choses égales d'ailleurs, qu'une erreur d'interprétation est impossible.

Nous pouvons donc dire : dans les grands végétaux, le nitrate soluble pénètre dans l'organisme à l'état de solution ; c'est là qu'il subit des réductions qui finalement amènent son azote sous forme de matières albuminoïdes.

En est-il de même pour la levure ? peut-elle élaborer ses matières protéiques en partant des nitrates ?

La question est controversée. D'une part Dubrunfaut (*Comp. rendu de l'Ac.*, t. LXXIII, p. 200 et 263) dit avoir observé une activité plus grande comme ferment après des additions de nitrate de potasse.

D'un autre côté, Ad. Mayer (*Lehrbuch der Gährungs-Chemie*, 1874) affirme n'avoir obtenu que des résultats négatifs dans toute une suite de recherches dirigées dans cette voie. Schaer est arrivé aux mêmes résultats que Mayer.

Cette différence tranchée, entre les phénomènes de nutrition de la levure et des grands végétaux, est d'autant plus remarquable, que des organismes simples, très voisins du saccharomyces, se comportent vis-à-vis des nitrates absolument comme les plantes terrestres d'un ordre plus élevé.

Ainsi les moisissures qui végètent à la surface des liquides font très bien leur profit du nitrate dissous.

En admettant comme exactes les observations de Mayer, on

est conduit à interpréter ces résultats négatifs de la manière suivante :

Pour assimiler l'azote d'un nitrate, la plante doit préalablement le réduire : Ou bien la cellule de saccharomyces ne possède pas, vis-à-vis des nitrates, ce pouvoir réducteur, que nous trouvons dans d'autres cellules isolées et formant partie intégrante d'organismes plus complexes, où les expériences ont été faites dans des conditions où ce pouvoir réducteur n'a pu se révéler. Quoi qu'il en soit, le dernier mot de l'assimilation de l'azote des nitrates n'est pas encore dit, et avant de se prononcer définitivement dans le sens négatif, il convient de varier les expériences.

Assimilation de l'azote des sels ammoniacaux. — Les agriculteurs sont en général d'accord pour reconnaître l'efficacité des sels ammoniacaux dans la végétation. Les expériences de H. Davy, Kuhlmann, I. Pierre, Lawes et Gilbert, conduisent à la même opinion. Il paraît probable d'après l'ensemble des faits que les sels ammoniacaux peuvent concourir à la nutrition des plantes, bien qu'on reconnaisse, qu'à égalité dans le poids d'azote, ils agissent d'une façon moins favorable que les nitrates. Les expériences de M. Bonchardat (*Mémoire sur l'influence des composés ammoniacaux sur la végétation*), celles de M. Cloëz (*Leçons de la soc. chim.*, 1861, p. 167) tendent au contraire, à établir : 1° que les dissolutions des sels ammoniacaux communément employés ne fournissent pas aux végétaux l'azote qu'ils s'assimilent; 2° que si des dissolutions à $\frac{1}{1000}$ et même de $\frac{1}{10000}$ de ces sels sont absorbées par les racines, elles agissent comme des poisons énergiques et tuent rapidement la plante. M. Cloëz cite à ce sujet de nombreux exemples qui ne laissent aucun doute sur la réalité du fait.

S'il en est ainsi, pour accorder ces résultats en apparence discordants, il faut admettre ou que l'ammoniaque pour être assimilée et absorbée, utilement et sans danger pour la plante, doit lui être présenté, sous une forme spéciale, peut-être très diluée, ou dans un état de combinaison particulière ou bien encore subir préalablement dans le sol lui-même la transformation en nitrate. Cette interprétation due à M. Cloëz et qui est le

contre-pied des idées de M. Kuhlmann (ce savant soutient au contraire que les nitrates employés comme engrais n'agissent qu'à condition de se transformer dans le sol en sels ammoniacaux), n'est nullement en contradiction avec ce que l'on sait des phénomènes de nitrification.

Des grands végétaux revenons à la levure comme nous l'avons déjà fait plus haut. M. Pasteur a le premier étudié l'influence des sels ammoniacaux sur le développement et la nutrition du saccharomyces.

Après avoir reconnu, par des expériences faites en grand sur des fermentations industrielles, que l'ammoniaque des sels ammoniacaux contenus dans les jus mis en œuvre disparaissait pendant la fermentation, sans qu'il se dégagât des quantités sensibles d'azote, il institua l'essai suivant qui peut servir de type pour tous les autres.

Dans une solution de sucre candi pur (nous verrons bientôt que le sucre ou ses analogues sont des aliments nécessaires pour la levure), on place, d'une part un sel d'ammoniaque, par exemple du tartrate d'ammoniaque, d'autre part la matière minérale qui entre dans la composition de la levure de bière, puis une quantité pour ainsi dire impondrable de globules de levure frais. Les globules semés dans ces conditions se développent, se multiplient, provoquent la fermentation du sucre, tandis que la matière minérale se dissout peu à peu et que l'ammoniaque disparaît. En d'autres termes, l'ammoniaque se transforme en la matière albuminoïde complexe qui entre dans la constitution de la levure, en même temps que les phosphates donnent aux globules nouveaux leurs principes minéraux ; quant au carbone, il est évidemment fourni par le sucre.

Voici, par exemple, la composition d'une des liqueurs employées :

10 grammes de sucre candi pur ;

Cendres de 1 gramme de levure, obtenues au moyen d'un fourneau de coupelle ;

0^{gr},100 tartrate droit d'ammoniaque ;

Traces de levure de bière fraîche, lavée, de la grosseur d'une tête d'épingle à l'état frais, humide, perdant 80 p. 100 d'eau à 100°.

Dans un pareil mélange, le vase étant rempli jusque dans le goulot et bien bouché, ou muni d'un tube à gaz plongeant dans l'eau pure, la fermentation se déclare. Après vingt-quatre à trente-six heures, la liqueur commence à donner des signes sensibles de fermentation, par un dégagement de bulles microscopiques, qui annoncent que le liquide est déjà saturé d'acide carbonique. Les jours suivants, le trouble de la liqueur augmente progressivement, ainsi que le dégagement de gaz, qui devient assez sensible pour que la mousse remplisse le goulot du flacon. Un dépôt recouvre peu à peu le fond du vase. Observée au microscope, une goutte de ce dépôt offre une belle levure très ramifiée, extrêmement jeune d'aspect, c'est-à-dire que les globules sont gonflés, translucides, non granulés, et l'on distingue parmi eux, avec une facilité surprenante, chaque globule de la petite quantité de levure semée à l'origine. Ces derniers globules sont à enveloppe épaisse, se détachant en cercle plus noir; leur contenu est jaunâtre; ils sont granuleux; mais la manière dont ils sont quelquefois entourés par les globules jeunes, indique bien nettement qu'ils ont donné naissance à ceux de ces derniers qui forment les têtes des chapelets. Le soir, à la lumière du gaz, si l'observation a lieu dans les premiers jours, les vieux globules se distinguent des jeunes infiniment plus nombreux, comme on distinguerait une bille noire au milieu de beaucoup de billes blanches.

Cette expérience fondamentale prouve donc que la levure peut bourgeonner, se multiplier, vivre et se nourrir dans un milieu où l'azote n'est représenté que par des sels ammoniacaux.

De plus, M. Pasteur en tire cette conclusion que la levure fait avec l'ammoniaque la synthèse des matières albuminoïdes. Comme contrôle de cette conclusion, M. Pasteur dose l'ammoniaque qui reste dans la liqueur après quelques semaines et trouve une différence en moins, faible il est vrai (0^{sr},0062). Le poids de la levure de nouvelle formation s'élevait à 0^{sr},043.

Dans son dernier mémoire sur l'origine de la force musculaire (*Ann. chim. phys.* (4), t. XXIII, p. 5, 1871), Liebig attaque énergiquement les conclusions et les résultats annoncés par Pasteur. Il nie absolument la formation de la levure et son

augmentation de poids, dans les conditions de l'expérience de Pasteur; n'ayant jamais dit-il, pu réussir à la réaliser, tandis qu'en remplaçant les sels ammoniacaux par de l'eau de lavage de la levure, la formation de levure nouvelle est bien manifeste. Un des arguments de Liebig sur lequel il appuie le plus est l'absence de soufre dans le milieu nutritif de Pasteur; les matières albuminoïdes en renferment, la levure ne peut donc pas élaborer de substances protéiques dans ces conditions. Remarquons à ce sujet que le soufre occupe bien peu de place dans la molécule complexe de l'albumine, et que rien ne prouve que ce corps est indispensable à la constitution de l'albumine.

En réponse à cette attaque, M. Pasteur n'a pu que reproduire avec conviction et force ses premières affirmations, et proposer à son adversaire de faire constater les faits par des arbitres scientifiques. Nous n'insisterons pas davantage sur cette querelle qui, malheureusement, a été terminée par la mort d'un des plus illustres chimistes de notre siècle. Disons seulement que de nouveaux faits parfaitement bien étudiés, notamment par M. Raulin, sont venus par analogie donner une confirmation complète aux idées de M. Pasteur, sur la nutrition des organismes simples en général et de la levure en particulier; nous parlerons de ces faits tout à l'heure.

L'expérience de M. Pasteur, telle qu'il l'a décrite dans son mémoire sur la fermentation alcoolique (*Ann. de chimie et de phys.*, t. LVIII, (3) p. 390), peut prêter à la critique, en ce sens que, en raison des doses minimales de levure initiale employée, le poids de l'ammoniaque disparue et celui de la levure nouvellement formée sont très faibles; et qu'on pourrait les considérer comme rentrant dans les limites d'erreurs des expériences, si l'on ne connaissait toute l'habileté de notre illustre savant. Ces doses initiales si faibles de levure avaient été choisies, pour éviter le soupçon que la nutrition des nouvelles cellules s'était effectuée aux dépens des principes solubles excrétés par les anciennes (l'eau de lavage de la levure est, en effet, très avantageuse pour activer la multiplication des cellules de saccharomyces). Les expériences de Duclaux dirigées d'une manière différente prouvent que ces scrupules ne sont pas fondés, et que l'ammoniaque du milieu disparaît réellement.

Cet éminent chimiste introduit dans un certain volume d'eau sucrée 2^{gr},501 de levure contenant 0^{gr},215 d'azote, le liquide renferme en outre 1 gramme de tartrate d'ammoniaque correspondant à 0^{gr},152 d'ammoniaque. Après fermentation, on recueille 2^{gr},326 de levure contenant 0^{gr},148 d'azote. Le liquide renfermait 0^{gr},055 d'ammoniaque et 0^{gr},170 d'azote sous forme de composés organiques; ce qui donne le bilan suivant pour l'azote :

| | Azote avant la fermentation. | Azote après la fermentation. |
|--|---------------------------------|---------------------------------|
| Dans la levure. | 0,215 | 0,148 |
| A l'état d'ammoniaque. | 0,152 | 0,045 |
| Sous forme de matière organique azotée dissoute dans le liquide . | » | 0,120 |
| Somme. | 0,367 | 0,363 |

Les deux sommes s'équivalent à 4 milligrammes près. On voit nettement que les trois quarts de l'ammoniaque ont disparu, et nous les trouvons dans la levure et le liquide qui la baigne, sous forme de combinaisons organiques azotées. Cette expérience ayant reçu depuis la consécration de tout fait bien observé, nous pouvons admettre avec certitude, que la levure peut faire la synthèse de ses matériaux protéiques aux dépens du sucre et de l'ammoniaque.

M. Mayer a prouvé comme complément des observations de MM. Pasteur et Duclaux que le tartrate d'ammoniaque peut être remplacé par d'autres sels ammoniacaux (nitrate, oxalate, etc.), sans désavantage au point de vue de la nutrition et de la disparition de l'ammoniaque. Ainsi, loin de se décomposer en fournissant de l'ammoniaque pendant son développement et la fermentation, comme l'avait annoncé Doebereiner, la levure consomme l'ammoniaque qui se trouve dans les liquides qui fermentent.

Si un sel ammoniacal peut servir à la nutrition et au développement de la levure, il résulte cependant des faits généralement observés que ce n'est point l'aliment azoté par excellence pour cet organisme simple. En remplaçant le sel ammoniacal de l'expérience de Pasteur, par des jus naturels (jus de raisin, jus de betterave, eau de lavage de levure), contenant des matières azotées organiques, la quantité de levure formée et déposée dans

le même temps est bien supérieure, et la décomposition du sucre est plus active¹. Il existe donc des matières azotées carburées qui sont plus propres à la nutrition de la levure que l'ammoniaque. Ces matières, quelles sont-elles ?

Les jus naturels que nous venons de nommer, et en particulier l'eau de lavage de levure qui se montre particulièrement active, contiennent diverses espèces de matières azotées et notamment des substances albuminoïdes. Faut-il attribuer le rôle principal aux principes protéiques de ces jus ou à des composés plus simples ? L'expérience directe peut seule répondre à cette question.

Pasteur a trouvé l'albumine de blanc d'œuf tout à fait impropre à nourrir les globules de levure ; déjà plus anciennement, MM. Thénard et Colin avaient observé que l'albumine ne commence à provoquer la fermentation alcoolique (ou ce qui est la même chose, à provoquer la nutrition et le développement des globules de levure), qu'au bout de trois semaines à un mois de conservation à 30°, alors qu'elle subit sous l'influence des infusoires et des mucidinées qui s'y développent, une altération plus ou moins profonde. Le sérum du sang favorise la nutrition des globules sans avoir besoin de s'altérer préalablement, mais ce n'est pas la sérine qui dans ce cas est active, car si l'on vient à l'éliminer par coagulation, le liquide filtré et bouilli, additionné de sucre et de levure, provoque rapidement une fermentation énergique (Pasteur).

M. Mayer a fait de nombreuses expériences en vue d'élucider la question du rôle nutritif des matières albuminoïdes. Il a reconnu que l'inactivité de la plupart d'entre elles (albumine, caséine, etc.) tient surtout à leur non-diffusibilité à travers les membranes organisées des cellules. On sait, en effet, que la généralité de ces corps appartient à la classe des substances colloïdales, non diffusibles à travers les membranes poreuses, et

(1) Dans toutes les observations faites par Pasteur et les autres expérimentateurs, une augmentation et un ralentissement dans le développement des cellules, leur multiplication et leur nutrition étaient toujours accompagnées d'une variation dans le même sens dans l'énergie avec laquelle le sucre (un des éléments nutritifs essentiels) était décomposé en alcool et acide carbonique. Nous discuterons plus loin comment nous comprenons cette corrélation entre les deux phénomènes.

l'on conçoit facilement que ne pouvant pénétrer dans l'intérieur de la cellule, restant prisonnières dans le liquide ambiant, elles ne seront pas en mesure d'aider puissamment au développement, à la nutrition, et à la multiplication des globules. Les produits diffusibles formés par la digestion stomacale et intestinale ou par des digestions artificielles se sont, au contraire, révélés comme éminemment aptes à nourrir la cellule de saccharomyces.

Il en est de même de la diastase et des diverses espèces de pepsines ; mais comme l'activité nutritive de ces ferments persiste après leur cuisson, ce n'est nullement à leurs propriétés spécifiques de ferments solubles qu'il convient de l'attribuer ; car ces propriétés sont détruites par la chaleur ; mais plutôt aux produits analogues à la peptone, qui accompagnent toujours ces ferments solubles, et dont il est très difficile de les débarrasser. La syntonine, et à un moindre degré l'allantoïne, l'urée, la guanine, l'acide urique, augmentent le pouvoir fermentescible de la levure ; c'est-à-dire la nourrissent.

D'autres substances azotées, que l'on doit également considérer comme des ammoniaques composées, se sont montrées très peu ou point actives. Telles sont la créatine, la créatinine, la caféine, l'asparagine, la leucine, l'hydroxylamine.

Il est donc très probable, d'après ces résultats, que les suc naturels, le moût de bière, l'eau de lavage de la levure fraîche doivent leur faculté nutritive pour les cellules de levure, non à des principes albuminoïdes proprement dits, non diffusibles, mais à des composés azotés voisins, analogues aux peptones, qui jouissent de la propriété de passer par osmose à travers les membranes.

La levure de bière nous offre ainsi un exemple palpable, frappant de cellules végétales assimilant leur azote sous forme de combinaisons complexes, voisines par leur constitution des termes les plus élevés, des matières albuminoïdes. Rien ne prouve que des phénomènes de même ordre ne se produisent pas dans les végétaux d'une organisation supérieure. Les expériences agricoles et physiologiques n'établissent pas aussi nettement que pour les nitrates et les sels ammoniacaux l'assimilation de combinaisons azotées organiques, bien que les observa-

tions peu nombreuses faites à ce sujet soient plutôt favorables que défavorables à une solution positive de la question. Mais en serait-il même autrement qu'il ne serait pas logique et prudent de chercher à faire une distinction tranchée entre les phénomènes de nutrition du saccharomyces et ceux des grands végétaux, et de dire que l'un peut trouver la nourriture azotée dans les combinaisons azotées organiques voisines des matières albuminoïdes, et les autres pas.

Les végétaux d'une organisation complexe sont en effet formés par la réunion d'éléments cellulaires de divers ordres remplissant des fonctions variées, dont les conditions de nutrition et de développement ne sont pas identiques, et dans le nombre il est probable qu'il s'en trouve qui sont susceptibles d'assimiler les matériaux organiques azotés complexes, élaborés ailleurs aux dépens des sels ammoniacaux ou des nitrates.

Assimilation des principes minéraux. — Les végétaux, en général, laissent toujours, après combustion à l'air ou dans l'oxygène, un résidu fixe minéral, dont le poids varie dans certaines limites d'une espèce végétale à l'autre, mais aussi et surtout d'un organe à l'autre, et pour le même organe suivant son âge. Ainsi les feuilles de poirier ont donné à M. Violette pour 100 parties de matière sèche, 7^{sr},118 de cendres.

| | | Cendres. |
|--------------------------------|-------------------|----------|
| L'extrémité des tiges. | { Ecorce. | 3,454 |
| | { Bois. | 0,304 |
| La partie moyenne | { Ecorce. | 3,682 |
| | { Bois. | 0,134 |
| La partie inférieure. | { Ecorce. | 2,903 |
| | { Bois. | 0,354 |
| Tronc | { Ecorce. | 2,657 |
| | { Bois. | 0,296 |
| Racine. | { Ecorce. | 1,127 |
| | { Bois. | 0,234 |

A mesure que la plante vieillit, la dose de cendres augmente.

Ces principes minéraux qui se retrouvent dans tous les végétaux, depuis le haut de l'échelle jusqu'au bas, car nous

avons déjà vu, par les analyses, que la levure ne fait pas exception, ces principes minéraux, dis-je, jouent-ils un rôle sensible dans les phénomènes biologiques de nutrition et de développement de végétal, ou n'apparaissent-ils que comme des éléments inutiles, mais non nuisibles, fatalement apportés par les liquides au sein desquels la plante puise ses principes nutritifs?

La constance remarquable de composition chimique des diverses variétés de cendres, surtout au point de vue des éléments constitutifs, et l'expérience agricole la plus complète ont prouvé, de la manière la plus certaine, que la plupart des composés salins trouvés à l'analyse, sont nécessaires à la végétation. Elles ont, en outre, appris à les classer par ordre d'importance nutritive, par rapport à l'ensemble du végétal et à ses diverses parties constitutives (feuilles, tiges, semences, graines, etc.). C'est ainsi que les phosphates dominant singulièrement dans la graine, et forment à eux seuls la totalité de la masse minérale trouvée à l'incinération, comme le montrent les résultats suivants publiés par Berthier :

RICHESSE EN PHOSPHATES DE 100 PARTIES DE CENDRES

| NATURE du PHOSPHATE | BLÉ BLANC CHÂTRAIN | SEIGLE | ORGE | AVOINE | RIZ DE LA CAMARGUE | MAÏS | HARICOTS SOISSONS | POIS VERTS | LENTILLES |
|-------------------------------|-----------------------|--------|-------|--------|-----------------------|-------|----------------------|------------|-----------|
| Phosphate de potasse | 50,00 | 48,50 | 52,50 | 7,50 | 24,10 | 41,50 | 42,70 | 66,70 | 61,70 |
| Phosphate de chaux | 22,00 | 29,20 | 15,00 | 16,50 | 24,10 | 18,50 | 8,40 | 22,20 | 6,50 |
| Phosphate de magnésie | 28,00 | " | 25,00 | 20,00 | 24,10 | 38,00 | 14,30 | 6,60 | 19,60 |
| Phosphate de manganèse . . | " | 18,30 | " | " | " | " | " | " | " |
| TOTAL | 100,00 | 96,00 | 92,50 | 44,00 | 72,30 | 98,00 | 65,40 | 95,50 | 87,80 |

Donnons encore comme renseignement, d'après le même auteur, les analyses de cendres des diverses parties végétales.

TIGES, 100 PARTIES DE CENDRES CONTIENNENT :

| COMPOSITION des CENDRES | VIGNE DE NEMOURS | | PAILLE DE FROMENT | LUZERNE | FOIN |
|---|---------------------|-------|----------------------|---------|-------|
| Potasse | " | " | 3,40 | " | " |
| Carbonates de potasse et de soude | 16,40 | " | " | 14,44 | 12,20 |
| Chlorure de potassium | 2,20 | 0,78 | 2,90 | 1,90 | 3,64 |
| Sulfate de potasse | 4,40 | 3,40 | 0,30 | 2,66 | 1,30 |
| Phosphate de potasse | " | " | " | " | " |
| Silicate de potasse | " | 4,00 | " | " | " |
| Chaux | " | " | 15,70 | " | " |
| Carbonate de chaux | 49,82 | 6,00 | " | 64,26 | 22,62 |
| Carbonate de magnésie | 3,85 | " | " | 6,07 | 6,39 |
| Acide carbonique | " | 1,00 | " | " | " |
| Oxyde de fer | " | " | 2,60 | " | " |
| Phosphate de chaux | 15,70 | 6,60 | 9,00 | 8,43 | 11,31 |
| Phosphate de magnésic | " | " | " | " | " |
| Phosphate de fer | 1,83 | " | " | " | " |
| Phosphate de manganèse | " | " | " | " | " |
| Acide phosphorique | " | " | 1,20 | " | " |
| Silice | 5,80 | 78,22 | 73,90 | 2,24 | 39,80 |

Les tubercules et racines ont donné pour 100 de cendres :

| | GARANCE | TOPINAM- BOURS | POMMES de TERRE | OIGNONS |
|--|---------|-------------------|-----------------------|---------|
| Carbonate de potasse et de soude | 34,11 | 31,50 | 42,43 | 21,60 |
| Chlorure de potassium | 3,14 | 7,50 | 4,00 | 2,20 |
| Chlorure de sodium | " | " | " | " |
| Sulfate de potasse | 3,93 | 6,00 | 2,80 | 4,00 |
| Phosphate de potasse | " | 30,00 | 31,70 | " |
| Carbonate de chaux | 35,01 | " | 2,80 | 12,00 |
| Carbonate de magnésie | 4,13 | " | " | 10,00 |
| Phosphate de chaux | 9,71 | 16,50 | 6,87 | 38,00 |
| " de magnésie | " | 8,50 | 2,50 | " |
| " de fer | 5,09 | " | 1,70 | " |
| Silice | 7,88 | " | 2,50 | " |

Dans les feuilles, c'est le carbonate de chaux et la silice qui dominant et forment à eux seuls près de 60 à 90 p. 100 du poids total des cendres.

| | PIN | VIGNE | MURJER |
|--------------------------|-------|-------|--------|
| Carbonate de chaux . . . | 68,74 | 51,00 | 53,00 |
| Silice | 6,43 | 40,20 | 27,70 |
| TOTAL | 75,17 | 61,20 | 80,70 |

Rappelons la composition des cendres de levure de bière (Mitscherlich).

| | Levure supér. | Levure infér. |
|----------------------------|---------------|---------------|
| Acide phosphorique. . . . | 41,8 | 39,5 |
| Potasse | 39,8 | 28,5 |
| Soude | » | » |
| Phosphate de magnésie. . . | 16,8 | 22,6 |
| — de chaux | 2,3 | 9,7 |

Si les sels minéraux jouent effectivement un rôle actif dans la végétation, nous pouvons déjà prévoir, d'après ces analyses : 1° Que leur importance relative variera avec les doses de ces divers corps, trouvées dans les tissus organisés ; que par conséquent les phosphates, la potasse, la soude, la magnésie et les sulfates occuperont la première place ; 2° que, suivant que le sol ou le milieu où croissent les plantes sera plus spécialement amendé par tel ou tel de ces sels, on favorisera le développement soit des feuilles, soit des tiges, ou des graines. Ces conséquences ont toutes été vérifiées par l'expérience directe, mais comme il n'entre pas dans notre plan de faire une étude de chimie agricole, au point de vue des engrais minéraux, que notre but est seulement de comparer la nutrition de la levure, et des organismes analogues, avec celle des autres végétaux d'un ordre plus élevé, nous reviendrons à l'histoire du saccharomyces. Nous ferons remarquer tout d'abord que la composition de sa cendre, uniquement formée de phosphate, se rapproche le plus de celle des graines, auxquelles la relie du reste l'analogie de fonctions et de composition chimique générale. C'est à M. Pasteur que l'on doit la preuve de la nécessité absolue des sels minéraux (phosphates alcalins et alcalino-terreux), pour le développement et la nutrition de la cellule de

levure. Si dans son expérience, où le ferment est ensemencé sous forme d'une dose impondérable, dans un milieu composé uniquement de sucre candi pur, de tartrate d'ammoniaque et de cendre de levure, on vient à supprimer le dernier élément, la fermentation et le développement de cellules qui doit la précéder n'apparaissent plus. M. Pasteur n'est pas allé plus loin dans cette voie ; absorbé par la poursuite d'un but différent, il n'a pas cherché à établir quelles étaient les substances minérales les plus favorables ; il s'est uniquement servi dans ses recherches de cendres de levure fraîche, comme élément inorganique, pensant, avec raison, que de toute manière il y trouverait ce qui convient le mieux à la nutrition minérale du champignon.

En poursuivant cette étude et recherchant par des expériences directes quels sont, parmi les sels généralement contenus en proportions variables dans les cendres végétales, ceux qui favorisent sensiblement le développement de la levure, M. Mayer (*loc. cit.*) est arrivé aux conclusions suivantes :

1° Les préparations ferrugineuses, employées à très petites doses, ne semblent pas avoir d'influence ; à doses plus élevées, elles sont nuisibles ;

2° Le phosphate de potasse présente une influence favorable prépondérante. Il peut être employé dans le liquide milieu à la dose de plusieurs centièmes, sans que son action fertilisante soit enrayée ; tandis que pour les végétaux d'un ordre plus élevé, une aussi grande concentration deviendrait une cause sérieuse de perturbation pathologique. Le phosphate de potasse est non seulement favorable, mais indispensable.

En effet, si dans un milieu formé de sucre candi, de nitrate d'ammoniaque, de traces de levure et d'un mélange de phosphate acide de potasse, de sulfate de magnésie, et de phosphate tricalcique, milieu qui fermente avec une activité convenable, on vient à supprimer le phosphate acide de potasse, la fermentation et le développement de la levure ne se produisent pas.

Le phosphate potassique ne peut en aucune manière être remplacé par le phosphate de soude qui est inactif.

L'absence du phosphate de chaux dans le milieu offre des

conséquences beaucoup moins fâcheuses que celle du premier sel.

Il résulte de là que la potasse et l'acide phosphorique sont des éléments indispensables, tandis que la chaux peut faire défaut sans trop d'inconvénients, comme nous pouvions le prévoir d'après les données de l'analyse.

Le magnésium, au contraire, s'est présenté dans les expériences de Mayer, comme un élément très utile, sinon indispensable. Il est indifférent de fournir ce métal sous forme de sulfate ou de phosphate ammoniaco-magnésien.

Les combinaisons du sodium n'offrent pas de signification sensible, conformément à ce qui a déjà été observé dans les végétaux d'un ordre supérieur.

Le soufre administré à la levure sous forme de sulfates ou de sulfites solubles ne paraît pas être assimilé. Au moins la présence ou l'absence de ces deux classes de sels paraît sans influence aucune. Cependant la levure renferme du soufre en proportions sensibles que l'on retrouve même combiné intimement dans les produits de sa désassimilation (pseudo-leucine sulfurée de Heintz). Quelle est l'origine du soufre normal ? Nous ne pouvons répondre à cette question.

M. Raulin, dans un remarquable travail, a étudié avec un soin tout particulier et une méthode irréprochable l'influence de la composition minérale du milieu, sur le développement d'un végétal cellulaire, l'*Aspergillus niger*. Les résultats obtenus pouvant offrir de l'intérêt dans la question, plutôt générale que spéciale à la levure de bière, que nous étudions en ce moment, nous entrerons dans quelques détails sur ce point, d'autant plus que la méthode expérimentale de M. Raulin pourra servir de modèle pour d'autres recherches de ce genre.

On commence par composer un milieu artificiel, exclusivement formé de composés chimiques définis et propre à la nutrition d'un végétal déterminé. Pour étudier l'influence des diverses circonstances physiques ou chimiques sur le développement de ce végétal, on disposera un vase rempli du mélange artificiel, dans les conditions les plus favorables pour la végétation ; on y sèmera des germes de la plante, qu'on laissera croître pendant le temps nécessaire ; cet essai, qu'on reproduit

identiquement dans chaque série d'expériences, est l'essai type, celui auquel on compare tous les autres. Parallèlement à ce premier essai, on en disposera un autre qui ne différera du premier que par la seule circonstance qu'on se propose d'étudier. On pèsera séparément, à l'état sec, les deux récoltes obtenues en même temps, et le rapport numérique des poids de ces deux récoltes mesurera l'influence de la circonstance dont il s'agit.

Le degré de perfection de la méthode dépend de trois conditions générales :

1° Avant tout, il est nécessaire de découvrir un milieu artificiel propre au développement du végétal qu'on étudie. M. Raulin a trouvé sous ce rapport le terrain tout préparé, grâce aux travaux de M. Pasteur ; celui-ci avait observé que les mucidinées (*Penicilium*) peuvent se développer dans un milieu exclusivement formé de substances artificielles définies.

Eau, sucre, sel ammoniacal (bitartrate), cendres de levure. Dans ce milieu, l'une quelconque des parties constituantes ne peut être négligée sans entraves complètes pour le développement.

2° Le poids des récoltes que peut fournir le milieu destiné aux essais types, dans un temps donné, avec un poids constant de substances nutritives, doit être, toutes choses égales d'ailleurs, aussi grand que possible.

3° Les essais types placés dans les mêmes conditions doivent fournir des récoltes dont les rapports numériques s'écartent très peu de l'unité ; celui de ces rapports qui s'en écarte le plus fixe l'erreur relative maxima du procédé.

Au début de ses recherches, M. Raulin, en s'appuyant sur les données de M. Pasteur, faisait usage d'un milieu type composé de :

| | |
|----------------------------------|------------------------|
| Eau | 2,000 |
| Sucre | 70 |
| Nitrate d'ammoniaque | 3 |
| Acide tartrique | 2 |
| Phosphate d'ammoniaque | } petites quantités |
| Carbonate de potasse | |
| — de chaux | |
| — de magnésie | |

Semences d'*aspergillus* et température, 20°.

Avec un semblable milieu la variation dans le poids de la récolte, d'un essai type à l'autre, était assez grande, pour qu'on ne pût saisir l'influence exercée par la suppression de certains éléments, n'entrant qu'en petites proportions dans le mélange. Ainsi, après quarante-huit heures de végétation, les poids de deux récoltes types ont été trouvés égaux à

| | | | |
|-----------|------|-----------|------|
| N° 1. . . | 3,19 | N° 2. . . | 1,77 |
|-----------|------|-----------|------|

Par la suppression de tous les éléments minéraux on arrivait à :

| | | | |
|-----------|------|-----------|------|
| N° 1. . . | 0,10 | N° 2. . . | 0,87 |
|-----------|------|-----------|------|

La suppression du carbonate de potasse seul donna :

| | | | |
|-----------|------|-----------|------|
| N° 1. . . | 2,29 | N° 2. . . | 1,11 |
|-----------|------|-----------|------|

L'action de l'ensemble des sels minéraux ressort avec évidence ; celle du carbonate de potasse ne s'aperçoit pas, car le nombre 2,29 tombe entre 3,19 et 1,77 trouvés pour les essais types.

De plus, dans ces premières expériences, M. Raulin reconnut que le développement des mucédinées était assez rapide dans les premiers jours, puis se ralentissait indéfiniment. C'est en recherchant les causes de cette perturbation, en modifiant par tâtonnements les conditions du milieu, surtout en y ajoutant du soufre, du zinc, du fer, du silicium sous forme de sels, en modifiant les proportions des éléments essentiels, en portant la température à 33°, enfin en employant des vases largement ouverts et peu profonds, qu'il arriva à rencontrer un milieu type donnant, pour le même temps, un rendement 50 fois plus grand que celui des premières expériences. Dans ces conditions le rapport des essais types, au lieu de varier de 1 à 1,8, acquiert une constance remarquable, et ne varie plus que de $\frac{1}{24}$ de sa valeur. Il est évident que l'influence favorable de telle ou telle substance s'accusera alors avec une netteté bien plus grande.

Voici maintenant comment les expériences doivent être conduites, en ce qui concerne l'*Aspergillus niger* :

On réunit dans le vase destiné à l'essai type les substances chimiques suivantes :

| | |
|---------------------------------|-------|
| Eau | 1,500 |
| Sucre candi | 70 |
| Acide tartrique. | 4 |
| Nitrate d'ammoniaque | 4 |
| Phosphate d'ammoniaque. | 0,60 |
| Carbonate de potasse. | 0,60 |
| — de magnésie. | 0,40 |
| Sulfate d'ammoniaque | 0,25 |
| — de zinc | 0,07 |
| — de fer | 0,07 |
| Silicate de potasse | 0,07 |

Le mélange est abandonné à lui-même pendant quelques heures et remué ensuite avec une spatule en porcelaine.

Pour ensemer, il suffit de promener sur toute son étendue l'extrémité d'un pinceau avec lequel on a recueilli des spores sur une végétation d'aspergillus bien pure et pas trop desséchée.

Lorsqu'on ne possède pas encore d'aspergillus, il suffit, pour se procurer ce végétal à l'état pur, d'abandonner à l'air certaines substances naturelles, telles que de l'eau de levure acidulée, du pain humide, des tranches de citron. Les spores d'aspergillus qui se trouvent au nombre des germes de l'atmosphère peuvent tomber sur ces matières et s'y développer pêle-mêle avec d'autres organismes. Lorsqu'on voit apparaître l'aspergillus, qui se distingue tout d'abord par ses fructifications noires, on le sème à nouveau sur un liquide artificiel, et l'on finit par l'obtenir exempt de mélange. L'essai type étant ainsi préparé, on le met à l'étuve à 33°, en renouvelant constamment l'air humide. Les spores se développent et au bout de 24 heures les filaments du mycélium forment à la surface du liquide une membrane continue blanchâtre. Au bout de 48 heures, cette membrane est devenue très épaisse et passe au brun foncé ; après trois jours, elle est devenue tout à fait noire à sa surface supérieure ; ce qui est dû à l'apparition des spores. On récolte alors, en l'enlevant avec les doigts, la membrane consistante que l'on exprime, pour l'étendre ensuite sur une assiette et la sécher. On sème de nouveau des spores sur le

liquide et, après trois jours, on obtient une seconde récolte plus faible que la première.

L'essai type et l'essai d'expérience, qui ne diffère du premier que par le seul élément dont on veut éprouver l'influence, sont placés ensemble à l'étuve. L'influence est mesurée par le rapport des poids des deux premières récoltes ou mieux des deux sommes de la première et de la seconde récolte obtenues en six jours.

Exemple. On a mis à l'étuve les essais suivants :

N° 1 milieu type.

N° 2 milieu type, moins la potasse.

| | N° 1. | N° 2. |
|---|-------------|-------------|
| Première récolte (après 3 jours) | 14,4 | 0,80 |
| Deuxième récolte (après 3 autres jours) | 10,0 | 0,12 |
| Récoltes totales. | <u>24,4</u> | <u>0,92</u> |

Rapport des poids des deux premières récoltes $\frac{0,8}{14,4} = \frac{1}{18}$,
 rapport des poids des récoltes totales $\frac{0,92}{24,4} = \frac{1}{26}$, nombres qui
 mettent en évidence, de la manière la plus complète, l'utilité
 de la potasse.

Les résultats obtenus par cette méthode remarquable sont les suivants :

1° Tous les éléments du milieu artificiel type concourent simultanément au développement du végétal ; car si l'on supprime tour à tour chacun d'eux, le poids de la récolte subit une diminution, en général considérable, qu'on ne saurait attribuer aux erreurs d'expériences ;

2° Les oxydes minéraux du milieu artificiel ne peuvent se suppléer les uns les autres ;

3° L'acide nitrique peut remplacer l'ammoniaque comme aliment azoté.

Voici du reste les rapports trouvés entre l'essai type et l'essai d'expérience.

Nous n'indiquons dans le tableau suivant que l'effet résultant de la suppression de tel ou tel agent chimique, en mettant en regard le rapport correspondant.

| | |
|---|------------|
| Suppression de l'oxygène | très grand |
| — de l'eau | infini |
| — du sucre | 65 |
| — de l'acide tartrique | infini |
| — de l'ammoniaque ou des nitrates | 153 |
| — de l'acide phosphorique | 182 |
| — de la magnésie | 91 |
| — de la potasse | 23 |
| — de l'acide sulfurique | 24 |
| — de l'oxyde de zinc | 10 |
| — de l'oxyde de fer | 2,7 |
| — de la silice | 1,4 |

Les éléments nutritifs du milieu artificiel sont les uns indispensables, ce sont ceux qui s'y trouvent en proportions notables, les autres utiles mais non indispensables en apparence; ceux-ci n'entrent dans la composition du milieu type qu'en très faibles proportions.

Il est probable que quelques-uns d'entre eux, tels que le soufre, existent accidentellement en très petites quantités dans les milieux artificiels où on ne les a pas ajoutés et peuvent ainsi provoquer un développement restreint. Ainsi, Mayer prétend qu'il lui a été impossible, par des cristallisations répétées, et même en précipitant la liqueur par le chlorure de baryum, d'obtenir du sucre exempt de soufre; c'est à la présence de ce soufre qu'il attribue l'introduction de cet élément dans la levure de nouvelle formation.

Il est évident que les résultats de M. Raulin et surtout sa méthode pourront être appliqués à la recherche des meilleures conditions pour le développement maxima d'autres végétations ou organismes simples. M. Pasteur qui, dans son laboratoire de l'École normale, est arrivé à de nouveaux procédés pour la production de la levure de bière pure, sur une grande échelle, a dû faire un travail préparatoire analogue à celui de M. Raulin.

Les recherches de ce dernier savant établissent encore un fait important : c'est qu'un milieu artificiel, convenablement préparé, peut être aussi favorable au développement de la végétation et même plus favorable que les milieux naturels les plus fertiles. On peut tirer de là des conclusions d'une haute im-

portance, en ce qui concerne la culture des grands végétaux, et supposer que les engrais chimiques convenablement choisis pourront être substitués, avec grand avantage pour l'agriculture, aux engrais naturels. C'est ce qu'ont du reste déjà tenté plusieurs savants qui s'occupent d'agriculture; le tout est de bien déterminer la composition utile de ces engrais. C'est ce qu'a fait depuis longtemps M. G. Ville par une méthode expérimentale analogue à celle de M. Raulin.

Assimilation des principes hydrocarbonés. — L'influence prépondérante, le rôle *nécessaire* du sucre ou des corps analogues dans la végétation de l'aspergillus et des mucédinées ont été démontrés par Pasteur et Raulin. Cette influence n'est pas moins grande pour le développement de la levure de bière. Sans sucre, sans matière hydro-carbonée, la levure ne peut ni se multiplier ni se nourrir. Ici s'établit à première vue une différence capitale entre les organismes simples (levures, moisissures) et les grands végétaux, qui puisent les éléments organiques de leur constitution dans les composés les plus simples du carbone (acide carbonique). Cependant cette distinction perd de sa valeur à un examen plus approfondi.

Si les grands végétaux se nourrissent aux dépens de l'acide carbonique, c'est parce que dans leurs feuilles, leurs parties vertes, se trouvent des organes propres à utiliser la force vive des rayons lumineux envoyés par le soleil ou toute autre source de lumière. Le carbone devient libre momentanément et l'oxygène se dégage. Il paraît très probable qu'au moment où le carbone se sépare de l'oxygène dans un état spécial, inconnu, bien différent de celui du carbone noir amorphe ou du diamant et du graphite (formes sous lesquelles nous connaissons cet élément), il est très probable qu'il s'unit aux éléments de l'eau pour constituer un hydrate de carbone (amidon, sucre?) ou tout au moins un corps qui pourra se convertir en ces principes par des transformations ultérieures.

S'il nous était donné de réaliser la décomposition de l'acide carbonique sous l'influence de la lumière, en dehors de l'économie animale, je ne doute point qu'au lieu de carbone libre on trouverait (l'expérience se faisant en présence de l'eau) un composé hydro-carboné. J'ai pu du reste donner à cette

vue théorique un commencement de confirmation expérimentale.

En traitant à froid de la fonte blanche¹ grossièrement pulvérisée par une solution de sulfate de cuivre, le fer de la fonte se dissout entièrement, sans dégagement de gaz carboné ou autre; on peut ensuite, après lavages, éliminer le cuivre déposé en le mettant en contact avec une solution de perchlorure de fer. Le cuivre se dissout rapidement; il reste une masse pulvérulente noire qui, après dessiccation à 80° et dans le vide ressemble à du charbon. Mais ce charbon contient de l'eau combinée qui se dégage brusquement, lorsqu'on chauffe vers 250°; il se dissout facilement en s'oxydant dans l'acide azotique, en donnant des corps jaunes, jaune orangé, contenant de l'azote. Ce charbon fournit à l'analyse une quantité d'eau qui est dans un rapport assez constant avec le carbone.

Il représente donc un véritable hydrate de carbone défini.

Il est évident que l'état du carbone dans la fonte doit être tout autre que celui du carbone de l'acide carbonique et que les hydrates qui prennent naissance par la séparation de ces carbones pourront différer beaucoup. Néanmoins, l'expérience que je viens de relater donne un appui solide à l'idée que se font les physiologistes des métamorphoses chimiques successives des composés carbonés dans les végétaux.

L'hydrate de carbone, une fois formé dans la feuille, se transporte dans les diverses parties du végétal, pour y servir à la nutrition, au développement des cellules dépourvues de chlorophylle et dont les fonctions biologiques se rapprochent de celles des organismes cellulaires. Ce qui se passe pendant la germination des graines, jusqu'au moment où la plante nouvelle, pourvue de feuilles aériennes devenues vertes sous l'influence de la lumière et de l'air, commence à utiliser l'acide carbonique, ne laisse aucun doute sur la valeur scientifique de cette interprétation.

Ne voyons-nous pas là des cellules de nouvelle formation se développer successivement, se superposer pour constituer les

(1) Qui renferme, on le sait, un carbure de fer.

radicules, la tige, les cotylédons et les feuilles? N'est-ce pas dans la graine, dans les principes organiques que celle-ci renferme accumulés, et parmi lesquels dominant toujours les matières hydrocarbonées, que le germe puise les matériaux nécessaires à son développement.

Il faut donc le reconnaître, les phénomènes de nutrition des grands végétaux ne semblent pas différer beaucoup, lorsqu'on les examine en détail, de ceux des végétaux simples.

Les premiers sont pourvus d'organes spéciaux qui leur permettent d'élaborer eux-mêmes les matières hydrocarbonées dont elles ont besoin pour le développement du reste de leur organisme. Les végétaux inférieurs cellulaires et même en général tous ceux qui sont dépourvus de cellules à chlorophylle, sont forcément des êtres parasites qui devront emprunter leur nourriture hydrocarbonée, directement ou indirectement, aux végétaux munis de ces cellules.

En dehors de ces considérations générales, fondées sur les phénomènes de nutrition observés chez les végétaux, les expériences de M. Pasteur sur la fermentation alcoolique établissent avec certitude que dans toute fermentation alcoolique une partie du sucre se fixe sur la levure à l'état de cellulose ou d'un corps analogue. En effet, puisque des quantités infiniment petites de levure, ensemencées dans un milieu uniquement formé de sucre candi pur, de tartrate d'ammoniaque ou de nitrate d'ammoniaque (Mayer), et de cendres de levure, se développent et donnent naissance à des proportions très pondérables de levure et très notablement supérieures aux quantités initiales, il ne peut être douteux que les principes hydrocarbonés de cette nouvelle végétation (cellulose, etc.) ne soient constitués par les éléments du sucre.

Voici d'autres expériences qui conduisent au même résultat.

M. Pasteur met en fermentation :

100 grammes de sucre,

750 centimètres cubes d'eau environ,

2,626 de levure (poids de matière sèche).

Après la fermentation qui a duré vingt jours, il recueille 2^{re},965 de levure (poids sec).

D'un autre côté, il fait bouillir pendant plusieurs heures

(six à huit), avec de l'acide sulfurique étendu de 20 fois son poids d'eau, deux poids déterminés de la levure fermentée et de la même levure avant la fermentation.

(Levure fermentée, 1^{er}, 707 — levure non fermentée, 1^{er}, 730 — séchées à 100°.)

Les résidus insolubles sont pesés sur des filtres tarés, lavés, séchés à 100° et pesés. Les liquides filtrés sont neutralisés par le carbonate de baryte; on y dose le sucre formé par l'action de l'acide sulfurique sur la cellulose, soit au moyen de la liqueur de Fehling, soit par fermentation.

On trouve ainsi, en calculant les résultats obtenus pour les poids, 2^{er}, 626 et 2^{er}, 963 de levure employée et de levure trouvée :

1° Que les 2^{er}, 626 de levure brute employée donnent, après ébullition avec l'acide sulfurique dilué, un résidu insoluble azoté égal à 0,391 (14,8 p. 100) et 0,532 de sucre fermentescible ;

2° Que les 2^{er}, 963 de levure trouvée après fermentation laissent un résidu azoté de 0^{er}, 634 (soit 21,4 p. 100) et donnent 0^{er}, 918 de sucre fermentescible.

Il s'est donc fixé dans la fermentation de 100 grammes de sucre avec 2^{er}, 626 de levure, 0^{er}, 4 de matière hydrocarbonée, transformable, en sucre fermentescible, par l'acide sulfurique étendu; il y a de plus une augmentation sensible des matières azotées insolubles dans l'acide sulfurique étendu.

D'un autre côté, et pour vérifier, par une seconde expérience, la valeur de ces conclusions, M. Pasteur a suivi le procédé de séparation de la cellulose d'avec les matières albuminoïdes, indiqué par Payen et Schlossberger. Ce procédé consiste, on le sait, à traiter la levure par des solutions étendues de potasse.

Dans trois essais faits avec soin, M. Pasteur trouve comme résidu insoluble dans la potasse, formé de cellulose transformable en sucre sous l'influence de l'ébullition avec l'acide sulfurique étendu, 17, 77-19, 29-19, 21 p. 100 de levure sèche.

Or les 0^{er}, 532 de sucre, fournis sans l'intermédiaire de la potasse, par 2^{er}, 626 de la même levure, correspondent à 20 p. 100 de levure. Il est donc prouvé que l'ébullition à l'acide sulfurique avait bien enlevé toute la cellulose.

Remarquons encore que les 2^{es},965 de levure trouvée après fermentation, donnant 0^{es},918 de sucre, devaient contenir 31,9 p. 100 de cellulose, nombre plus élevé de 11 p. 100 qu'il n'était avant la fermentation. Cette augmentation considérable du poids de la cellulose dans la levure, pendant qu'elle exerce son action sur le sucre, est un point digne de remarque, parce qu'elle prouve qu'en accomplissant l'une de ses principales fonctions, la levure subit des évolutions très marquées dans sa composition.

L'expérience suivante de M. Pasteur prouve en outre que, pendant la fermentation, la levure forme elle-même sa graisse à l'aide des éléments du sucre.

Rappelons d'abord que les analyses de Payen accusent 2 p. 100 de matières grasses dans la levure, que la lie de vin en contient également. On avait cru que cette graisse était fournie par le milieu fermentescible. Pasteur mêle à de l'eau sucrée (préparée avec du sucre candi pur), de l'extrait d'eau de levure limpide, traité à plusieurs reprises par l'alcool et l'éther. Il ajoute, comme semence, une quantité impondérable de globules frais. Ceux-ci se multiplient, font fermenter le sucre. On arrive ainsi à préparer quelques grammes de levure au moyen de substances complètement privées de matières grasses. Or, cette levure de nouvelle formation n'en contient pas moins de 1 à 2 p. 100 de matières grasses, saponifiables, fournissant des acides gras cristallisés. Le même fait s'observe avec la levure qui a pris naissance dans un milieu composé d'eau, de sucre, d'ammoniaque et de phosphate. C'est donc bien aux éléments du sucre que la matière grasse est empruntée.

Ces faits confirment les vues de M. Dumas sur la formation possible des matières grasses à l'aide des sucres.

Rôle de l'eau. — L'eau, cela va sans dire, est pour la levure et les organismes élémentaires un principe tout aussi indispensable que pour les êtres vivants d'un ordre plus élevé.

D'après Wiesner, la cellule de levure manifeste son activité, se développe et se nourrit dans les limites d'hydratation comprises entre 40 et 80 p. 100 d'eau. La levure, desséchée avec précaution, peut reprendre son pouvoir lorsqu'on l'humecte à nouveau. On comprend, d'après cela, pourquoi une solution de

sucre dont la concentration dépasse 35 p. 100 n'est plus altérée par le ferment; une semblable solution enlève aux cellules, par osmose, une quantité d'eau suffisante pour abaisser leur hydratation au-dessous de 40 p. 100.

Les recherches de Wiesner ont, en outre, montré qu'il y avait deux états de concentration pour lesquels les phénomènes de fermentation et de nutrition de la levure atteignent des valeurs maximas. L'un de ces maximas correspondrait à une solution de 2 à 4 p. 100 de sucre, l'autre à une solution de 20 à 25 p. 100. Ces faits méritent confirmation; dans tous les cas, il n'y a pour le moment aucune conclusion à en tirer.

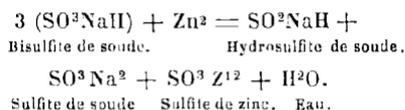
Respiration de la levure. — Les cellules du saccharomyces cerevisiæ introduites dans un milieu liquide, contenant de l'oxygène dissous (eau pure, solution sucrée avec ou sans éléments nutritifs minéraux et azotés) absorbent l'oxygène avec une grande rapidité et développent une quantité correspondante d'acide carbonique. Ce fait, qui constitue une véritable respiration comparable à la respiration animale, a été mis en lumière par M. Pasteur. Un excellent moyen pour obtenir de l'eau tout à fait désoxygénée, bien plus efficacement que par l'ébullition, consiste à délayer dans cette eau 1 à 2 grammes par litre de levure fraîche en pâte, et d'abandonner le liquide à lui-même pendant une heure à deux heures, à une température de 25 à 30°.

J'ai déterminé, avec le concours de M. Quinquaud, la dose d'oxygène que l'unité de poids de levure absorbe, dans l'unité de temps, lorsque cet organisme est placé dans de l'eau aérée, sans mélange de matériaux nutritifs. Ces mesures ont été prises au moyen d'un procédé oxymétrique que j'ai institué en collaboration avec un de mes élèves, M. Ch. Risler. Comme ce procédé me semble de nature à pouvoir rendre des services dans les recherches de cet ordre et pour l'étude des phénomènes biologiques, je crois devoir en donner la description ici, sous forme de note, afin de ne pas introduire un élément trop étranger dans l'examen des faits qui nous occupent.

Méthode de dosage volumétrique de l'oxygène dissous. —

(1) La poudre de zinc, agitée avec l'eau aérée, donne les mêmes résultats.

Le procédé de dosage de l'oxygène dissous dans l'eau, au moyen d'une liqueur titrée, que j'ai proposé avec M. Gérardin (*Compt. rendus*, t. LXXV, p. 879) et que j'ai perfectionné depuis avec le concours de M. Ch. Risler, repose essentiellement sur les propriétés réductrices énergiques de l'hydrosulfite de soude. Ce sel¹ s'obtient avec la plus grande facilité par l'action d'une solution de bisulfite de soude sur le zinc en lames, en copeaux ou en poudre. Sa formation est d'autant plus rapide que le zinc employé est plus divisé et que les contacts entre le métal et la solution de bisulfite sont plus multipliés. Ainsi, avec du zinc en poudre, employé en quantité suffisante, et une solution très concentrée de bisulfite (marquant 35° Baumé, et exigeant de 5 à 7 p. 100 de son poids de zinc en poudre), il suffit d'une agitation de trois à cinq minutes pour achever la réaction. Celle-ci a lieu, avec élévation de température, d'après l'équation :



Si le bisulfite mis en expérience est concentré, il se dépose, peu de temps après le refroidissement du liquide, des cristaux de sulfite double de zinc et de sodium, tandis que l'hydrosulfite formé reste en solution, encore mélangé à des sulfites. La solution d'hydrosulfite impure (mélange d'hydrosulfite et de sulfite de soude et de zinc) peut être employée telle quelle dans le dosage, mais elle ne se conserve pas très longtemps, même à l'abri de l'air et très diluée.

En ajoutant à ce liquide une quantité convenable de lait de chaux, on précipite l'oxyde de zinc, et, par filtration, on obtient une solution très légèrement alcaline, douée, comme la première, de propriétés réductrices prononcées, possédant la propriété de se conserver beaucoup plus longtemps, à l'abri de l'air, surtout dans un grand état de dilution, forme sous laquelle elle sert toujours dans les dosages volumétriques de l'oxygène.

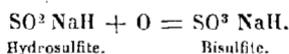
Sans développer au long les propriétés de l'hydrosulfite de

(1) P. Schutzenberger, sur un nouvel acide du soufre. *Ann. de chim. et de phys.*, t. XX, p. 351 (4).

soude (voir le mémoire cité aux *Ann. de chim. et de phys.*) je dois insister sur celles qui sont particulièrement utilisées dans le procédé.

1° L'hydrosulfite de soude non saturé par la chaux absorbe l'oxygène gazeux ou dissous avec une grande rapidité; son action est, sous ce rapport, comparable à celle du pyrogallate de soude.

En fixant l'oxygène, l'hydrosulfite devient acide et se convertit en bisulfite de sodium.



Saturé par la chaux, il agit encore de même sur l'oxygène gazeux, mais plus lentement; quant à l'oxygène dissous, il l'absorbe instantanément et l'enlève au liquide oxygéné auquel on le mélange.

2° L'hydrosulfite versé dans une solution de sulfate de cuivre ammoniacal ramène l'oxyde cuivrique à l'état d'oxyde cuivreux, en décolorant la liqueur, puis réduit l'oxyde cuivreux à son tour, en précipitant du cuivre métallique; la réduction se fait en deux temps et l'on est maître, en employant plus ou moins d'hydrosulfite, de s'arrêter au premier terme annoncé par la décoloration du liquide.

3° L'hydrosulfite acide ou neutralisé décolore instantanément, par réduction, les solutions de bleu Coupier (bleu d'aniline) et de sulfindigotate de soude (carmin d'indigo). Ces solutions décolorées reprennent leur teinte bleue à l'air.

4° Si à de l'eau contenant de l'oxygène dissous et colorée en bleu par du bleu Coupier ou du carmin d'indigo, on ajoute peu à peu une solution étendue d'hydrosulfite saturé ou non par la chaux, le réducteur porte d'abord son action sur l'oxygène dissous, et n'agit comme décolorant que lorsqu'il a absorbé cet oxygène.

Ainsi en prenant deux volumes égaux d'eau teintée en bleu par l'une ou l'autre de ces matières colorantes, en saturant l'un d'oxygène par agitation à l'air, en privant l'autre d'oxygène par une ébullition assez prolongée, on constatera que la dernière se décolore après l'addition des premières gouttes d'hydro-

sulfite, tandis que la seconde exigera, pour atteindre ce résultat, une quantité de réducteur beaucoup plus grande et proportionnelle à la dose d'oxygène dissous.

Ici se présente cependant une particularité très remarquable et sur laquelle nous devons insister, parce que son ignorance pourrait entraîner des erreurs graves dans l'analyse. Soit de l'eau aérée et une solution convenablement étendue d'hydrosulfite saturé ou non par le lait de chaux ; nous pouvons apprécier d'avance la valeur oxymétrique de l'hydrosulfite, c'est-à-dire le volume d'oxygène que peut fixer l'unité de volume de la solution ; il suffit, à cet effet, de préparer une solution de *sulfate de cuivre ammoniacal*, contenant 4^{es},46 de sulfate de cuivre pur et cristallisé, par litre. Une semblable liqueur, étant ramenée exactement à l'état incolore, sans précipitation de cuivre métallique, c'est-à-dire étant ramenée à l'état d'une solution ammoniacale d'oxydure de cuivre, aura cédé au réducteur la moitié de l'oxygène correspondant à l'oxyde cuivrique qu'elle renferme, soit 1 centimètre cube d'oxygène pour chaque 10 centimètres cubes de la solution.

Il suffit donc de déterminer avec précision le volume d'hydrosulfite nécessaire pour décolorer exactement, sans précipitation de cuivre métallique, 10 centimètres cubes de la liqueur cuivrique ; ce volume correspondra à 1 centimètre cube d'oxygène.

Ceci posé, colorons avec un peu de carmin d'indigo ou de bleu Coupier (tout juste ce qui est nécessaire pour rendre la teinte sensible) un volume déterminé (soit par exemple 1/2 ou 1 litre) de notre eau aérée et versons l'hydrosulfite avec une burette ; il arrivera un moment où la dernière goutte produira la décoloration du liquide, qui passera brusquement du bleu au jaune. Dans cet état, la solution jaune clair est un réactif *très sensible* pour l'oxygène libre ; il suffit d'une bulle d'air, de la grosseur d'une tête d'épingle, pour y produire des stries bleues très visibles. On est donc fondé à admettre que l'oxygène dissous a été complètement utilisé par le réducteur. Cependant il n'en est rien. Si nous calculons, d'après le titre de l'hydrosulfite fixé par la solution cuivrique et le volume du réducteur employé pour décolorer le liquide bleu, la dose d'oxygène dissous dans un litre d'eau, nous trouvons, à peu de chose près, exactement

la moitié de l'oxygène réellement contenu dans cette eau, et que la pompe à mercure ou l'ébullition peuvent en dégager. Ce résultat remarquable a été établi par un grand nombre d'expériences.

Qu'est devenue l'autre moitié ?

Nous avons pensé d'abord, M. Risler et moi, que les produits de l'oxydation de l'hydrosulfite de soude n'étaient pas les mêmes, lorsque l'oxydation avait lieu sous l'influence de l'oxygène libre, ou sous celle de l'oxyde cuivrique ammoniacal; cependant, après avoir constaté que dans les deux cas il se forme du sulfite et rien que du sulfite, nous avons dû abandonner cette interprétation; il ne nous restait plus qu'à supposer que l'hydrosulfite étendu, en agissant à froid sur l'oxygène dissous, partage celui-ci en deux parties égales, dont l'une se fixe sur le réducteur, et dont l'autre s'unit à l'eau pour former de l'eau oxygénée ou un composé analogue. Cette seconde moitié d'oxygène, pour ainsi dire dissimulée, n'agit plus ni sur l'hydrosulfite ni sur l'indigo (carmin décoloré). Quand je dis qu'elle n'agit plus, j'entends dans les conditions pour ainsi dire instantanées de l'expérience et à une basse température.

En effet, si l'on conserve le liquide décoloré (pourvu qu'on n'ait pas employé trop peu d'indigo (carmin), pendant quelque temps, à l'abri de l'air, surtout si l'on porte sa température vers 50 ou 60°, on le voit rebleuir instantanément dans toute sa masse à la fois. L'expérience peut être faite dans un vase rempli d'une atmosphère d'hydrogène pur, auquel est fixée l'extrémité d'une burette de Mohr contenant l'hydrosulfite. Si l'on vient à ajouter une nouvelle dose de réducteur, jusqu'à une deuxième décoloration, le même effet se reproduira, et cela jusqu'à ce que l'on ait introduit un volume d'hydrosulfite à peu près égal à celui employé pour atteindre le premier terme de décoloration.

Ces expériences sont délicates. Pour les réussir il faut se mettre complètement à l'abri de l'oxygène atmosphérique, employer de préférence l'hydrosulfite neutralisé à la chaux, et une quantité un peu notable d'indigo. (Voir, pour plus de détails à ce sujet, le *Bulletin de la Soc. chim. de Paris*, t. XX, p. 143, 1873.)

Elles prouvent que dans la première action, pour ainsi dire instantanée de l'hydrosulfite acide, sur l'eau aérée et colorée à l'indigo, on n'enlève que la moitié de l'oxygène. L'autre moitié ne devient active sur l'indigo réduit et, *par son intermédiaire*, sur l'hydrosulfite en excès, que beaucoup plus lentement. Cette activité ne se révèle même pas du tout si la solution est acide, même légèrement. Dans ce cas, l'oxygène dissimulé peut rester presque indéfiniment en présence d'un grand excès d'hydrosulfite, ou de la solution réduite de carmin d'indigo, sans s'y fixer.

En employant de l'eau colorée en bleu, à laquelle on ajoute un peu d'eau oxygénée (H^2O^2), on produit avec l'hydrosulfite des alternatives de décolorations, suivies de recolorations spontanées dans toute la masse, qui rappellent, à s'y méprendre, ce qui se passe dans les expériences décrites ci-dessus. Cette similitude jointe au défaut d'autre explication plausible, me fait croire que l'oxygène dissimulé se trouve bien réellement dans la liqueur sous forme d'eau oxygénée.

Si l'on opère dans une liqueur plutôt acide que neutre, ou encore dans une liqueur neutre et en n'employant que de l'hydrosulfite non saturé à la chaux, qui devient acide en s'oxydant; enfin, en tenant compte dans le calcul de l'observation précédente, c'est-à-dire en multipliant l'oxygène trouvé par 2, on arrive à des résultats très approchés et satisfaisants.

Je décrirai d'abord un procédé sommaire, susceptible d'être mis en pratique partout, au bord d'une rivière, à la campagne, mais qui ne peut fournir que des indications approximatives en donnant l'oxygène à $1/4$ de centimètre cube près par litre.

On prépare de l'hydrosulfite acide, instantanément, en agitant avec de la poudre de zinc une solution étendue de bisulfite de soude, préparée avec du carbonate de soude sursaturé par un courant d'acide sulfureux (le bisulfite à 35° Baumé est un produit commercial et peut être employé). Ce bisulfite à 35° Baumé est préalablement étendu de quatre fois son poids d'eau et, pour 100 grammes de solution étendue, on emploie 2 grammes de gris de zinc (poudre de zinc). Le mélange et l'agitation se font dans un flacon à peu près rempli par le liquide. Après cinq minutes, on filtre la solution et on l'étend convena-

blement d'eau, pour que dans un essai préalable 1 litre d'eau agitée avec de l'air (saturée d'oxygène sous la pression de $\frac{1}{5}$ d'atmosphère, à la température ordinaire) et teintée en bleu par quelques gouttes d'une solution de bleu Coupier ou de carmin d'indigo, soit décolorée par environ 25 à 35 c. c. de la solution d'hydrosulfite.

L'analyse n'exige qu'un vase de 1 litre et demi, à large ouverture (un bocal), un agitateur qui permet de mélanger les diverses couches du liquide sans trop remuer la surface, une burette de Mohr munie d'un tube effilé à une extrémité, fixé au caoutchouc porte-pince et pouvant être enfoncé à mi-hauteur dans l'eau; enfin, un flacon d'un peu plus de deux litres portant un trait qui délimite un litre. On introduit un litre de l'eau à essayer dans le bocal, on teinte avec du bleu Coupier ou de l'indigo; puis la burette étant pleine d'hydrosulfite et sa douille, amorcée préalablement, plongeant jusqu'à mi-hauteur dans l'eau du bocal, on laisse couler lentement le réducteur, en remuant avec l'agitateur de bas en haut et de haut en bas, sans trop renouveler la surface; on arrête au moment où la décoloration a lieu et on lit le volume employé.

Immédiatement après on procède au titrage de l'hydrosulfite, exactement dans les mêmes conditions, en employant un litre de l'eau qui a servi à la première expérience, mais après l'avoir préalablement agitée pendant quelques minutes avec de l'air, dans le grand flacon, et après avoir pris sa température. Dans ces conditions, que l'eau initiale soit au-dessus ou au-dessous du terme de saturation pour l'oxygène, on arrive toujours rapidement à avoir de l'eau saturée d'oxygène à la pression de $\frac{1}{5}$ d'atmosphère (pression de l'oxygène dans l'air) et à la température lue. Les tables de solubilité, notamment celles de Bunsen (*Méthodes gazométriques*, traduction française de T. Schneider) donnent la richesse en oxygène. Ainsi, dans deux expériences faites dans des conditions identiques, on a les volumes de réducteur exigés par de l'eau dont la teneur en oxygène est inconnue et par de l'eau dont la dose d'oxygène est connue. Une simple proportion fixerait l' x du problème. Ce procédé pour titrer l'hydrosulfite est préférable,

vu sa simplicité et son exactitude, à l'emploi d'une solution ammoniacale de cuivre que nous avons proposé, M. Gérardin et moi; il est dû à M. Raulin, directeur adjoint du laboratoire de M. Pasteur. Comme on opère au contact de l'air, il est nécessaire de faire les titrages aussi vite que possible et

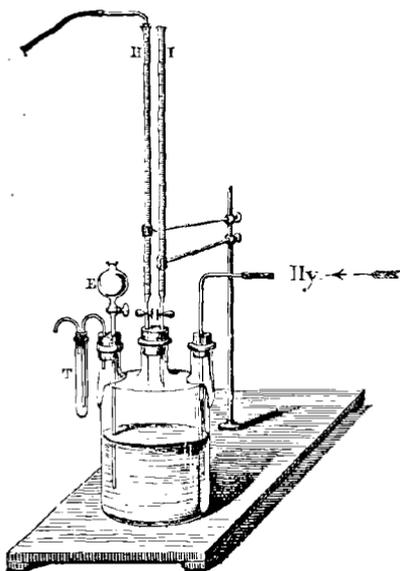


Fig. 19. — Appareil pour le titrage de l'oxygène dissous dans l'eau.

d'opérer sur un grand volume d'eau (un litre), afin d'annuler autant que possible l'influence de l'oxygène de l'air. Du reste, le mode de titrage indiqué ci-dessus, a pour effet de compenser à peu près complètement cette cause d'erreur; les deux opérations se faisant dans les mêmes conditions, l'erreur ne pourrait provenir que d'une faible différence entre les conditions des deux expériences (durée, agitation plus ou moins vive).

Je suis arrivé avec le concours de M. Risler à appliquer un mode de titrage analogue à des quantités d'eau ou de liquides oxy-

génés beaucoup plus petites et, en modifiant la marche de l'opération, à apprécier par le réducteur, non la moitié, mais la totalité de l'oxygène dissous, ce qui est bien préférable et plus certain. Il suffit pour atteindre ce double but : 1° de faire le dosage dans un liquide complètement préservé du contact de l'oxygène de l'air, dans une atmosphère d'hydrogène pur; 2° d'introduire l'eau aérée à doser (un volume connu, 40 à 50 ou 100 c. c.) dans un milieu tiède (40-50°), neutre ou très légèrement alcalin, jamais acide, formé par une solution de carmin d'indigo décolorée à limite par l'hydrosulfite préalablement neutralisé ou rendu légèrement alcalin par le lait de chaux. Ce milieu jaune bleuit sous l'influence de l'oxygène dissous; il se reforme

une quantité d'indigo bleu proportionnelle à la dose d'oxygène dissous. Si les conditions précédentes de température et de neutralité ont été observées, tout l'oxygène dissous est utilisé à oxygéner l'indigo réduit, et il ne reste plus qu'à apprécier au moyen de l'hydrosulfite, le volume de ce réducteur nécessaire pour décolorer le liquide bleu. On répète immédiatement après la même expérience, avec le même volume d'eau agitée à une température connue, et le calcul donnera comme précédemment le volume d'oxygène cherché. Si le liquide est acide, ou le devient dans le titrage, on retombe immédiatement dans les conditions de formation d'eau oxygénée, et les résultats sont fautive et toujours trop bas, se rapprochant plus ou moins de la moitié de l'oxygène total.

Si donc on opère avec des liquides acides, il convient d'ajouter préalablement au liquide jaune indigotique assez d'une solution étendue d'ammoniaque pour corriger cet inconvénient. Les principes de l'expérience étant connus, je vais entrer dans quelques détails sur les appareils et la préparation des réactifs.

1° *Hydrosulfite de soude.* — On prépare de l'hydrosulfite acide, comme il est dit plus haut. Celui-ci est neutralisé par un lait de chaux. Pour 100 grammes de bisulfite concentré à 35° Baumé, employés à l'obtention de l'hydrosulfite acide, on se servira, à cet effet, de 35 grammes d'un lait de chaux préparé avec 200 grammes de chaux vive, préalablement éteinte, par litre d'eau. La saturation se fait avec l'hydrosulfite acide étendu, comme je l'ai dit, de quatre fois son poids d'eau ; mais la dose de lait de chaux se calcule d'après le poids de bisulfite concentré dont on fait usage. On agite, on laisse déposer, on décante ou on filtre, et on conserve le liquide dans des flacons pleins et bien bouchés.

Pour l'usage, il suffit d'étendre ce liquide avec de l'eau distillée, assez pour que 50 c. c. d'eau saturée d'oxygène exigent de 4 à 5 c. c. de réducteur.

La solution ainsi préparée peut conserver très longtemps son titre, si l'on prend les précautions suivantes. Elle doit être placée dans un flacon d'un litre environ à peu près rempli au début, fermé par un bon bouchon en caoutchouc percé

de deux trous; dans l'un s'engage un tube courbé à angle droit, dont l'une des extrémités plonge jusqu'au fond du flacon, et dont l'autre porte un caoutchouc muni d'une pince de Mohr; dans l'extrémité libre du caoutchouc est fixé un bout de tube en verre; dans le second trou du bouchon est fixé un tube courbé à angle droit, mais qui ne fait saillie intérieurement que de 1 à 2 centimètres. Ce tube est mis en communication permanente, au moyen d'un assez long tube en caoutchouc, avec un bec de gaz maintenu ouvert. Il convient d'interposer entre le bec de gaz et le flacon, une colonne en verre, semblable à celles employées par les chimistes pour la dessiccation des gaz; on remplit cette colonne de ponce imbibée d'une solution concentrée de pyrogallate de soude. De cette façon, on enlève l'oxygène que renferme toujours le gaz de l'éclairage (1-2 p. 100). Les burettes à hydrosulfite se remplissent par aspiration de bas en haut. A cet effet on met leur caoutchouc porte-pince, qui pour remplir une autre indication doit être assez long, en communication avec le tube plongeur du flacon à hydrosulfite, et l'on aspire avec la bouche, au moyen d'un tube en caoutchouc fixé par un bouchon et un tube courbé en verre à la partie supérieure de la burette de Mohr. On évite ainsi l'agitation du liquide au contact de l'air. Avec ces précautions le titre du réactif ne change pas sensiblement d'un jour à l'autre; il est cependant prudent de le mesurer à nouveau au début de chaque série d'expériences, ce qui est extrêmement facile.

Indigo. -- On prépare d'avance une dizaine de litres de solution de carmin d'indigo, en dissolvant dans ce volume à peu près 200 grammes de carmin d'indigo en pâte (sulfindigotate de soude). Le liquide doit être conservé dans des flacons en verre bleu ou noir, à l'abri de la lumière.

Le titrage a lieu dans un flacon à trois tubulures de 1 litre à 1 litre et demi de capacité (fig. 19). L'une des tubulures latérales recoit, au moyen d'un bouchon en caoutchouc, le tube H₂ courbé à angle droit, adducteur de l'hydrogène. Il est bon que ce tube puisse glisser sans trop de frottement dans son bouchon, afin qu'on ait la faculté de l'élever ou de l'abaisser à volonté, sans déterminer des rentrées d'air.

La seconde tubulure latérale porte un bouchon en caout-

chouc percé de deux trous. Dans l'un s'engage la douille d'un petit entonnoir à robinet en verre E (entonnoir à brome); cette douille doit être assez longue pour plonger au fond du flacon. Dans l'autre s'engage le tube abducteur de l'hydrogène; ce tube est mis en communication avec un barboteur Cloez qui contient de l'eau. L'hydrogène en excès, après avoir barboté dans cette eau, s'échappe dans l'atmosphère.

La tubulure médiane du flacon porte à demeure un bouchon en liège ou en caoutchouc, mastiqué hermétiquement et percé de deux orifices dans lesquels sont également fixées à demeure les extrémités effilées de deux burettes de Mohr H, I. Celles-ci sont maintenues au-dessus du flacon par un support spécial, et l'une à côté de l'autre. Les caoutchoucs porte-pincettes de ces deux burettes doivent être assez longs pour permettre la mobilité du flacon; ils sont fixés aux burettes, et doivent, au contraire, pouvoir être détachés à volonté des extrémités effilées en verre, qui traversent le bouchon médian du flacon. Il est bon d'avoir à sa disposition une troisième burette de Mohr, indépendante ou fixée au même support, à côté des autres. Elle est destinée à ménager l'hydrosulfite de la burette principale H. L'une des deux premières burettes I reçoit du carmin d'indigo, les deux autres sont remplies d'hydrosulfite de soude.

Ceci posé, s'agit-il de doser l'oxygène dissous dans une eau, on introduit dans le flacon :

1^o 50 c. c. environ de solution d'indigo ;

2^o 250 c. c. environ d'eau ordinaire tiède (40 à 50 degrés centigrades). On adapte aux douilles fixes la burette à indigo I et la burette indépendante d'hydrosulfite ; on amorce les deux douilles avec le contenu des burettes, puis on laisse passer l'hydrogène assez rapidement. (L'appareil producteur d'hydrogène peut être quelconque, pourvu que l'on soit maître de régler le dégagement gazeux, au moyen d'un simple robinet; l'hydrogène est lavé à l'eau et passe à travers une colonne de potasse caustique en plaques.) Lorsqu'on juge que la presque totalité de l'air a été balayée par le courant d'hydrogène, on laisse couler lentement de l'hydrosulfite, en tenant le flacon à la main, et en communiquant au liquide un mouvement giratoire suffisant pour mélanger, jusqu'à ce que le liquide n'ait plus

qu'une légère teinte verdâtre, ou rougeâtre s'il est alcalin; puis, sans interrompre le courant de gaz hydrogène, on sépare la burette indépendante et on fixe la burette d'hydrosulfite H destinée au titrage. Dans cette manœuvre, le réducteur contenu dans la douille s'écoule et achève souvent de décolorer la solution en l'amenant au jaune. On amorce de nouveau cette douille en ouvrant légèrement la pince, puis en ajoutant soit un peu de carmin, soit un peu d'hydrosulfite, on amène la liqueur à une teinte jaune clair qui vire au vert ou au rouge par l'addition d'une seule goutte de carmin. On constate que le liquide jaune ne bleuit plus à la surface, ce qui prouve que l'atmosphère du flacon est bien privée d'oxygène. Tout est prêt alors pour l'analyse, si l'on a pris soin, au début, de remplir la douille de l'entonnoir avec l'eau même dont on veut mesurer la teneur en oxygène. Le titrage s'effectue en procédant de la manière suivante et dans l'ordre indiqué :

1° Ralentir le courant d'hydrogène sans l'interrompre; 2° soulever le tube adducteur, pour que le gaz ne barbotte pas; 3° lire le point de départ de la burette à hydrosulfite; 4° introduire dans l'entonnoir 50 c. c. ou 100 c. c. de l'eau soumise à l'essai, et laisser couler cette eau en une fois dans le flacon, en conservant la douille pleine depuis le robinet; on agite; le liquide jaune bleuit si l'eau est aérée, ne change pas de teinte, si elle ne contient pas d'oxygène. Il ne reste plus qu'à laisser couler goutte à goutte de l'hydrosulfite, en remuant et en saisissant la limite exacte de décoloration qui s'obtient à une goutte près ($\frac{1}{20}$ de c. c.), si le liquide est incolore.

Immédiatement après avoir noté le point d'arrivée, et sans rien changer ni démonter, on emplit la douille de l'entonnoir avec de l'eau saturée d'oxygène à $\frac{1}{5}$ d'atmosphère et à une température connue; on corrige avec quelques gouttes d'hydrosulfite la teinte bleutée, développée par cette opération, et l'on procède au titrage avec 50 ou 100 c. c. d'eau saturée. Un calcul de proportion donne la teneur en oxygène de la première eau.

Au lieu de titrer l'hydrosulfite avec de l'eau saturée, à une température connue, on peut le titrer en laissant couler dans le

flacon, après le premier essai, un volume connu (25 c. c.) de carmin d'indigo (solution de) et en cherchant le volume de réducteur nécessaire pour ramener la décoloration.

D'un autre côté, on a déterminé une fois pour toutes le rapport volumétrique entre l'indigo employé et une solution de sulfate de cuivre ammoniacal à 4^{es},46 de sulfate de cuivre cristallisé pur par litre (10 c. c. = 1 c. c. oxygène, au moment de la décoloration complète). Il suffit pour cela de chercher les volumes, d'une même solution d'hydrosulfite, nécessaires pour décolorer des volumes égaux d'indigo (carmin) et de liqueur cuivrique ; ce qui permet de calculer les rapports d'équivalence volumétrique de ces deux liqueurs et, par conséquent, le volume d'oxygène correspondant à 1 c. c. de la solution d'indigo.

Cette expérience doit être faite avec beaucoup de soins, car de son exactitude dépendra celle des valeurs absolues de tous les dosages subséquents.

On détermine le rapport entre l'hydrosulfite et l'indigo dans les mêmes conditions que celles du titrage. L'emploi de la solution d'indigo pour titrer l'hydrosulfite serait certainement le plus avantageux de tous les procédés que l'on peut employer à cet effet, si cette solution pouvait être préparée d'avance, en grandes quantités, malheureusement elle s'altère peu à peu et finit par se décolorer par suite du développement de microbes. Il convient donc d'y ajouter un antiseptique tel que le sublimé à faibles doses.

Le rapport entre l'hydrosulfite et la solution cuivrique est établi en opérant dans une atmosphère d'hydrogène pur. La solution cuivrique (15 à 20 c. c.) est placée dans un petit flacon à trois tubulures, l'une pour l'entrée, l'autre pour la sortie du gaz, cette dernière munie d'un petit appareil barboteur semblable à celui du grand flacon ; dans la tubulure médiane, on fixe par un caoutchouc la douille effilée et allongée, amorcée d'avance, de la burette à hydrosulfite. On laisse couler le réducteur dès que l'air est expulsé, et l'on continue jusqu'à complète décoloration ; ce point est assez délicat à saisir.

Exemple : en opérant comme ci-dessus, on a trouvé que :
1^o 4^{es}, 6 d'hydrosulfite équivalaient à 50 c. c. d'indigo ;

2^o 15^{cc},1 d'hydrosulfite équivalaient à 23^{cc} de solution ammoniacale de cuivre; 10 c. c. de solution cuivrique décolorée valent 1 c. c. d'oxygène (à 0° et 760^{mm} de pression). On trouve facilement que 1 c. c. d'indigo correspond à 0^{cc},0152 d'oxygène.

D'un autre côté :

Pour 100 c. c. d'eau à titrer on a employé 5^{cc},7 d'un hyposulfite quelconque.

20 c. c. d'indigo exigent 2^{cc},9 de cet hydrosulfite.

On pose la proportion :

$$2,9 : 10 :: 5,7 : x = \frac{20 \times 5,7}{2,9} = 39^{cc},3$$

L'oxygène de 100 c. c. d'eau correspond à 39^{cc},3 d'indigo. Il ne reste plus qu'à multiplier 39,3 par 0,0152 = 0,59736, pour trouver que 1 litre d'eau contenait 5^{cc},97 d'oxygène dissous, mesuré à 0° et 760^{mm} de pression.

N. B. — Il est important, quand on exécute une série de dosages, de ne jamais employer les derniers centimètre cubes de la burette d'hydrosulfite qui, ayant séjourné au contact de l'air, ont perdu de leur pouvoir réducteur. Si on laisse un intervalle de plus d'une demi-heure entre deux essais, il convient de renouveler tout à fait le contenu de la burette.

Une expérience complète, y compris la préparation du milieu réduit, n'exige pas plus de dix minutes, et les dosages suivants se font en une ou deux minutes chaque. Des résultats de deux essais de même ordre ne diffèrent jamais entre eux de plus de 1/10 de centimètre cube.

Ce procédé de dosage permettant d'évaluer l'oxygène dissous dans 50 c. c. d'eau, avec une approximation de 0^{cc},005 et par conséquent de 0^{cc},1 par litre, j'ai pu l'utiliser, avec la collaboration de mon très regretté ami le D^r Quinquand, pour étudier les phénomènes respiratoires de la levure, mesurer leur intensité dans diverses conditions; suivre la marche générale de l'absorption de l'oxygène et les principales conditions qui influent sur elle. La rapidité des déterminations, qui n'exigent pas plus de trois à quatre minutes, nous donnait le moyen de multiplier les expériences et d'établir les résultats énoncés ci-

dessous sur une série de dosages dont le nombre n'a pas été épargné. Les expériences dont je parlerai d'abord ne s'appliquent qu'au cas de la levure fraîche en pâte, contenant 29 à 30 p. 100 de matériaux solides; celle-ci était délayée dans l'eau pure aérée, sans addition d'aucun élément nutritif. Nous verrons plus loin comment les choses se passent, quand on met la levure dans de meilleures conditions de développement.

Voici la marche suivie dans ces expériences. Elles n'ont été publiées nulle part en détail; nous pensons donc devoir entrer dans quelques développements sur ce sujet :

On remplit *au même moment* une série de flacons jaugeant un litre, avec de l'eau aérée de même richesse en oxygène dissous. Dans chacun de ces flacons on délaye un poids connu de levure, après avoir mesuré le titre oxymétrique de l'eau employée. Au bout d'un temps déterminé, on mesure à nouveau le titre oxymétrique du liquide conservé à l'abri de l'air. La perte de titre donne la quantité d'oxygène absorbé et consommé. On peut étudier ainsi, au moyen de séries convenablement disposées; l'influence du temps, celle de la quantité de levure, de la température, de la dose initiale d'oxygène, des principes étrangers dissous dans le liquide, de l'état initial de la levure et en général de toutes les conditions que l'on est maître de faire varier à son gré.

Dans la plupart des cas, quand il s'agit de comparaisons, on peut se passer de la connaissance de la valeur absolue de la dose d'oxygène absorbée et se contenter d'exprimer les résultats en unités arbitraires, telles que le volume de la solution d'hydrosulfite correspondant à l'oxygène consommé; ce nombre s'obtient en retranchant le titre final du titre initial. Dans une même série dont la durée ne dépasse pas quatre à cinq heures, la valeur du réactif se maintient assez constante, mais on ne peut alors pas comparer les résultats de deux séries faites à des époques différentes, avec des réactifs de richesses inégales.

Il convient donc de mesurer au début de chaque série le titre oxymétrique réel de l'hydrosulfite et de ramener par le calcul toutes les séries à une commune mesure, c'est-à-dire à la quantité réelle d'oxygène utilisé.

Comme la levure tend à se précipiter au fond du liquide, ce

qui, dans les expériences de longue durée, pourrait entraîner des irrégularités dont la cause est facile à saisir, on introduit dans les flacons des boules de verre qui permettent de maintenir la levure en suspension homogène par une agitation assez fréquemment répétée des flacons pleins et bien bouchés avec des bouchons en caoutchouc.

Les nombres donnés ci-dessous proviennent de séries d'expériences exécutées à diverses époques, avec des hydrosulfites de titres différents. Pour faciliter la comparaison, on a ramené par le calcul dans la plupart des cas, les volumes trouvés d'hydrosulfite, à ce qu'ils auraient été avec un même hydrosulfite type dont 6^{cc},6 correspondraient à 1 c. c. d'oxygène à 0° et 760^{mm} de pression.

Influence de la lumière sur la respiration de la levure. — On prend deux flacons de un litre à gros goulot remplis d'eau à 24°, température ambiante; on délaye dans chacun 2 grammes de levure fraîche.

100 c. c. de l'eau initiale exigent 3^{cc}, 81 d'hydrosulfite. Le flacon n° 1 est conservé dans l'obscurité complète; le flacon n° 2 est exposé à la lumière solaire, en ayant soin de l'immerger dans de l'eau à 24° contenue dans un vase à parois transparentes, afin de maintenir la température initiale.

Au bout d'une demi-heure on mesure le titre oxymétrique :

| | |
|---|------------------------------------|
| 100 ^{cc} du flacon n° 1 exigent. | 2 ^{cc} ,5 d'hydrosulfite. |
| — — n° 2 — | 2,5 — |
| Différence commune par rapport au | |
| degré initial | 1,3 |

La lumière n'a donc aucune influence sur le phénomène respiratoire.

Influence de la température. — 1° On prépare quatre flacons avec 2 grammes de levure fraîche et un litre d'eau à diverses températures. On prend le degré oxymétrique initial et le degré oxymétrique au bout d'une demi-heure.

| | Température. | Titre initial. | Titre final. | Différence. | Oxygène absorbé en 1 heure par 1 gramme de levure. |
|-----------|--------------|---------------------|---------------------|--------------------|---|
| N° 1. . . | 17°0 | 4 ^{cc} ,00 | 3 ^{cc} ,80 | 0 ^{cc} ,2 | 0 ^{cc} ,304 |
| N° 2. . . | 23°5 | 3,62 | 2,86 | 0,76 | 1,154 |
| N° 3. . . | 26°0 | 3,04 | 2,28 | 0,76 | 1,154 |
| N° 4. . . | 40°0 | 2,86 | 1,33 | 1,53 | 2,308 |

2° On prépare huit flacons avec 2 grammes de levure, un litre d'eau à diverses températures. Le degré oxymétrique est mesuré au début et après une heure :

| | Température | Différence des titres p. 100 ^{cc} d'eau. | Oxygène absorbé en 1 heure par 1 gramme de levure. |
|-----------|-------------|--|---|
| N° 1. . . | 9° | 0 ^{cc} ,54 | 0 ^{cc} ,40 |
| N° 2. . . | 10° | 0 ,55 | 0 ,41 |
| N° 3. . . | 22°0 | 13 ,8 | 1 ,04 |
| N° 4. . . | 32°5 | 27 ,6 | 2 ,09 |
| N° 5. . . | 40°0 | 28 ,0 | 2 ,12 |
| N° 6. . . | 40°0 | 27 ,6 | 2 ,09 |
| N° 7. . . | 50°5 | 33 ,2 | 2 ,50 |
| N° 8. . . | 60° | 0 ,0 | 0 ,0. |

On voit, d'après ces deux expériences, que, comme pour tous les phénomènes biologiques, la combustion intracellulaire est presque nulle au-dessous de 10° ; elle atteint un maximum vers 30°, maximum qui se maintient jusqu'au-dessus de 50°, c'est-à-dire jusqu'au moment où l'organisme est tué.

Influence du temps. — On constate d'une façon très nette la loi de proportionnalité au temps. En titrant des flacons identiquement composés, placés dans les mêmes conditions de température, après des intervalles de temps égaux, on trouve les mêmes différences de titres d'un essai à l'autre. Ceci n'est cependant vrai qu'avec certaines restrictions.

Si l'on titre de quart d'heure en quart d'heure ou de demi-heure en demi-heure, on constate souvent que le premier titrage n'est pas comparable aux autres, il est plus faible. En d'autres termes, la levure paraît moins respirer au début qu'au bout d'un certain temps. Le fait est surtout sensible lorsqu'on opère à température peu élevée ou avec de la levure affaiblie. Ce résultat ne doit pas surprendre si l'on se rappelle que la respiration augmente la vitalité de la levure et partant son activité respiratoire, qui dépend de cette vitalité, nous le verrons plus loin.

La levure mise en contact avec un milieu aqueux aéré ne révèle pas de prime-saut la puissance respiratoire correspondante à la température.

Exemple. — 1° On a délayé 2 grammes de levure dans 1 litre d'eau à 10 degrés centigrades. Le titre est pris au début et de demi-heure en demi-heure.

| | Différences du titre par rapport au titre précédent pour 100 cc. de liquide. | Oxygène consommé en une demi-heure par 1 gramme de levure. |
|------------------------------------|--|--|
| Après la première heure. | 0 ^{cc} ,09 | 0 ^{cc} ,26 |
| — la deuxième heure | 0 ,27 | 0 ,82 |
| — la troisième 1/2 heure | 0 ,27 | 0 ,82 |
| — la quatrième 1/2 heure | 0 ,27 | 0 ,82 |

2° Une levure conservée pendant vingt-quatre heures dans de l'eau à 30°, ayant par conséquent subi la désassimilation, a absorbé par gramme, à 25 degrés centigrades :

| | |
|--|---------------------|
| Pendant la première 1/2 heure. | 0 ^{cc} ,58 |
| — la deuxième 1/2 heure. | 2 ,00 |

Une levure, conservée sous l'eau pendant quarante-huit heures à 30°, a absorbé par gramme, à 25 degrés centigrades :

| | |
|--|--------------------------------|
| Pendant la première 1/2 heure. | 0 ^{cc} ,09 d'oxygène. |
| — la deuxième 1/2 heure. | 0 ,13 — |

Ce phénomène est donc d'autant plus sensible que la levure est plus altérée.

Les expériences suivantes démontrent la proportionnalité au temps de l'absorption d'oxygène.

Un flacon contenant 2 grammes de levure et 1 litre d'eau à 22 degrés centigrades a été titré au début et de quart d'heure en quart d'heure.

L'appareil était disposé de manière à enlever à chaque fois les 50 centimètres cubes de liquide nécessaires au titrage, sans déboucher, en remplaçant par de l'hydrogène ou du gaz de l'éclairage le liquide soustrait.

| | | Différence. |
|-------------------------------|--------------------|-------------|
| Titre initial | 3 ^{cc} ,9 | > |
| — après 15 minutes | 3 ,2 | 0,7 |
| — — 30 minutes | 2 ,3 | 0,9 |
| — — 45 minutes | 1 ,7 | 0,6 |
| — — 1 heure. | 1 ,0 | 0,7 |
| — — 1 h. 15 minutes. | 0 ,3 | 0,7 |
| — — 1 h. 30 minutes | 0 ,2 | 0,1 |

Deuxième expérience, faite avec la même levure, mais conservée pendant vingt-quatre heures (plus ancienne), température 20°, 2 grammes levure pour 1 litre d'eau aérée.

| | | Différence. |
|-------------------------------|--------------------|-------------|
| Titre initial | 4 ^{cc} ,1 | » |
| — après 15 minutes | 3 ,5 | 0,6 |
| — — 30 minutes | 3 ,0 | 0,5 |
| — — 45 minutes | 2 ,5 | 0,5 |
| — — 1 heure | 1 ,9 | 0,6 |
| — — 1 h. 15 minutes | 1 ,3 | 0,6 |
| — — 1 h. 30 minutes | 0 ,7 | 0,6 |

Troisième expérience. — On monte six bocaux contenant chacun 1 litre d'eau à 12° centigrades et 5 grammes de levure. Le titrage se fait en laissant d'un bocal à l'autre un intervalle de quinze minutes.

| | | Différence. |
|-------------------------------------|--------------------|-------------|
| Titre initial (début). | 3 ^{cc} ,4 | » |
| — du n° 1 après 15 minutes. | 3 ,2 | 0,2 |
| — du n° 2 — 30 minutes. | 3 ,0 | 0,2 |
| — du n° 3 — 45 minutes. | 2 ,7 | 0,3 |
| — du n° 4 — 1 heure. | 2 ,45 | 0,25 |
| — du n° 5 — 1 h. 15 min. | 2 ,2 | 0,25 |
| — du n° 6 — 1 h. 30 min. | 2 ,0 | 0,2 |

Quatrième expérience. — On monte trois bocaux contenant chacun 1 litre d'eau à 10° centigrades et 1 gramme de levure fraîche ; le titrage se fait de trente minutes en trente minutes.

| | Durée de la respiration. | Différence des titres. | Oxygène absorbé par 1 gramme de levure en une heure. |
|-----------|--------------------------|------------------------|--|
| N° 1. . . | 30 minutes. | 2 ^{cc} ,75 | 0 ^{cc} ,41 |
| N° 2. . . | 1 heure. | 5 ,40 | 0 ,41 |
| N° 3. . . | 1 h. 30 m. | 8 ,20 | 1 ,24 |

Cinquième expérience. — Comme la précédente, mais à 28 degrés.

| | Durée. | Différence des titres. | Oxygène consommé par heure et par gramme. |
|-----------|-------------|------------------------|---|
| N° 1. . . | 30 minutes. | 12 ^{cc} ,7 | 1 ^{cc} ,90 |
| N° 2. . . | 30 — | 12 ,6 | 1 ,93 |
| N° 3. . . | 60 — | 25 ,5 | 3 ,86 |
| N° 4. . . | 60 — | 24 ,0 | 3 ,60 |

Ces exemples, que nous pourrions multiplier, établissent surabondamment la loi de proportionnalité au temps, à divers degrés de température ; elles révèlent aussi la faiblesse respiratoire au début indiquée plus haut.

Il semble presque inutile d'insister sur la loi de proportionnalité à la masse de levure. *A priori*, il est évident que l'effet produit par 1 gramme de levure en une heure doit être doublé si l'on fait intervenir 2 grammes de levure, nous ne donnons donc qu'une seule expérience à l'appui de cette loi.

| | | | | Durée en minutes. | Différences de titre en centim. cubes. |
|-------|-------------------|-------------------|---|----------------------|---|
| N° 1. | 2 grammes levure, | 4 litre eau à 23° | | 30 | 12 |
| N° 2. | 2 | — | — | 60 | 24 |
| N° 3. | 4 | — | — | 15 | 12 |
| N° 4. | 4 | — | — | 30 | 25 |

En résumé, en tenant compte des causes de perturbations et du degré d'approximation de ces sortes d'expériences, on peut admettre comme prouvé :

1° Que toutes choses égales d'ailleurs, l'énergie avec laquelle une levure respire, mesurée par la quantité d'oxygène absorbée par l'unité de poids dans l'unité de temps, peut varier dans des limites assez étendues, allant du simple au double ;

2° Que cette énergie est fonction de la température et acquiert un maximum vers 30° ;

3° Que les doses d'oxygène absorbé par un même poids de levure sont proportionnelles au temps ;

4° Les doses d'oxygène absorbé dans un même temps sont proportionnelles aux poids de la levure.

Dans les expériences relatées ci-dessus on a pu voir que l'énergie avec laquelle respire la levure est indépendante du degré oxymétrique du milieu. S'il n'en était pas ainsi, la loi de proportionnalité au temps ne se vérifierait pas avec le même milieu dont le degré s'abaisse à mesure que l'on prolonge l'expérience.

Cette indépendance n'est pas absolue ; ainsi nous avons constaté qu'au bout d'une heure et demie avec 2 grammes de levure la quantité d'oxygène absorbé a baissé assez brusquement pendant le dernier quart d'heure. A ce moment, 1 litre d'eau ne contenait que 0^{cc},5 d'oxygène. On peut admettre dans ce cas que, vu l'appauvrissement du milieu en oxygène, la quantité de cet élément qui peut pénétrer dans la cellule, par endosmose, dans l'unité de temps, est inférieure à celle que peut utiliser l'organisme.

Il était intéressant de rechercher quelle pourrait être l'influence d'un milieu très riche en oxygène.

On se procure facilement de l'eau sursaturée de ce gaz en y maintenant immergées pendant quelque temps des plantes aquatiques à chlorophylle (elodea) et en exposant le vase à la lumière solaire. Au bout d'un certain temps l'eau renferme de 16 à 18 centimètres cubes d'oxygène par litre. A égalité de température, la levure introduite dans ce milieu n'a pas absorbé sensiblement plus d'oxygène que dans de l'eau contenant 2 à 3 centimètres cubes par litre.

La levure peut non seulement utiliser et faire disparaître l'oxygène physiquement dissous dans l'eau, mais encore l'oxygène combiné à l'hémoglobine, qui, comme on le sait, peut être éliminé par une diminution de pression.

Ainsi, quand on délaye de la levure fraîche, lavée ou non, dans du sang artériel rouge ou dans une solution d'hémoglobine saturée d'oxygène, on voit la teinte passer rapidement du rouge au bleu foncé et au noir. Une simple agitation avec de l'air suffit pour restituer au sang sa couleur rutilante; puis les phénomènes de désoxygénation reprennent; la même expérience peut ainsi être renouvelée un grand nombre de fois, surtout avec de la levure fraîche et lavée.

Bien que, dans ce cas, la levure se trouve en présence d'un milieu infiniment plus riche en oxygène que l'eau aérée (milieu contenant 200 à 230 centimètres cubes d'oxygène par litre au lieu de 6 à 7 centimètres cubes), la rapidité d'absorption n'est pas augmentée, si les conditions de température sont les mêmes.

1 gramme de levure absorbe autant d'oxygène en une heure, à la même température, qu'elle soit délayée dans de l'eau contenant 5 à 7 centimètres cubes d'oxygène par litre, ou dans du sang artériel renfermant 200 centimètres cubes d'oxygène.

Dans l'expérience du sang, on pourrait craindre une influence directe de la levure ou de ses matériaux solubles sur la matière colorante du sang; cette influence se produit en effet, surtout pour les solutions d'hémoglobine; elle se révèle par la transformation de cette matière colorante primordiale en hématine; mais elle n'apparaît qu'au bout de quelques heures. La manière

d'être de la levure, par rapport au sang, peut s'expliquer de la façon suivante : Les cellules des saccharomyces, délayées dans le liquide, respirent aux dépens de l'oxygène dissous physiquement dans le plasma ou le sérum au sein desquels nagent les globules rouges du sang. A mesure que le liquide plasmatique s'appauvrit en oxygène, une portion de ce corps, combiné faiblement à l'hémoglobine, se sépare pour entrer en dissolution physique, par une dissociation comparable à celle que présente le bicarbonate de potasse dans le vide ; le phénomène se poursuit ainsi jusqu'à complète disparition de l'oxygène dissous dans le sérum et de celui qui est fixé à l'hémoglobine. Si cette explication est exacte, l'expérience doit réussir en séparant le sang de la levure délayée dans de l'eau ou du sérum, par une membrane perméable aux gaz et aux liquides, mais susceptible d'empêcher tout contact direct entre les cellules de levure et les globules rouges. C'est en effet ce qui a lieu. J'ai pu ainsi, en disposant un appareil convenable, simuler artificiellement ce qui se produit dans les organes et les tissus des animaux, lorsque le sang artériel, rouge et oxygéné, traverse le réseau capillaire, et en sort pour arriver dans les veines sous forme de sang noir et désoxygéné en partie.

A cet effet, il suffit de faire circuler lentement du sang rouge, à travers un système assez long d'espaces creux, dont les parois sont formées de baudruche mince, et qui est immergé dans une bouillie de levure délayée dans du sérum frais, sans globules, maintenue à 35°.

On voit le sang rouge sortir noir ou veineux à l'autre extrémité. Une contre-épreuve faite dans le même temps, avec un système de tubes en tout semblable, mais immergé dans du sérum sans levure, prouve que la levure est indispensable pour amener ainsi rapidement la désoxydation du sang. Cette expérience, sauf la perfection employée par la nature pour multiplier les contacts et les surfaces, est l'image fidèle de ce qui se passe dans l'organisme animal. Dans ce dernier cas, les éléments cellulaires et histologiques des tissus jouent le rôle de la levure ; ils absorbent l'oxygène dissous dans les liquides plasmatiques qui les baignent et tendent constamment à ramener à zéro leur degré oxyométrique. L'oxygène fixé faiblement à l'hémoglobine

rétablit l'équilibre par une suite de diffusions gazeuses de globules rouges au plasma sanguin, et du plasma sanguin au plasma des organes. Ces diffusions continuelles sont une conséquence inévitable des ruptures d'équilibre produites par la respiration des cellules organisées ou des cellules de levure, dans l'expérience décrite.

Lorsqu'on délaye peu de levure, 0^{rs},5 à 1 gramme, dans 1 litre d'eau à 20 ou 25 degrés centigrades, en disposant une série de flacons qu'on titre d'heure en heure, on constate que pour les premiers l'absorption marche proportionnellement au temps, puis elle diminue assez rapidement et finit par devenir à peu près nulle, longtemps avant que tout l'oxygène ait disparu.

Cet effet ne s'observe point si l'on prend une plus grande quantité de levure, 2 à 3 grammes, par exemple; dans ce cas, la diminution de l'oxygène reste proportionnée au temps jusqu'à la disparition presque totale de l'oxygène. On peut expliquer ce fait en admettant que la levure ne renferme qu'une quantité limitée de matériaux combustibles; lorsque la provision en est épuisée, la combustion s'arrête.

Des expériences directes démontrent l'exactitude de cette manière de voir et prouvent que la combustion porte presque exclusivement sur les parties solubles du saccharomyces. La levure épuisée par lavage complet à l'eau froide a perdu son pouvoir respiratoire pour quelque temps. Pendant la première heure, le titre oxymétrique ne change presque pas, puis on observe un effet sensible, d'abord lent et qui s'accroît, à mesure que la cellule élabore, par désassimilation, de nouveaux matériaux solubles. Au contraire, la même levure lavée, mise dans un milieu oxygéné et additionnée de l'eau de lavage, accuse une absorption immédiate de l'oxygène, même si cette eau de lavage a été préalablement portée à l'ébullition.

Exemple. — On monte quatre flacons avec 1 litre d'eau à 20° et 2 grammes de levure fraîche, bien lavée à l'eau froide; au n° 3 on ajoute 20 centimètres cubes d'eau de lavage concentrée et froide; au n° 4 on ajoute 20 centimètres cubes d'eau de lavage préalablement bouillie. On trouve :

| Titre commun initial | 6 | Titre final. |
|---|-----|--------------|
| N° 1. Levure lavée seule après 1/2 heure. | 6 | |
| N° 2. — lavée seule après 1 heure. | 4 | |
| N° 3. — lavée et eau de lavage non bouillie, après 1/2 heure | 3 | |
| N° 3 bis. Levure lavée et eau de lavage non bouillie, après 1 heure. | 0 | |
| N° 4. Levure lavée avec eau de lavage bouillie, après 1/2 heure | 3,4 | |
| N° 4 bis. Levure lavée avec eau de lavage bouillie, après 1 heure | 0 | |

On pourrait croire, d'après cela, qu'une levure altérée, ramollie, dont une partie des matériaux est convertie en principes solubles, comme cela arrive dans la digestion de la levure, doit absorber plus rapidement l'oxygène que la levure fraîche. Il n'en est rien cependant et c'est l'inverse que l'on observe.

Une levure altérée par ramollissement spontané respire moins qu'une levure fraîche.

Tous ces faits prouvent donc nettement que, mise en présence de l'oxygène dissous, la levure respire. La mesure du pouvoir respiratoire dans les meilleures conditions nous montre cette respiration aussi active et même plus que celle des poissons. N'est-ce là qu'un fait accessoire, curieux, dont il ne faut tenir compte que passagèrement dans l'étude des phénomènes biologiques de la levure? A priori, il est peu probable qu'une fonction aussi nette, aussi accentuée, n'ait pas une importance sérieuse. D'un autre côté, si nous jetons nos regards sur ce qui se passe dans les autres être vivants, du haut en bas de l'échelle animale et de l'échelle végétale, nous voyons la respiration, c'est-à-dire les combustions aux dépens de l'oxygène, jouer un rôle prépondérant. Sans insister sur le règne animal, rappelons que l'on sait depuis longtemps que les plantes, pendant l'obscurité, absorbent de l'oxygène et dégagent de l'acide carbonique; on soupçonnait même avec de justes raisons que cette fonction respiratoire, inverse de celle que présentent les parties vertes exposées au soleil, était indépendante de la respiration diurne, qu'elle appartenait à un autre ordre de cellules dépourvues de chlorophylle. En opérant avec des plantes aqua-

tiques immergées, on peut mettre le fait en évidence de la manière la plus nette et la plus élégante. Soient des tiges d'*E-Iodéa* fraîches, immergées dans l'eau aérée dont on connaît le titre oxymétrique initial. Le flacon parfaitement rempli est placé dans l'obscurité. Au bout d'une ou deux heures, on dose l'oxygène; on trouve une diminution qui, comme pour la levure, à températures égales, est proportionnelle à la quantité de plante et à la durée de l'expérience, et dont la grandeur absolue varie avec la température. Si nous chauffons momentanément l'eau et la plante jusqu'à 50° environ, nous détruisons à jamais l'activité des cellules à chlorophylle, c'est-à-dire le pouvoir que possède le végétal de décomposer l'acide carbonique par ses parties vertes, mais sans altérer son activité respiratoire ou de combustion. Nous avons vu, en effet, par la levure, que cette fonction n'est définitivement modifiée que vers 60°. La plante est morte comme partie verte, mais elle est encore susceptible de remplir certaines fonctions biologiques. Le flacon d'eau aéré pourra être exposé aux rayons solaires; loin de constater une augmentation dans la dose d'oxygène dissous, c'est l'inverse qui se voit.

C'est surtout dans les parties végétales qui doivent subir une évolution rapide et un développement cellulaire marqué que l'absorption d'oxygène et les combustions internes se révèlent très actives.

Tout le monde sait que dans la germination des graines, de l'orge, par exemple, dans la fabrication du malt, la combustion interne développe des quantités notables de calorique.

La floraison est aussi accompagnée d'une respiration très marquée.

Revenons à la levure, M. Pasteur a constaté (*Bullet. soc. chimig.*, p. 80, 1861) que la levure de bière, semée dans un liquide albumineux, tel que l'eau de levure de bière, se multiplie encore lorsqu'il n'y a pas trace de sucre dans la liqueur, pourvu toutefois que l'oxygène de l'air soit présent en grande quantité; à l'abri de l'air et dans ces conditions, la levure ne bourgeonne pas du tout. Les mêmes expériences peuvent être répétées avec un liquide albumineux mêlé à une dissolution de sucre non

fermentescible, comme le sucre de lait cristallisé; les résultats sont du même ordre.

La levure formée ainsi, en l'absence du sucre, n'a pas changé de nature; elle fait fermenter le sucre si on la fait agir sur ce corps à l'abri de l'air. Il faut remarquer toutefois que le développement de la levure est très pénible lorsqu'elle n'a pas pour aliment une matière fermentescible.

D'un autre côté, le même savant a observé qu'au contact de l'air et sur une grande surface, les fermentations alcooliques sont plus rapides qu'à l'abri de l'oxygène et que le bourgeonnement est plus actif, puisque, malgré la plus grande rapidité de la fermentation, le rapport entre la levure nouvellement formée et le sucre décomposé passe de $\frac{1}{80}$ à $\frac{1}{4-10}$.

M. Mayer (*Landw. Versuchs.*, t. XVI, p. 290) a institué des expériences desquelles il semble résulter que l'oxygène n'a aucune influence, ni sur la rapidité de la fermentation ni sur la quantité de levure de nouvelle formation.

Cependant son procédé d'aérage des liquides en fermentation, qui consiste à faire passer de l'air calciné dans le flacon, trois fois par jour, me paraît insuffisant, étant connues la lenteur avec laquelle l'eau absorbe l'oxygène et la rapidité avec laquelle la levure consomme cet oxygène; nous ne pouvons donc tirer des expériences de l'auteur les conclusions défavorables à la théorie de Pasteur, qu'il a voulu y voir.

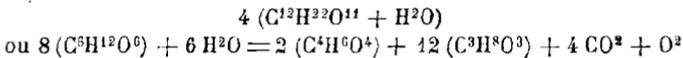
Il ressort de tous ces faits : 1° que la levure, comme les plantes ordinaires, bourgeonne et se multiplie même en l'absence du sucre fermentescible, lorsqu'on lui fournit de l'oxygène libre; que cependant cette multiplication est favorisée par la présence du sucre qui serait un aliment plus approprié que les composés hydrocarbonés non fermentescibles; enfin que la levure peut se multiplier et bourgeonner en l'absence de l'oxygène libre, mais dans ce cas une substance fermentescible est indispensable.

On arrive ainsi forcément à la conclusion que M. Pasteur a tirée de cet ensemble de faits : à savoir que la matière sucrée peut suppléer l'oxygène libre par rapport à la levure et provoquer le bourgeonnement. M. Pasteur est allé plus loin; il

admet que le caractère ferment d'une cellule est dû au pouvoir qu'elle possède de respirer aux dépens du sucre, à l'abri de l'air, et que la décomposition en alcool et acide carbonique est la conséquence d'une rupture d'équilibre, due à cette soustraction partielle d'oxygène. Il est aussi permis d'interpréter les faits de la manière suivante :

1° Le concours de l'oxygène et des combustions qui en sont une conséquence est nécessaire au développement et à la multiplication de la vie cellulaire. Ce fait est surabondamment établi pour tous les êtres et les organes du règne végétal.

2° La levure possède la faculté de décomposer le sucre qui pénètre pas endosmose dans l'intérieur de la cellule, en alcool, acide carbonique, glycérine, acide succinique et oxygène. En effet, nous avons vu plus haut (page 14) que M. Monoyer avait proposé une équation très simple pour représenter les nombres de M. Pasteur relatifs à la formation de l'acide succinique et de la glycérine. Dans cette équation que nous reproduisons :



nous voyons apparaître au second membre un excès d'oxygène et, ajoute M. Monoyer, on peut supposer que cet oxygène en excès sert à la respiration de la levure. Dès lors, l'idée que la fermentation est un phénomène primaire, dû à une activité spéciale de la levure et d'autres cellules (Lechartier et Bellamy), que, comme conséquence de cette fermentation, de l'oxygène devient disponible et peut servir à la respiration et par conséquent au bourgeonnement de la levure, cette idée, dis-je, n'est pas dénuée de fondement.

Dans cette manière d'interpréter les faits, la levure ne deviendrait pas ferment parce qu'elle respire une partie de l'oxygène du sucre, mais elle pourrait respirer une partie de l'oxygène du sucre, et par suite se multiplier, précisément parce qu'elle produit de l'oxygène disponible en décomposant le sucre.

En envisageant la question à un point de vue plus général, on peut encore dire que la combustion respiratoire est pour l'être vivant une source de l'énergie nécessaire à son développement. Or dans la décomposition du sucre il y aurait, d'après

les calculs de M. Berthelot, dégagement de chaleur; la quantité de chaleur mise en liberté dans ce phénomène serait environ $1/15$ de celle dégagée par la combustion complète du sucre décomposé (*Compt. rend.*, t. LIX, p. 901). Dans cette évaluation on n'a pas tenu compte de la chaleur de dissolution du sucre qui disparaît, ni de celle de dissolution de l'alcool formé, quantités positives qui tendraient à élever la chaleur de fermentation. Il n'est donc même pas nécessaire d'avoir recours à l'hypothèse d'une combustion aux dépens de l'oxygène du sucre, pour expliquer comment le phénomène de fermentation peut suppléer la combustion et devenir une source de l'énergie indispensable au développement du végétal.

Quoi qu'il en soit, il y a une corrélation évidente, comme le fait observer M. Pasteur, entre la fermentation et le développement, la nutrition et le bourgeonnement de la levure. Dans les fermentations sans oxygène, le rapport entre la levure nouvelle et le sucre décomposé sera forcément plus grand que dans les fermentations avec oxygène, puisque dans le premier cas le bourgeonnement n'a lieu que sous l'influence de l'énergie fourni par le sucre et dans le second sous l'influence de celle donnée par la combustion et le sucre.

Digestion de la levure. — Avant d'aller plus loin nous devons examiner ce qui se passe lorsque la levure est abandonnée à elle-même, à jeun et à l'état humide, sans intervention ni de matière sucrée, ni d'oxygène; nous aborderons ensuite l'étude des modifications chimiques éprouvées par la levure, pendant qu'elle se trouve placée dans les conditions convenables à sa nutrition et à son développement; ces conditions, comme nous l'avons vu, reviennent toujours à celles d'une fermentation alcoolique, le sucre étant l'un des aliments indispensables du saccharomyces et celui-ci ne pouvant être en sa présence, les autres conditions de nutrition étant remplies, sans le faire fermenter. Conserve-t-elle son intégrité initiale, lorsqu'elle est mise à l'abri du sucre et de l'oxygène; n'éprouve-t-elle aucun changement dans la composition chimique de ses principes immédiats? En d'autres termes, sa vitalité reste-t-elle à l'état latent pour se manifester à nouveau dès que l'on fournira du sucre et de l'oxygène? A priori, la chose paraît peu probable, eu égard à ce qui se

passé dans les tissus des végétaux. De fait l'expérience a prouvé que dans ces conditions la levure éprouve des modifications profondes, en ce qui touche la composition de ses principes organiques.

Cette question a été étudiée par M. Pasteur d'abord, puis successivement par M. Béchamp et par l'auteur de ce livre.

M. Pasteur ayant mis à fermenter 5 grammes de sucre avec 10 grammes de levure en pâte (2^{er}, 155 de matière sèche), quantité bien supérieure à celle qui est nécessaire pour la décomposition complète du sucre, fut surpris de voir que cette fermentation ne s'achevait pas franchement, qu'elle avait une tendance à se prolonger par un dégagement de gaz faible, alors que la liqueur de Fehling ne révélait plus la moindre trace de sucre. En disposant dans des ballons renversés sur le mercure les fermentations suivantes :

| | |
|--|--------|
| I. Sucre candi. | 1,313 |
| Levure de vin (dépôt des tonneaux (soutirés). | 6,950 |
| Eau pure. | 9,336 |
| II. Sucre candi. | 1,4425 |
| Levure de bière (2 ^{er} , 150, sec) | 10,0 |
| Eau pure | 9,210 |

il obtient en deux jours, alors que le dégagement gazeux est encore sensible :

| | |
|--|---------------|
| N° I. 360 c. c. (de gaz carbonique pur entière- | } à 0° et 760 |
| N° II. 387, 5 cc. (ment absorbable par la potasse | |

de pression. Les quantités théoriques, même abstraction faite de l'acide succinique et de la glycérine, c'est-à-dire celles qui répondent à l'ancienne équation de Gay-Lussac, celles qui donnent pour l'acide carbonique les nombres les plus forts, seraient :

| | |
|-----------------|-------|
| N° I | 341,8 |
| N° II | 375,5 |

En exagérant encore les doses de levure, on arrive à des résultats plus concluants.

Ainsi 0^{er}, 424 de sucre candi pur, mis en fermentation avec un poids de levure humide correspondant à 10 grammes de ma-

tière sèche, ont fourni, au bout de deux jours, 300 centimètres cubes d'acide carbonique ; le sucre seul ne pouvait en fournir que 110 centimètres cubes.

Le liquide distillé avec soin fournit un peu plus de 0^{sr}, 6 d'alcool absolu. Le poids de l'alcool obtenu est supérieur au poids total du sucre employé, et proportionnel au volume d'acide carbonique formé.

Cette expérience prouve déjà qu'en mêlant à de la levure un poids de sucre relativement très faible, après que ce dernier a été décomposé, l'activité de la levure continue, s'exerçant sur ses propres tissus, ses matières hydrocarbonées, avec une énergie et une rapidité extraordinaires, qui vont en se ralentissant de plus en plus.

Si l'on met fin à la fermentation, au moment où il y a un volume d'acide carbonique formé, égal ou très peu supérieur à celui qui correspond au poids du sucre employé, *on ne trouve plus de sucre dans la liqueur*. Cette observation est très importante, parce qu'elle tend à prouver que l'action qu'exerce la levure sur ses propres éléments ne commence que lorsqu'elle est privée de sucre.

Il n'est pas nécessaire de se placer dans les conditions des expériences précédentes (fermentation avec excès de levure), pour observer la fermentation aux dépens des éléments mêmes de la levure ; il suffit, comme l'a également montré Pasteur, de délayer de la levure de bière fraîche dans de l'eau à 25° ; on voit bientôt se dégager de nombreuses bulles de gaz acide carbonique pur, et il est facile, en distillant, de reconnaître la production d'alcool. Le gaz hydrogène et les signes d'une putréfaction n'apparaissent que longtemps après, lorsque le microscope révèle la présence de levure lactique et d'infusoires.

M. Béchamp, qui a repris cette question après M. Pasteur, a eu soin de se mettre complètement à l'abri de la formation d'infusoires en employant de l'eau créosotée ; il a également constaté la production d'alcool et d'acide carbonique comme conséquence de l'activité vitale de la levure à jeun (privée de sucre et d'oxygène). Mais ce n'est pas tout, ce phénomène curieux est lié à d'autres réactions chimiques non moins intéressantes.

Tout le monde sait qu'en conservant de la levure en pâte humide dans un endroit chaud (25 à 30°), elle subit un ramollissement considérable et change complètement d'aspect.

Cette modification n'est pas due à une putréfaction commençante. Rien ne permet de tirer cette conclusion; comme produits volatils il ne s'est formé que de l'acide carbonique et de l'alcool. Le microscope ne révèle aucun organisme autre que le saccharomyces, surtout si, comme l'indique M. Béchamp, on a fait usage d'eau créosotée. Si maintenant nous traitons cette levure ramollie par de l'eau tiède, nous pourrions en extraire une quantité de principes solubles et diffusibles bien plus considérable qu'en employant la levure fraîche.

Ainsi 100 grammes de levure fraîche laissant, après dessiccation à 100°, un résidu fixe de 30 grammes ne donnent plus, par lavage avant le ramollissement, qu'un résidu sec de 23 grammes. La perte au lavage est de 8 p. 100.

La même levure, ramollie spontanément pendant deux jours et lavée, laisse un résidu pesant sec 14 grammes; la perte au lavage est donc de 16 grammes.

La levure en se ramollissant a donc transformé en composés solubles 8 grammes p. 100 de levure humide, ou 26^{gr}, 65 p. 100 de levure sèche, formés aux dépens de principes primitivement insolubles ou non diffusibles. Pendant cette réaction interne de la levure, conservée humide et à jeun, M. Béchamp a constaté la production d'azote pur.

L'eau de lavage renferme de l'acide acétique, une proportion notable de ferment inversif soluble (zymase dont nous parlerons plus loin; voir le chapitre des *Ferments solubles*), un principe albuminoïde, soluble, coagulable par la chaleur et très voisin de l'albumine dont il diffère pas le pouvoir rotatoire; une matière gommeuse, que l'acide nitrique transforme en acide mucique, très rapprochée de l'arabine, dont elle diffère cependant par le pouvoir rotatoire; on trouve, en outre, de la tyrosine et de la leucine, et une matière sirupeuse incristallisable, des phosphates alcalins et alcalino-terreux en proportions notables.

En reprenant la question, j'ai confirmé les résultats de M. Béchamp en y ajoutant quelques faits nouveaux. L'extrait

de levure ramollie contient, outre les principes cités plus haut, des composés azotés du groupe de la sarcine et qui jusqu'à présent n'avaient pas encore été signalés dans l'économie végétale.

Voici le procédé analytique que j'ai suivi. La levure digérée a jeun est bouillie avec beaucoup d'eau pour coaguler l'albumine : on filtre. Le liquide à réaction légèrement acide est concentré au bain-marie à consistance sirupeuse ; il se prend par le refroidissement en un magma cristallisé formé de petits cristaux empâtés dans un sirop brunâtre. Le tout introduit dans un ballon est bouilli quelque temps avec un grand excès d'alcool fort (92 p. 100) ; il se sépare une masse poisseuse foncée, qui colle aux parois du vase. La solution alcoolique, convenablement concentrée, fournit par le refroidissement, un abondant dépôt cristallin, presque blanc après filtration, lavage à l'alcool froid et expression. Cette cristallisation est formée de feuilletés très minces ou de boules hyalines ; il en est de même de celle que l'on obtient en concentrant les eaux mères alcooliques ; elle est presque exclusivement formée de *pseudo-leucine* sulfurée avec un peu de tyrosine. Les eaux mères séparées de la seconde cristallisation sont distillées au bain-marie pour chasser l'alcool. Le résidu est étendu d'eau et additionné d'eau de baryte pour précipiter les phosphates. L'excès de baryte est enlevé dans le liquide filtré par un courant d'acide carbonique. Le liquide filtré est ensuite bouilli avec un excès d'acétate de cuivre ; il se forme un précipité floconneux brunâtre qui renferme, combinées à l'oxyde de cuivre, de la carnine, de la sarcine, de la xanthine et de la guanine. Le liquide filtré de dessus ce précipité relativement peu abondant, étant débarrassé du cuivre par l'hydrogène sulfuré, fournit, après concentration, une masse cristalline, d'où l'alcool froid extrait une matière azotée sirupeuse, de saveur sucrée, en laissant un mélange cristallisé de leucine et de butalanine.

Le précipité cuivrique, fourni à l'ébullition par l'acétate de cuivre, est bien lavé à l'eau chaude, puis traité à chaud par l'acide chlorhydrique étendu. Il se dissout presque entièrement à l'exception de flocons noirs de sulfure de cuivre. La solution, filtrée à chaud, dépose par le refroidissement une grande

partie de la combinaison cuivrique qui était entrée en dissolution.

Ce dépôt, lavé et décomposé par l'hydrogène sulfuré, fournit de la carnine, que l'on purifie par des cristallisations dans l'eau, en décolorant au besoin par un peu de noir animal. L'eau mère chlorhydrique, qui a déposé la combinaison cuivrique de carnine, étant privée de cuivre par l'hydrogène sulfuré et concentrée, donne d'abord des cristaux de chlorhydrate de xanthine; puis, par concentration du liquide décanté à froid, des cristaux de chlorhydrate de guanine, d'où l'on extrait la guanine, en précipitant par un excès d'ammoniaque qui dissout la xanthine et laisse la guanine.

La sarcine s'obtient en précipitant par l'ammoniaque et le nitrate d'argent la solution nitrique du premier précipité cuivrique; en lavant le précipité gélatineux et blanc sale qui se forme, avec de l'eau ammoniacale, puis en le faisant cristalliser dans l'acide nitrique bouillant à 12° Baumé; on obtient ainsi, immédiatement, la combinaison nitroargentique de sarcine. Celle-ci est décomposée par l'hydrogène sulfuré; le liquide filtré et concentré est additionné d'ammoniaque; la sarcine se sépare, après concentration, en fines aiguilles.

Le précipité poisseux formé au début par l'addition d'alcool à l'extrait concentré de levure digérée, est en grande partie formé de phosphates terreux, de tyrosine et de matière gommeuse.

La leucine, extraite de la levure après digestion, offre une particularité signalée par Hesse. Elle renferme une proportion de soufre qui varie dans certaines limites et peut atteindre 4 p. 100. Mes analyses faites avec des produits très purs, cristallisés plusieurs fois dans l'alcool et offrant l'apparence de beaux feuillets nacrés blancs, ont fourni 2,93 à 2,14 p. 100 de soufre. Ce soufre ne peut être éliminé par une ébullition prolongée à 100°, avec un mélange de potasse et d'hydrate de plomb. L'hydrogène de ces leucines a toujours été trouvé un peu faible (9,34 à 9,6 au lieu de 9,9 p. 100).

Il semble que le soufre fait partie intégrante de la molécule et ne se trouve pas à l'état de mélange d'un corps sulfuré avec de la leucine. Tout au moins, des purifications répétées

et très soignées ne parviennent pas à dédoubler ce mélange.

Voyons maintenant quelle peut être la signification de ces résultats.

Tous les composés azotés signalés comme produits par l'altération spontanée de la levure ont été obtenus directement par l'hydrolyse de l'albumine et des matières albuminoïdes. (Voir le chapitre concernant ces corps.) Leur origine n'est donc pas douteuse; ils se sont formés par la décomposition de certaines matières protéiques insolubles de la levure, et cela par un phénomène chimique analogue à celui qui se passe dans les tissus animaux; car il est impossible de méconnaître la grande analogie de composition qui existe entre l'extrait de levure digérée et les extraits retirés des tissus animaux. Ce phénomène chimique est encore comparable à ceux que l'on observe, en faisant réagir, dans certaines conditions, l'acide sulfurique étendu et chaud ou les alcalis (potasse, baryte) sur les substances protéiques; on obtient, en effet, ainsi des produits similaires.

L'albumine, obtenue en si fortes proportions dans l'extrait de levure digérée, doit être un des termes de la décomposition; il est probable que la levure n'a pas d'action sur ce corps, un des plus résistants aux agents chimiques, parmi les substances protéiques.

Cette manière de voir est corroborée par l'intéressante observation de M. Gautier, qui a prouvé que la fibrine se scinde sous l'influence de l'eau salée, en albumine et en un autre principe albuminoïde. La zymase ou ferment inversif, dont la proportion est très grande dans l'extrait de levure altérée, représente également un des dérivés de la décomposition des matières protéiques insolubles.

J'ai dit plus haut que, par l'analyse immédiate des parties solubles formées par la digestion de la levure, on arrivait à isoler un principe azoté, incristallisable, de saveur sucrée. Ce corps, par ses caractères, est semblable à la matière incristallisable formée lors de la décomposition des matières protéiques sous l'influence hydrolysante des alcalis ou des acides. Il en est de même de la leucine, de la butalanine, de la tyrosine et des bases xanthiques.

Pour ce qui est du sucre fournissant l'alcool et l'acide carbonique de la fermentation spontanée de la levure, et de la matière gommeuse, leur source n'est pas aussi certaine.

On admet généralement, d'après Payen et Schlossberger, que la levure lavée est composée de cellulose et de matières protéiques insolubles.

Le sucre et la gomme, qui apparaissent en proportions notables dans l'extrait de levure digérée et lavée, doivent-ils être considérés comme des termes de la décomposition physiologique des matières albuminoïdes, ou bien proviennent-ils d'une transformation de la cellulose?

Cette question ne pourra être décidée que par une série d'expériences quantitatives. Les résultats suivants ne donnent qu'une solution approchée, mais ils prouvent au moins que la majeure partie, sinon la totalité, des principes solides contenus dans l'extrait de levure lavée à l'eau froide et digérée, doit dériver des matières protéiques.

100 grammes de levure fraîche contiennent 30 grammes de matière solide. Celle-ci renferme 9,28 p. 100 d'azote. D'où il résulte que 100 grammes de levure fraîche contiennent 2^{sr},78 d'azote.

100 grammes de levure fraîche lavée à l'eau bouillante jusqu'à épuisement, contiennent 20 grammes de matière solide. Celle-ci renferme 10,17 p. 100 d'azote. D'où il résulte que 100 grammes de levure lavée à l'eau bouillante contiennent 2^{sr},03 d'azote.

100 grammes de levure digérée pendant quinze heures à 35°, puis lavée à l'eau bouillante, contiennent 12,5 de matière solide, renfermant 7,55 p. 100 d'azote.

100 grammes de levure digérée puis lavée à l'eau bouillante, contiennent donc 0^{sr},94 d'azote. La perte d'azote due à la digestion et au lavage est de 1,82 — 0,73 = 1,07.

La perte de produits solides due à la digestion et au lavage subséquent est de 17,1 — 10 = 7,5.

Or les matières protéiques contiennent en moyenne 15,5 p. 100 d'azote; 1^{sr},07 d'azote correspondant à 6^{sr},9 de matière protéique. Par conséquent sur 7^{sr},5 de principes devenus solubles par le fait de la digestion, 6^{sr},9 ou les $\frac{14}{13}$ dériveraient des substances albuminoïdes.

D'un autre côté, le dosage direct de l'azote dans l'extrait sec a donné 12,5 p. 100 d'azote. Il est donc évident que la levure a dû céder une partie de ses éléments non azotés; ce dernier calcul conduirait à la proportion de $\frac{4}{5}$ matières protéiques et $\frac{1}{5}$ matière hydrocarbonée, si l'on ne tenait compte des éléments de l'eau qui doivent nécessairement se fixer sur la matière albuminoïde lors de sa décomposition hydrolytique et de sa transformation en corps tels que la leucine. En évaluant approximativement cette eau d'hydratation on trouverait $\frac{10}{11}$ de matière albuminoïde et $\frac{1}{11}$ de matière hydrocarbonée.

Il est peu probable que la gomme ait une origine albuminoïde; elle pourrait tout au plus dériver de la décomposition d'une substance analogue à la tunicine ou à la chitine.

Les principes que la levure fraîche cède à l'eau, en proportion beaucoup moindre, sont de même nature que ceux que nous avons trouvés précédemment; il ne peut en être autrement. Les conditions dans lesquelles nous nous sommes placés, M. Béchamp et moi, ne devaient qu'exagérer les effets d'une cause continue.

M. Béchamp, en tenant compte de la fermentation spontanée de la levure et des phénomènes concomitants (production d'acide acétique, tyrosine, etc.), a donné une théorie physiologique de la fermentation qui peut se résumer ainsi.

La levure, comme tout organisme vivant, offre deux séries de phénomènes; les uns de nutrition et d'assimilation qui sont subordonnés à la présence de ses principes nutritifs (sucre, composés azotés, sels minéraux). Ces divers principes, pénétrant par endosmose dans la cellule, y subissent des transformations convenables et sont convertis en tissus de récente formation, dans les nouvelles cellules qui bourgeonnent. A côté de ces phénomènes de nutrition et parallèlement à eux, s'accomplissent d'autres réactions inverses ou de désassimilation, par lesquelles les tissus sont changés en produits excrémentitiels, impropres à la vie de la cellule et qui s'éliminent. La production de l'acide carbonique et de l'alcool serait la conséquence de ce travail, et appartiendrait aux réactions désassimilatrices. Dans cette théorie, M. Béchamp développe les idées de M. Du-

mas sur le rôle de la levure et des ferments. Il est certain que la production d'acide carbonique et d'alcool, sans sucre, aux dépens des éléments constitutifs de la levure elle-même, que cette fermentation spéciale prête un certain appui à l'opinion de M. Béchamp.

Au fond, cette théorie n'avance pas beaucoup la question relative à l'essence même du phénomène. Que le sucre soit décomposé avec ou sans assimilation préalable, peu importe ; nous ne savons pas davantage pourquoi il est décomposé, et presque personne ne met plus en doute maintenant que la décomposition de sucre ne soit un phénomène biologique.

Il nous reste à examiner quelques points spéciaux concernant la fermentation alcoolique.

On a cru longtemps que la fermentation alcoolique pouvait s'accomplir dans deux circonstances distinctes, suivant que la levure est ajoutée à de l'eau sucrée pure ou à de l'eau sucrée contenant les principes azotés et salins nécessaires à sa nutrition. Dans le premier cas, pensait-on, le ferment agit sans se reproduire, tandis que dans le second cas, qui est celui de la fabrication de la bière, il agit et se reproduit. Il y a plus, Thénard avait observé que dans la fermentation de 20 parties de levure de bière et 100 parties de sucre il ne reste, après que tout dégagement carbonique a cessé, que 13,7 d'un résidu insoluble, qui peut même se réduire à 10 par un nouveau contact avec du sucre. Ainsi la levure, en provoquant la fermentation du sucre pur, se détruirait en partie.

M. Pasteur admettant au contraire, comme prouvé par ses expériences, que le bourgeonnement et la multiplication de la levure sont des phénomènes, qui accompagnent d'une manière constante toute fermentation alcoolique, explique la formation de globules nouveaux dans l'eau sucrée pure par une nutrition aux dépens des matières azotées solubles de la levure primitive. Dans ce cas, ce qu'il y a d'aliment azoté soluble dans le ferment employé se fixe à l'état insoluble sur les globules de formation nouvelle. Il est certain que la levure formée dans un milieu convenable, tel que le moût de bière, est gorgée de principes azotés solubles qu'elle peut céder à l'eau et qui

sont éminemment propres à la nutrition de nouvelle levure.

Pour enlever tous les doutes sur la réalité de cette explication, Pasteur devait faire disparaître ce que les résultats de Thénard cités plus haut offraient de contradictoire avec son opinion.

Le tableau suivant résume ses observations sur les fermentations de sucre pur avec levure.

| | Poids de sucre candi pur. | Poids de levure lavé à l'état frais en pâte molle. | Poids de la levure desséchée à 100 degrés. | Poids de la levure déposée après fermentation, séchée à 100 degrés. | Poids de l'extrait, partie soluble de la levure restant dans le liquide fermenté et insoluble dans le mélange d'alcool et d'éther. | Somme des poids de la levure déposée après la fermentation, et de la partie soluble extractive restant dans la liqueur fermentée. | Excès de cette somme sur le poids de levure mise en fermentation. |
|--------|---------------------------|--|--|---|--|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | gr. | gr. | gr. | gr. |
| A. . . | 100 | 20,000 | 4,626 | 3,230 | 2,320 | 5,550 | 0,934 |
| B. . . | 50 | 10,000 | 2,213 | 2,001 | 0,819 | 2,820 | 0,407 |
| C. . . | 100 | 16,000 | 4,604 | 4,385 | non déterminé. | " | " |
| D. . . | 100 | 10,000 | 2,313 | 2,486 | 1,080 | 3,566 | 1,253 |
| E. . . | 100 | 13,700 | 2,626 | 2,965 | 0,964 | 3,929 | 1,303 |
| F. . . | 100 | 6,254 | 1,198 | 1,700 | 0,631 | 1,331 | 1,133 |
| G. . . | 16 | 3,159 | 0,699 | 0,712 | non déterminé. | " | " |
| H. . . | 4 | 1,474 | 0,326 | 0,335 | " | " | " |
| I. . . | 20 | 1,878 | 0,476 | 0,590 | 0,133 | 0,723 | 0,247 |

On voit que dans les expériences A B C où le poids de levure en pâte est au-dessus de 15 à 20 p. 100 du poids du sucre, on recueille après fermentation, moins de levure qu'on n'en avait mis; or ce sont précisément là les conditions des expériences de Thénard, qui employait et recommandait 20 parties de levure en pâte pour 100 de sucre.

Si, au contraire, le poids de levure en pâte est égal ou inférieur à 10 p. 100 du sucre, on recueille plus de levure qu'on n'en a employée (exp. D, E, F, G, H, I).

Dans les deux cas, en ajoutant le poids des matières extractives, déduction faite de la glycérine et de l'acide succinique, qui sont en dissolution dans la liqueur fermentée et qui proviennent de la levure, au poids de levure restée après fermentation, on trouve que la somme dépasse toujours très sensiblement le poids total de la levure primitive.

L'augmentation s'élève environ à 1,2 ou 1,3 p. 100 du poids du sucre décomposé.

Il semble ressortir de là que dans l'expérience de Thénard la disparition de levure n'était qu'apparente. On en recueille moins parce qu'on en emploie beaucoup et que la partie soluble qui passe dans le liquide est supérieure au poids des nouveaux globules formés.

M. Duclaux (Thèses de la faculté des sciences de Paris, 1865) est arrivé à des résultats du même ordre.

Sur 100 grammes de sucre fermenté, il a trouvé :

| Levure sèche employée. | Levure sèche retrouvée. |
|------------------------|-------------------------|
| 17,32 | 14,02 |
| 8,66 | 8,51 |
| 4,33 | 4,78 |
| 2,16 | 2,58 |

Cependant, dans d'autres essais du même auteur, le poids de levure retrouvée dépassait celui de la levure employée, même dans le cas où la proportion primitive dépassait 16 p. 100 de sucre. Cette différence est attribuée par l'auteur à l'emploi d'une levure initiale plus pauvre en principes extractifs et cédant moins de corps solubles à l'eau.

Les résultats de Pasteur et Duclaux obtenus dans des fermentations faites sur une petite échelle, ont été confirmés par d'autres expérimentateurs, tels que Mayer, Filtz. De tous ces nombres, il semble résulter que, dans certaines limites et avec certaines variations, le poids de levure de nouvelle formation est proportionnel au poids du sucre décomposé et compris entre 1,5-3 p. 100 du sucre fermenté.

Nous devons ajouter cependant que les renseignements fournis par la pratique industrielle et par les fabricants de levure pressée ne sont nullement d'accord avec ces conclusions.

D'après Märcker et Schulze, on pourrait obtenir 28,6 parties de levure sèche pour 100 d'alcool ou ce qui revient au même 14,66 parties de levure sèche pour 100 de sucre décomposé.

Dans la fermentation du moût de raisin, la formation de levure paraît aussi être beaucoup plus grande par rapport au sucre fermenté que ne l'indique le rapport de M. Pasteur.

D'autre part, M. Pasteur, qui s'occupe avec tant de succès de

la fabrication sur une grande échelle de la levure pure, dans la fermentation en vase clos du moût de bière, obtient 1^{kg},500 de levure exprimée, pouvant contenir 30 p. 100 de matière sèche, soit 450 grammes de levure sèche par hectolitre de bière; en admettant que cette bière renferme 8 p. 100 d'alcool, la fermentation aurait porté sur 15^{kg},5 de sucre; il y aurait donc 2^{gr},9 de levure nouvelle pour 100 de sucre décomposé; les nombres ne s'éloignent pas autant que les premiers des résultats obtenus en petit; il est vrai que dans ce calcul, nous avons pris, pour la teneur en alcool, un poids très élevé, et qui doit probablement être abaissé.

La contradiction apparente entre les résultats de la pratique industrielle et des expériences de laboratoire s'explique naturellement si l'on admet que le développement et la multiplication des cellules de levure ne sont pas aussi dépendants de la quantité de sucre décomposé que les expériences de laboratoire semblent l'indiquer, qu'elles peuvent varier dans des limites très étendues, suivant la composition du milieu où s'opère la fermentation.

Cette explication est corroborée par les essais suivants de Mayer (*Landwi. Versuchsz.*, t. XVI, p. 304).

L'auteur met en fermentation deux portions de 190 centimètres cubes de moût de raisin bouilli. Dans l'une il ajoute des traces imperceptibles de lie de vin (*saccharomyces ellips.*), tandis qu'il ensemeince l'autre avec un peu de levure de bière. Lorsque le sucre a disparu, ce qui exige plusieurs semaines, il trouve :

| | Alcool formé. | Sucre corresp. décomposé. | Levure formée. |
|------------------|----------------------|------------------------------|---------------------|
| 1) Sacch. ellip. | 13 ^{gr} ,11 | 25 ^{gr} ,6 | 2 ^{gr} ,38 |
| 2) Sacch. cerev. | 15 20 | 29 7 | 2 04 |

Donc pour 100 de sucre décomposé il s'est formé :

| | | |
|------|-----|-----------|
| N° 1 | 9,2 | de levure |
| N° 2 | 6,8 | — |

nombres beaucoup plus élevés que les résultats obtenus dans les fermentations faites dans d'autres conditions de milieu.

D'un autre côté, M. Pasteur a reconnu que dans les fermentations

tations, en présence de matières azotées et minérales nutritives, il se forme à peu près 1 p. 100 du poids de sucre en levure et produits solubles; un peu moins, par conséquent, que lorsqu'on opère avec de la levure toute formée et de l'eau sucrée pure.

Ainsi 9^{gr},899 de sucre candi pur dissous dans une quantité suffisante d'eau ont été additionnés de 20 centimètres cubes d'eau de lavage bouillie et filtrée de levure fraîche (contenant 0,334 de matière albuminoïde et minérale), on complète à 100 centimètres cubes et on ajoute une trace de levure fraîche. La destruction du sucre est terminée au bout de onze jours; on recueille 0,152 de levure sèche. Le résidu laissé par l'évaporation du liquide, déduction faite de la glycérine et de l'acide succinique, pèse 0,260.

On a employé 0^{gr},334 de matières nutritives et on retrouve 0^{gr},152 levure + 0^{gr},260 matières azoto-minérales solubles; en tout, 0,412. La différence, 0^{gr},078, est due à la fixation de matières hydrocarbonées provenant du sucre.

Lorsque le sucre pur fermente avec une quantité limitée de levure, celle-ci s'épuise et finit par devenir impropre à opérer de nouvelles décompositions du sucre, en l'absence de matériaux nutritifs solubles. Il doit, en effet, en être ainsi. La somme des matériaux nutritifs solubles, ou le devenant pendant la fermentation, contenue dans la levure limitée, étant peu à peu utilisée à la construction de nouveaux globules. Il doit arriver un moment où la vitalité de la levure sera enrayée faute d'aliments. Ce phénomène, de nutrition de la levure à ses propres dépens, n'exclut pas la présence de matières azotées dans le liquide sucré qui ne fermente plus, car il peut se faire qu'une partie des principes azotés éliminés par la levure soit impropre à son alimentation, et ne représente plus que des produits excrémentitiels. La leucine et la tyrosine paraissent appartenir à cet ordre de produits; en effet, des expériences directes de Mayer ont prouvé qu'elles sont impropres au développement.

Dans une fermentation où l'on avait employé, pour faire fermenter 100 grammes de sucre, 1^{gr},198 de levure lavée (poids de matière sèche, contenant 9^{gr},77 p. 100 d'azote) on a recueilli

1,74 de levure après fermentation ; celle-ci contenait 5,5 p. 100 d'azote ; le résidu extractif du liquide fermenté, déduction faite de l'acide succinique et de la glycérine, pesait 0^{gr},600 et renfermait 3,8 p. 100 d'azote. Dans ces conditions la levure était épuisée : c'est-à-dire que les principes solubles azotés contenus dans le liquide étaient devenus impropres au développement de nouvelles cellules et représentaient des produits excrémentitiels. Nous savons que parmi ces produits laissés indéterminés par M. Pasteur, il faut compter la leucine et la tyrosine.

Cette expérience nous montre la cause de la diminution d'azote dans la levure après fermentation. D'une part le poids total de la levure a augmenté par l'adjonction de principes (cellulose) fournis par le sucre et non azotés, d'autre part la levure primitive a cédé au liquide des produits solubles azotés et devenus impropres à sa nutrition. Ainsi s'explique d'une manière très naturelle la prétendue disparition ou diminution de l'azote de la levure pendant la fermentation avec sucre pur, phénomène qui avait tant intrigué Thénard et que Doebereiner avait cru, à tort, pouvoir attribuer à la formation de sels ammoniacaux. Nous avons déjà vu, d'après les expériences très précises de Pasteur, que l'ammoniaque du liquide tend plutôt à disparaître qu'à augmenter pendant la fermentation.

D'après Dubrunfaut (Comp. rend., juillet 1871), le moût de bière qui, dans les conditions usuelles, reproduit sept fois le poids de la levure employée, est tellement riche en matières reproductrices du ferment qu'il est loin d'être épuisé par ce travail. Une addition de sucre provoque un accroissement proportionnel au supplément de sucre ajouté. Si le sucre n'a pas été employé en excès, la constitution normale du ferment en azote n'a pas changé ; dans le cas contraire, le titre en azote se place entre celui de la levure féconde et de la levure stérile. Toutes les levures stériles issues de fermentations autres que celles du moût de bière sont dans ce cas ; elles donnent un titre en azote placé entre 0,10 et 0,05.

La levure de bière, malgré la perte de poids que lui font subir les lavages, conserve son titre en azote, tandis que la richesse en sels passe de 0,10 à 0,02. Quelque multipliés que soient les lavages, on ne peut jamais obtenir une eau de lavage

tout à fait exempt de matières albuminoïdes et salines ; ce qui prouve que la levure continue à vivre, même dans l'eau pure, et à y exercer ses fonctions vitales sur sa propre substance, comme le font les animaux condamnés à l'inanition.

Les cendres des eaux de lavage sont toujours alcalines ; celles de la levure lavée sont acides ; ce qui conduit à faire admettre dans la levure la présence du phosphate ammoniaco-magnésien, qui, vu son insolubilité, reste dans le ferment lavé. M. Dubrunfaut a, comme M. Pasteur, reconnu la disparition constante d'une certaine proportion d'ammoniaque du milieu, comme fait parallèle à la reproduction du ferment ; mais en même temps les cendres devenaient plus acides. L'addition de sels ammoniacaux à des fermentations faites dans de mauvaises conditions a eu pour résultat de faciliter la fermentation et la conservation du litre en azote, 0,4 de la levure.

Tous ces sels ont donné des résultats supérieurs à ceux du témoin qui n'a transformé que 0,50 de sucre en alcool.

L'acide nitrique, dans cette expérience, a complètement disparu. Il résulte donc des observations de Dubrunfaut que la levure ne fait pas exception au point de vue de la facilité d'assimilation de l'acide nitrique.

En vue de préciser, mieux qu'on ne pouvait le faire avec les données connues jusqu'alors, le sens des phénomènes chimiques qui se passent dans la cellule de levure, pendant qu'elle remplit ses diverses fonctions : respiration, fermentation du sucre, désassimilation de ses propres principes convertis en substances solubles, développement enfin lorsque le milieu dans lequel elle vit lui fournit des éléments nutritifs, j'ai institué une série d'expériences avec la collaboration de M. Destrem.

Nous avons d'abord comparé les modifications chimiques éprouvées par la levure mise en présence du sucre qu'elle fait fermenter, à celles que subit la levure abandonnée à elle-même dans des conditions identiques, à l'exception de la présence du sucre.

Nous avons vu plus haut que les quantités d'oxygène consommé par la levure ou celles du sucre décomposé, dans l'unité de temps sont proportionnelles à la quantité de levure employée, indépendantes entre certaines limites de la dose d'oxygène ou de sucre et fonctions de la température.

Il est évident, par conséquent, que l'élément temps ne peut être négligé lorsqu'on veut comparer deux expériences faites avec des systèmes placés dans des conditions distinctes.

Ainsi, si l'on décompose entièrement 10 grammes de sucre avec 1, 2, 3, 4, etc., parties de levure, les systèmes à la fin ne seront plus comparables, puisque les durées des expériences ne seront plus les mêmes et que dans les plus prolongées, la levure aura pu éprouver des modifications étrangères à la fermentation, modifications qui seront forcément moins accentuées dans les essais à courte durée.

L'expérience dont nous donnons ici les résultats abrégés a été faite avec une levure haute, fraîche, venue d'Alsace et portant la marque C. H. P.

Elle contenait 27,69 p. 100 de matériaux solides; 100 parties de résidu sec ont donné :

| | |
|--|-------|
| Matières minérales (cendres) | 8,074 |
| Carbone | 46,68 |
| Hydrogène | 6,58 |
| Azote. | 10,01 |
| Oxygène | 28,57 |

100 grammes de levure fraîche épuisée par l'eau bouillante laissent 21^{rs}, 01 de résidu insoluble qui contient pour 100 parties :

| | |
|-----------------------------|-------|
| Matières minérales. | 1,00 |
| Carbone | 50,49 |
| Hydrogène | 7,08 |
| Azote. | 10,57 |
| Oxygène | 30,86 |

Avec cette levure on a formé deux systèmes :

I. L'un composé de :

| | |
|----------------------------------|------------|
| Levure C. H. T fraîche | 50 grammes |
| Sucre blanc ordinaire. | 100 — |
| Eau. | 1000 — |

II. L'autre composé de :

| | |
|----------------------------------|------------|
| Levure C. H. T fraîche | 50 grammes |
| Eau. | 1000 — |

Les deux systèmes ont été constitués au même moment et placés simultanément dans une étuve chauffée à 30° centigrades. L'expérience a duré vingt-quatre heures ; tout le sucre du premier système avait disparu. Après vingt-quatre heures, les liquides sont portés à l'ébullition et filtrés sur filtres tarés ; les résidus lavés à l'eau chaude sont séchés à 110° et pesés.

Les liquides filtrés sont évaporés dans le vide ; le résidu est séché dans le vide sec à 100° et pesé.

Chaque expérience a été faite en double ; les résultats fournis par deux systèmes identiques se sont trouvés concordants.

Voici les données fournies :

1° Système I.

Résidu insoluble 9^{gr},445, contenant p. 100 :

| | |
|---------------------|-------|
| Cendres | 1,35 |
| Carbone | 49,08 |
| Hydrogène | 7,09 |
| Azote | 7,85 |
| Oxygène | 34,63 |

Résidu soluble visqueux, 9^{gr},48 à 9^{gr},61, contenant p. 100 :

| | |
|---------------------|-------|
| Cendres | 9,07 |
| Carbone | 40,08 |
| Hydrogène | 6,83 |
| Azote | 6,32 |
| Oxygène | 36,35 |

2° Système II.

Résidu insoluble, 8^{gr},76, contenant p. 100 :

| | |
|---------------------|-------|
| Cendres | 1,65 |
| Carbone | 51,87 |
| Hydrogène | 8,13 |
| Azote | 9,98 |
| Oxygène | 28,37 |

Résidu soluble 4^{gr},06 à 4^{gr},18, contenant p. 100 :

| | |
|---------------------|-------|
| Cendres | 23,02 |
| Carbone | 34,05 |
| Hydrogène | 5,82 |
| Azote | 10,51 |
| Oxygène | 26,42 |

En ramenant toutes ces déterminations à 100 de levure fraîche initiale, on peut dresser le tableau suivant :

| | LEVURE FRAICHE C. H. T. | | | SYSTÈME II | | | SYSTÈME I | | |
|-------------|----------------------------|----------------|-------|------------------|----------------|-------|------------------|----------------|-------|
| | Partie insol. | Partie sol. | Somme | Partie insol. | Partie sol. | Somme | Partie insol. | Partie sol. | Somme |
| Cendres . . | 0,21 | 2,02 | 2,23 | 0,28 | 1,94 | 2,15 | 0,25 | 1,84 | 2,09 |
| Carbone . . | 10,60 | 3,16 | 13,76 | 9,18 | 2,86 | 12,04 | 9,27 | 7,75 | 17,02 |
| Hydrogène . | 1,48 | 0,35 | 1,83 | 1,41 | 0,48 | 1,89 | 1,34 | 1,30 | 2,64 |
| Azote . . . | 2,20 | 0,61 | 2,81 | 1,62 | 0,88 | 2,63 | 1,50 | 1,20 | 2,70 |
| Oxygène . . | 6,50 | 0,50 | 7,00 | 5,04 | 2,24 | 7,15 | 6,64 | 7,91 | 14,50 |
| TOTAL . . | 20,99 | 6,64 | 27,63 | 17,53 | 8,40 | 25,86 | 19,00 | 20,00 | 38,95 |

De ces nombres on peut tirer les conséquences suivantes :

La digestion sans sucre de la levure, pendant vingt-quatre heures et à 30°, occasionne une perte en matériaux solides égale à 1,77. Cette perte s'explique naturellement par la fermentation secondaire observée par M. Pasteur.

Avec levure et sucre on trouve une augmentation de matériaux solides égale à 11,3 pour 100 de levure ou pour 200 de sucre, soit de 5,7 p. 100 de sucre. Si l'on veut admettre que la perte observée avec le système II s'est produite de même dans le système I, la part des matériaux solides non fermentescibles provenant de 100 de sucre serait plus forte et égale à 7,4.

Après fermentation, le résidu insoluble contient moins de carbone et d'azote que celui de la levure fraîche, la quantité d'oxygène est la même.

Comparé au résidu insoluble de levure simplement digérée pendant vingt-quatre heures, le résidu insoluble, après fermentation, se montre comme renfermant à peu près la même quantité de carbone, d'hydrogène et d'azote.

En tenant compte du degré d'incertitude qui résulte des erreurs possibles et normales des analyses élémentaires, on peut conclure de tout cela que la désassimilation (transformation du protoplasma insoluble et non diffusible en produits solubles et diffusibles) est qualitativement et quantitativement la même avec ou sans fermentation.

L'augmentation très considérable (43,09 p. 100 de levure fraîche) des matériaux solides dans le système I porte surtout sur la partie soluble (20 au lieu de 8,40, soit 14,6 p. 100 de levure). Ces matériaux solubles proviennent du sucre; leur nature est indéterminée à l'exception de la glycérine et de l'acide succinique signalés par Pasteur.

On voit aussi que le départ d'azote sous forme de composés amidés diffusibles est sensiblement plus grand dans le système I (avec sucre), que dans le système II, ce qui tend à prouver que l'acte de faire fermenter le sucre, loin d'entraver la désassimilation des matières azotées, tend plutôt à l'augmenter.

D'autres expériences du même genre ont été instituées en vue d'étudier l'influence qu'exerce la respiration sur la composition de la levure.

Nous résumerons nos résultats en donnant dans chaque cas le poids du résidu insoluble pour 100 de levure et en traduisant par une formule chimique non moléculaire les analyses élémentaires de ces résidus.

| | RÉSIDU INSOLUBLE | |
|--|-----------------------------------|---|
| | Poids p. 100 de levure fraîche | Formule traduisant sa composition élémentaire |
| I. Levure fraîche | 19,62 à 21,0 | $C^{18}H^{31}Az^3O^8$ |
| II. Levure conservée pendant 30 heures à 30° dans un milieu aqueux aéré continuellement. | 18,62 — 19,5 | $C^{18}H^{31}Az^6O^8$ |
| III. Levure conservée pendant 30 heures à 30° dans un milieu aqueux exempt d'oxygène. . . | 14,50 — 15,0 | $C^{20}H^{33}Az^3O^9$ |
| IV. Levure ayant fait fermenter pendant 30 heures à 30° le double de son poids de sucre à l'abri de l'oxygène . . | 16,50 — 16,8 | $C^{24}H^{41}Az^3O^{13}$ |
| V. Levure ayant fait fermenter pendant 30 heures à 30° le double de son poids de sucre dans un milieu constamment aéré | 23,15 | $C^{22}H^{37}Az^3O^{11}$ |

D'après ces expériences et avec la levure employée, la respiration maintient intacts le poids absolu et la composition élémentaire du résidu insoluble.

La digestion à l'abri de l'air diminue le poids absolu du résidu insoluble et élève la part des principes hydrocarbonés¹ par le fait du départ des matières protéiques désassimilées et devenues solubles.

La fermentation à l'abri de l'air conduit au même résultat et pour les mêmes raisons, en même temps il se forme un peu de matière hydrocarbonée empruntée au sucre.

Dans la fermentation en présence de l'oxygène, la désassimilation n'a pas lieu et de plus on observe la fixation d'une forte proportion de matière hydrocarbonée. Ces résultats s'accordent avec les idées que M. Pasteur a introduites dans la science sur le rôle de l'oxygène *libre* dans le développement et la nutrition des ferments figurés.

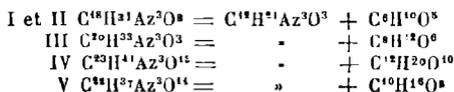
La même levure haute CHT qui avait servi aux expériences précédentes nous a fourni un résultat très intéressant que je n'ai pas pu reproduire depuis avec des levures basses ou des levures de grain.

Privée préalablement de ses principes solubles par un lavage complet à l'eau froide, elle décompose encore le sucre à l'abri de l'air avec assez de rapidité.

100 grammes de levure fraîche lavée ont fait fermenter 200 grammes de sucre à 30°, en près de vingt-quatre heures.

Mais dans ce cas, les poids du résidu insoluble au lieu de se maintenir à peu près constant ou de ne diminuer que faiblement, s'abaisse d'environ 40 p. 100 et très notablement plus qu'avec la même levure simplement digérée.

(1) Les formules schématiques précédentes peuvent être décomposées en une formule protéique unique et en une formule hydrocarbonée. On voit ainsi mieux le rapport entre la cellulose et la matière protéique de la levure. On a :



Dans le n° III la proportion de cellulose a augmenté par suite du départ des matières azotées.

Dans le n° IV, il y a à la fois départ de matières azotées et fixation de cellulose. Enfin dans le n° V il n'y a que fixation de cellulose.

100 grammes de levure fraîche lavée, contenant 19 à 20 grammes de matériaux insolubles, n'en donnent plus que 11^{es}, 8 à 13^{es}, 2, après fermentation de 200 grammes de sucre, tandis que la même levure digérée en donne encore 15^{es}, 8 à 16 grammes.

La perte est due à des matériaux protéiques convertis en composés amidés solubles. En effet, le 19 grammes de levure initiale contenaient 1^{er}, 9 d'azote; les 11^{es}, 8 de levure insoluble, après fermentation, en renfermaient 0^{es}, 57. Il s'est donc éliminé 1^{er}, 33 d'azote par suite de l'hydratation des matières protéiques; celles-ci renfermant en moyenne 16 grammes p. 100 d'azote, 1^{er}, 33 d'azote représentent 6^{es}, 3 de matière protéique. Or, 19^{es} — 8,3 = 11^{es}, 7 ou le poids de levure retrouvée.

Dans une autre expérience, 100 grammes de levure fraîche lavée, contenant 18^{es}, 4 de matériaux insolubles représentant 1^{er}, 895 d'azote, ont donné, après fermentation de 200 grammes de sucre, 13 grammes de résidu insoluble contenant 0^{es}, 854 d'azote; la perte en azote était donc de 1^{er}, 04 équivalant à 6^{es}, 5 de substance protéique, nombre à peu près égal à la perte constatée.

100 grammes de levure lavée correspondent à 18^{es}, 4 de matériaux insolubles contenant 1^{er}, 895 d'azote ont donné après digestion à l'abri de l'air, 15^{es}, 84 de résidu insoluble, contenant 1^{er}, 71 d'azote; la perte en azote est de 0^{es}, 183 valant 1^{er}, 1 de matière protéique, la perte réelle de substance était de 2,6. Pendant la digestion il y a donc eu aussi départ de substance hydrocarbonée (2^{es}, 6 — 1^{er}, 1 = 1^{er}, 5). Cette perte correspond à la fermentation secondaire.

Dans les fermentations avec levure lavée dans un milieu aéré, 100 grammes de levure fraîche ont seulement perdu 3^{es}, 2 de matière protéique en fixant en même temps 4^{es}, 84 de substance hydrocarbonée. Le poids du résidu insoluble s'est élevé de 18^{es}, 4 à 20^{es}, 4.

Ainsi avec la levure lavée la fermentation n'est pas entravée, mais la levure désassimile, pendant qu'elle fait fermenter le sucre, plus d'azote que par simple digestion. Cette expérience établit l'indépendance de la fermentation et de la nutrition.

CHAPITRE VI

ACTION DE DIVERS AGENTS CHIMIQUES ET PHYSIQUES SUR LA MARCHÉ DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

On savait depuis longtemps, que certains composés chimiques, surtout ceux qui coagulent les substances albuminoïdes, et désorganisent les tissus, ou qui par leur présence en quantités suffisantes sont incompatibles avec la vie, s'opposent à la fermentation; tels sont les acides et les alcalis à doses convenables, le nitrate d'argent, le chlore, l'iode, les sels ferriques, cuivriques, plombiques solubles, le tanin, le phénol, la créosote, le chloroforme, l'essence de moutarde, l'alcool lorsque sa dose dépasse 20 p. 100, l'acide prussique et l'acide oxalique, même à doses assez faibles.

Des excès de sel neutre alcalin ou de sucre agissent de même en diminuant dans l'intérieur de la cellule la dose minima d'eau qui est nécessaire à la manifestation de son activité vitale.

L'oxyde rouge de mercure, le calomel, le peroxyde de manganèse, les sulfites et les sulfates alcalins, les essences de térébenthine et de citron, etc., entravent et enrayent également la fermentation alcoolique.

Les acides phosphorique et arsénieux sont, au contraire, sans action.

On doit à M. Dumas (*Ann. chim. phys.*, 5^e série, t. III, 1874, p. 81) un travail très étendu sur la question qui nous occupe en ce moment; nous en donnerons ici les principaux résultats. L'illustre chimiste a d'abord prouvé, par des expériences multiples,

que la fermentation du sucre sous l'influence de la levure est susceptible d'être étudiée comme un phénomène régulier qui, soumis à des perturbations déterminées, serait capable d'en traduire les influences avec précision.

Ainsi à 24°, 20 grammes de levure décomposent 1 gramme de sucre (glucose) en vingt-trois à vingt-quatre minutes (moyenne de plusieurs essais concordants).

Dans une autre série d'expériences on a trouvé que 100 grammes de levure décomposent à la même température 1 gramme de glucose en vingt-quatre minutes. Ainsi la levure agirait sur la glucose, avec la même rapidité à la dose de 20 grammes de levure pour 1 de glucose, qu'à la dose de 100 p. 1.

Des expériences faites avec une même levure, en comparant le sucre de canne à la glucose, ont montré que la destruction de 1 gramme de sucre de canne par 40 grammes de levure avait une durée maximum de trente-quatre minutes, tandis que 1 gramme de glucose n'exigeait que seize à dix-sept minutes.

Si l'on délaye de la levure de bière dans de l'eau et qu'on ajoute à des volumes égaux du liquide contenant, par exemple, 150 cc. d'eau et 10 grammes de levure, des quantités de sucre représentées par 0, 5, 1 gramme, 2 grammes, 4 grammes, on trouve que le temps nécessaire à la destruction du sucre est exactement proportionnel à sa quantité, ou en d'autres termes, dans des circonstances identiques, la durée de la fermentation est proportionnelle à la quantité de sucre, la levure étant en excès bien entendu.

En prenant donc pour longueur de l'axe des abscisses les quantités de sucre et pour axe des ordonnées le nombre de minutes nécessaires pour la disparition du sucre, on obtient une ligne droite.

M. Dumas évalue approximativement, d'après ses résultats, que pour décomposer 1 gramme de sucre en une heure il faut 400 milliards de cellules, en les supposant toutes en activité.

Le fait signalé par Dumas, qu'à partir d'une certaine limite, un excès de levure n'active pas la fermentation d'une même quantité de sucre paraît, *a priori*, contraire à ce que l'on était en droit d'attendre.

En effet si la décomposition du sucre est un phénomène biologique qui se passe dans l'intérieur de chaque cellule, dans laquelle pénètre le sucre, s'il doit être attribué à la nutrition des globules de levure, il semble que la rapidité de la décomposition d'une même quantité de sucre doit croître indéfiniment avec le nombre des cellules mises en jeu, de même que dans un repas la quantité d'aliments consommés croît avec le nombre des convives.

Les expériences suivantes donnent un résultat qui est entièrement d'accord avec les prévisions théoriques et aussi avec les faits et les lois observés concernant l'absorption de l'oxygène.

Soit une série de matras, muni chacun d'un tube de dégagement permettant de recueillir l'acide carbonique formé dans des tubes gradués, sur le mercure; introduisons dans chaque matras le même poids de levure délayée dans la même quantité d'eau et ajoutons aux divers matras des quantités croissantes, d'abord faibles de dextrose. On pourra apprécier d'une manière assez approchée la quantité de dextrose décomposée à un moment donné, en mesurant le volume du gaz.

Si après un temps convenable nous portons les doses de sucre en abscisses et les volumes de gaz carbonique en ordonnées, les points ainsi déterminés se trouveront sur deux droites dont la plus rapprochée de l'origine s'éloigne de l'axe des x et dont la seconde est parallèle à cet axe.

Ainsi, pour une même quantité de levure et avec des doses croissantes de sucre, la quantité de dextrose décomposée est jusqu'à une certaine limite proportionnelle à la dose initiale du corps fermentescible. A partir de cette limite la quantité de sucre décomposé dans l'unité de temps par l'unité de poids de levure reste constante. On conçoit que pour fermenter, le sucre doit pénétrer par endosmose dans la cellule; avec des liquides sucrés très étendus, la quantité de sucre qui peut pénétrer dans le protoplasma dans l'unité de temps est inférieure à celle que la cellule est apte à dédoubler dans le même temps.

Tant qu'il en sera ainsi, l'activité de la fermentation croîtra avec la dose de sucre, la diffusion ou l'endosmose étant proportionnelle à la concentration du liquide sucré. Mais à partir

du moment où la concentration sera égale ou supérieure à celle qui permet une pénétration équivalente à la consommation, la fermentation gardera la même activité et le temps nécessaire à la destruction totale du sucre sera proportionnel à la quantité de sucre.

En renversant l'expérience précédente et en ajoutant des quantités croissantes de levure à des doses égales de solution sucrée, on voit facilement que les quantités de sucre décomposé sont proportionnelles aux doses de levure. On obtient une droite inclinée à 45° sur l'axe des x (axe des doses de levure).

Nous n'avons pas observé dans cette expérience le fait, constaté par Dumas, d'une limite maxima de levure à partir de laquelle l'activité du phénomène chimique devient indépendante de la quantité de levure; il est vrai que nous n'avons pas employé comme Dumas 20 grammes et plus de levure pour 1 gramme de sucre.

Température. — Nous avons à déterminer trois données relatives au ferment alcoolique, en ce qui touche la chaleur. 1° Quelles sont les deux limites, minima et maxima, compatibles avec la vie du ferment? 2° A quelle température la fermentation alcoolique, c'est-à-dire l'activité du ferment est-elle la plus grande? La limite inférieure compatible avec la vie du saccharomyces n'est pas encore déterminée avec précision. Ce n'est guère que vers 8 à 10° que la cellule révèle son énergie chimique par des réactions sensibles (fermentation, absorption d'oxygène), mais elle peut impunément être refroidie vers zéro et même au-dessous, si l'on a soin de ne la soumettre après congélation qu'à des variations progressives très lentes, pour amener la fusion de l'eau congelée dont elle est baignée.

La limite supérieure varie suivant que l'on opère sur de la levure préalablement séchée ou encore humide.

Ainsi le ferment desséché avec précaution peut être chauffé jusque vers 100° sans perdre sa vitalité.

La levure humide perdrait son activité vers 53° (Mayer) ou tout au moins à une température inférieure à 60° .

Quant aux conditions de température les plus favorables pour une bonne fermentation elles paraissent comprises entre

25 et 30°, variant dans des limites peu étendues suivant la nature du milieu et celle du ferment; même dans le voisinage de 0° la production d'alcool par la levure n'est pas absolument enrayée.

Électricité. — Les étincelles d'une machine de Holtz, ou les étincelles d'induction passant à travers de l'eau contenant de la levure ne modifient ni son pouvoir inversif ni son pouvoir comme ferment alcoolique.

Gaz. Lumière. — La marche des fermentations est plus lente dans l'obscurité. M. Dumas a placé de la levure de bière en bouillie épaisse dans des flacons pleins d'oxygène, d'hydrogène, d'azote, d'oxyde de carbone, de protoxyde d'azote, d'hydrogène protocarboné. Au bout de trois jours cette levure, mise en présence du sucre, agissait comme la levure conservée à l'air et le microscope ne révélait aucune altération.

La fermentation alcoolique est plus lente dans le vide.

Soufre. — La présence du soufre en fleur en proportions même égales à celles de la levure supposée sèche n'a pas entravé sensiblement la fermentation alcoolique, comme on l'avait annoncé, seulement l'acide carbonique qui se dégage contient de 1 à 2 p. 100 d'hydrogène sulfuré.

Action des acides. — La levure est toujours acide. Si on neutralise l'acide libre qui s'y trouve par de l'eau de chaux, on trouve qu'au bout de quelque temps (cinq minutes) l'acidité reparait. On est conduit ainsi, pour obtenir une neutralité persistante, à ajouter par gramme de levure essayée, une quantité de chaux équivalente à 0,003 d'acide sulfurique normal. M. Dumas s'est demandé si l'acidité de la levure peut être augmentée sans que son pouvoir en soit altéré et si la nature spécifique de l'acide exerce quelque influence sur le résultat.

Expérimentant sur les acides sulfurique, sulfureux, azotique, phosphorique, arsénieux, borique, acétique, oxalique et tartrique, il met en présence d'un mélange de sucre, d'eau et de levure (5 grammes levure, 10 grammes sucre, 25 grammes eau) des quantités respectives de ces divers acides, successivement équivalentes, décuples, centuples du pouvoir acide de la levure.

L'addition de l'un de ces acides, même à faible dose, n'a hâté ni le départ ni la fin de la fermentation. Elle a souvent arrêté la destruction du sucre. En général, lorsqu'on ajoute une quantité d'acide équivalant à 100 fois le poids de l'acide contenu dans la levure, la fermentation n'a pas lieu. Pour l'acide chlorhydrique et l'acide tartrique, il a fallu en ajouter 200 équivalents pour atteindre ce résultat, quoique 10 équivalents de ces acides suffisent pour rendre la fermentation traînante et incomplète.

Action des bases. — M. Dumas ayant fait marcher ensemble huit expériences de fermentation ne différant entre elles que par des additions croissantes, depuis 0, d'ammoniaque (quantités équivalentes à 0, 1, 2, 3, 4, 8, 16, 24 fois l'acide de la levure employée), a observé que dans les cinq premiers vases la fermentation était égale. Ce n'est que pour des doses égales à 8 et même 16 fois l'acide de la levure qu'elle commence à se déclarer plus lentement, mais au bout de quelques heures la levure est redevenue acide. Dans le flacon contenant une dose d'ammoniaque équivalente à 24 fois l'acidité de la levure, il ne s'est manifesté aucune fermentation.

La levure paraît jouir du pouvoir de produire ou d'exhaler un acide qui neutralise les bases en contact avec elle; mais ce pouvoir est limité. En effet, en ajoutant de la chaux éteinte ou de la magnésie calcinée en quantités égales à la moitié du poids de la levure, il n'y aura pas de fermentation. Les oxydes de zinc, de fer et même la litharge sont au contraire sans influence.

Les alcalis tendent à arrêter la fermentation, mais ne la suppriment qu'autant que leur dose est assez forte.

Le carbonate de soude n'agit que si on en élève la dose à 70 grammes pour 10 grammes de levure et 200 centimètres cubes d'eau sucrée au 1/10. Le sous-carbonate de magnésie n'agit pas.

Action des sels. — M. Dumas a laissé séjourner la levure pendant trois jours dans des solutions saturées de divers sels et a ensuite essayé son action sur la dissolution du sucre candi; ses expériences l'ont conduit à classer les sels en quatre catégories, savoir :

1° La fermentation du sucre est totale, plus ou moins rapide :

| | | |
|------------------------|--|-----------------|
| Sulfate de potasse. | Phosphate | } de soude. |
| Chlorure de potassium. | Sulfate | |
| Phosphate | Bisulfate | |
| Sulfoviniate | Pyrophosphate | |
| Sulfométhylate | Lactate | } |
| Hyposulfate | Phosphate d'ammoniaque. | |
| Hyposulfite de chaux. | Sulfate de magnésie. | |
| Formiate | Chlorure de calcium. | |
| Tartrate | Phosphate de chaux. | } de potasse. |
| Bitartrate | Sulfate de chaux. | |
| Sulfocyanure | Chlorure de strontium. | } de potassium. |
| Cyanoferrure | Alun. | |
| Cyanoferride | Sulfate de zinc. | |
| | Sulfate de cuivre au $\frac{1}{40000}$. | |

2° Fermentation partielle du sucre, et plus ou moins ralentie :

| | |
|-------------------------|---|
| Bisulfite. | Savon blanc. |
| Nitrate | Nitrate d'ammoniaque. |
| Butyrate | Tartrate d'ammoniaque. |
| Iodure | Sel de Seignette. |
| Arséniat | Chlorure de baryum. |
| Sulfite de soude. | Sulfate ferreux au $\frac{1}{350}$. |
| Hyposulfite de soude. | Sulfate de manganèse au $\frac{1}{350}$. |
| Hyposulfite de potasse. | |
| Borax. | |

3° Inversion plus ou moins avancée du sucre, sans fermentation :

| | |
|------------------|---------------------|
| Azotite | Sel marin. |
| Chromate | Acétate de soude. |
| Bichromate | Sel ammoniac. |
| Nitrate de soude | Cyanure de mercure. |

4° Ni inversion, ni fermentation :

| | |
|-----------------------|------------------------|
| Acétate de potasse. | Monosulfure de sodium. |
| Cyanure de potassium. | |

Ainsi, parmi les sels étudiés il en est qui favorisent jusqu'à un certain point la fermentation, ou qui du moins lui laissent

parcourir son cours tout entier, sans contrariété; tel est le tartrate de potasse. Il en est d'autres qui retardent la fermentation et qui la rendent incomplète, le phénomène s'arrêtant lorsque la liqueur renferme encore beaucoup de sucre interverti.

Il en est qui ne permettent pas à la fermentation de s'établir, quoique le sucre ait été partiellement interverti.

Il en est enfin qui, non seulement ne permettent pas à la fermentation de s'établir, mais qui s'opposent même à l'inversion du sucre.

La strychnine est sans action sur les propriétés de la levure.

M. Dubrunfaut a institué une série d'expériences pour reconnaître le rôle que jouent les différents sels minéraux dans la fermentation du sucre, et le développement de la levure. Il se servit, à cet effet, de dissolutions de sucre pur à 10 p. 100, et les additionna de divers sels minéraux et de levure en pâte; tous pris au poids de 0,05 du poids du sucre. Le ferment employé ne représentait donc en matière sèche que 0,01 du poids du sucre. On a essayé : 1° le nitrate de potasse; 2° le sulfate d'ammoniaque; 3° le sulfate de potasse; 4° le phosphate de chaux; 5° le sulfate de magnésie; 6° le sulfate de chaux; 7° le sulfate de soude; 8° un moût sans sels minéraux, comme témoin.

Fractions de sucre décomposé
en même temps.

| | |
|-----------------------------|------|
| Sulfate de soude | 0,52 |
| — de chaux | 0,62 |
| — de magnésie. | 0,73 |
| Phosphate de chaux. | 0,80 |
| Sulfate de potasse. | 0,88 |
| — d'ammoniaque. | 0,94 |
| Nitrate de potasse. | 1,10 |

CHAPITRE VII

LA FERMENTATION ALCOOLIQUE DU SUCRE PEUT ÊTRE PROVOQUÉE PAR D'AUTRES CELLULES QUE CELLES DES LEVURES ALCOOLIQUES

Nous devons aborder maintenant une question d'une haute importance dans l'histoire des fermentations en général. Nous admettons avec M. Pasteur que la fermentation alcoolique et les autres phénomènes de même ordre, tels que les fermentations lactique, butyrique, etc., sont les manifestations palpables de certaines fonctions physiologiques des ferments ou êtres vivants d'un ordre inférieur. Ceci posé, on peut se demander si le pouvoir de décomposer la glucose en alcool et acide carbonique, ou bien encore de la convertir en acide lactique, n'appartient, pour chaque fermentation spéciale qu'à un seul être vivant, à un seul ferment, ou tout au moins à des espèces très voisines, comme nous l'avons vu pour les espèces du genre *saccharomyces*, ou bien si ces réactions sont des conséquences de la vie cellulaire en général, lorsque les cellules organisées sont placées dans des conditions spéciales. Dans cette hypothèse, les ferments n'auraient d'autre avantage par rapport aux cellules vivantes, que d'offrir ces manifestations à un degré plus énergique, plus intense.

Il est facile d'entrevoir a priori ce qu'une pareille idée, si elle était juste, ouvrirait d'horizons nouveaux pour la chimie biologique, et quel vaste champ d'expériences serait offert à la physiologie chimique.

Sans aucun doute cette pensée a dû s'offrir, pour ainsi dire d'elle-même, à l'esprit des savants habitués à réfléchir sur

ces questions délicates des réactions dans les organismes vivants, mais c'est à M. Pasteur que revient l'honneur de l'avoir formulée nettement, en s'appuyant sur des expériences positives. (Pasteur, *Comp. rend. de l'Acad. des sciences*, t. LXXV, p. 784.) Ces expériences ont été instituées en vue de prouver que la fermentation alcoolique du sucre peut être provoquée par d'autres organismes que les cellules du saccharomyces, notamment par les cellules élémentaires des grands végétaux, telles qu'on les trouve dans les fruits, les feuilles, etc. Les travaux de MM. Lechartier et Bellamy sur la fermentation alcoolique des fruits (*Compt. rend. de l'Académie*, 1869 et 1872, t. LXXV, p. 1203, 1874, t. LXXIX, p. 949 et 1006) sont dirigés dans la même voie, et conduisent, comme nous allons le voir, à cette conséquence capitale, à savoir que les organes élémentaires des végétaux en général sont doués, quoique à un moindre degré que les cellules de levure, du pouvoir de provoquer la fermentation alcoolique.

Des faits analogues avaient été observés par d'autres expérimentateurs; ainsi, M. Bérard nous a appris, dès 1821, que lorsque des fruits sont placés dans l'air ou dans le gaz oxygène, il disparaît un certain volume de gaz, en même temps qu'il y a formation d'un volume à peu près égal de gaz acide carbonique. Si ces fruits sont abandonnés, au contraire, dans le gaz acide carbonique ou dans un autre gaz inerte, il y a encore formation de gaz carbonique en quantité notable, « comme par une sorte de fermentation ».

De son côté, M. Frémy avait montré que lorsqu'on abandonne des grains d'orge dans de l'eau sucrée, il se produit dans l'intérieur du fruit une fermentation intracellulaire incontestable (*Comp. rend. de l'Acad. des sciences*, t. LXXV, p. 976 et 1060). Le même savant a observé la production d'alcool et d'acide carbonique dans l'intérieur des fruits (poires, cerises), mais guidé par des idées théoriques préconçues, il n'a pas donné à ses intéressantes observations l'interprétation qu'elles peuvent recevoir.

M. Frémy admettait que les ferments se forment sous l'influence de l'organisme vivant. « Comme tous les organismes en voie de développement, dit-il, le ferment alcoolique peut se

présenter sous les formes les plus diverses; il existe déjà, mais à l'état insaisissable, dans le suc du grain de raisin que l'on fait sortir du fruit par la pression et qui paraît clair; bientôt il apparaît sous l'aspect de petits corpuscules microscopiques très ténus; prenant ensuite un nouveau développement, il se précipite au fond des liqueurs avec la forme bien connue des grains de levure. J'ai examiné bien souvent au microscope les sucs et le parenchyme des fruits, avant ou après leur fermentation, et j'affirme que j'y ai trouvé une quantité innombrable de corpuscules qui présentent toute l'apparence de ferments organisés. »

Ainsi, on le voit d'après cette citation, pour M. Frémy, la fermentation intra-cellulaire du fruit, ne serait pas une conséquence immédiate des fonctions biologiques de la cellule vivante; il y a un intermédiaire, le ferment, créé par l'organisme et qui provoque le dédoublement.

Au point de vue historique, nous devons relever que les expériences de MM. Lechartier et Bellamy ont précédé celles de M. Pasteur; nous résumerons ici les résultats observés par ces savants :

1° *Recherches de M. Lechartier.* — Cet observateur place les fruits (poires, pommes, citrons, cerises, châtaignes, nèfles, pommes de terre, graines de froment et de lin, groseilles) dans des éprouvettes à pieds qui communiquent avec des éprouvettes plus petites placées sur la cuve à mercure. Dans ces conditions, la totalité de l'oxygène de l'atmosphère confinée où les fruits sont conservés est absorbée. Cette absorption est accompagnée et suivie d'une production considérable de gaz carbonique. Le dégagement d'acide carbonique se partage généralement en deux périodes distinctes; dans la première, après l'absorption du gaz oxygène de l'air resté dans les éprouvettes, le dégagement de gaz acide carbonique s'effectue d'abord d'une manière régulière et uniforme, puis se ralentit et s'arrête pendant un certain temps pour reprendre ensuite avec des vitesses croissantes, supérieures à celles qu'on observe dans la première période. Celle-ci dure plusieurs mois. A ce moment, si l'on a pris la précaution d'opérer sur des fruits isolés les uns des autres et maintenus en dehors de tout contact avec les parois du vase qui

les contenait, si, de plus, on a eu soin d'empêcher tout dépôt de liquide à la surface du fruit, on peut constater la production de quantités notables d'alcool, facile à séparer par distillation, après que le fruit mis en expérience a été écrasé en pulpe. De plus, l'examen microscopique attentif du parenchyme ne révèle aucune trace de ferment alcoolique. Ainsi :

Le 12 novembre, deux poires pesant l'une 157 grammes, la seconde 125 grammes, ont été suspendues isolément, chacune dans une éprouvette bien bouchée et munie d'un tube de dégagement. On avait d'abord mis du chlorure de calcium au fond des éprouvettes, afin de maintenir autour de ces fruits une atmosphère qui ne fût pas saturée de vapeur d'eau.

Les éprouvettes ont été ouvertes le 19 juillet. On a recueilli 1,762 centimètres cubes de gaz et 2^{es},62 d'alcool. Les poires avaient conservé leur couleur ; leur peau était ridée, mais non humide. Leur consistance et leur odeur étaient celles des poires blettes. Elles avaient perdu ensemble 134 grammes d'eau ; cependant, elles en contenaient encore 69 p. 100 de leur poids.

Des observations microscopiques, faites à différentes distances du centre, n'y ont pas fait découvrir de ferment alcoolique. Le dégagement d'acide carbonique ne s'est pas effectué d'une manière régulière ; du 3 mars au 8 avril, il n'a été que de 28 centimètres cubes, et, à partir du 8 avril jusqu'au 10 juillet, il a été complètement nul. L'existence du ferment alcoolique dans l'intérieur de la poire est incompatible avec la cessation de toute activité pendant un intervalle de temps aussi considérable. Ce fait vient donc à l'appui des résultats négatifs obtenus par l'inspection microscopique.

Dans d'autres expériences, instituées de même mais continuées plus longtemps, MM. Lechartier et Bellamy ont vu le dégagement d'acide carbonique reprendre avec une activité croissante, après une période plus ou moins longue d'arrêt. Dans ces cas, on peut constater très nettement la présence du ferment. On peut supposer que les spores et les germes de levure qui existent, la chose paraît incontestable maintenant, à la surface de tous les fruits, ont pu pénétrer dans l'intérieur du fruit par des fissures artificielles, et, y rencontrant un milieu

approprié, y bourgeonner et déterminer la fermentation alcoolique due à la levure.

Les divers fruits énumérés plus haut ont tous donné des résultats analogues, et l'expérience citée plus haut peut servir de type pour les autres, très nombreuses, publiées par les auteurs et que nous nous abstenons de reproduire ici.

L'arrêt du dégagement d'acide carbonique peut durer très longtemps; ainsi, des poires ont été conservées inertes, à l'époque de l'année où la chaleur est la plus forte, pendant des temps variant, depuis 31 jusqu'à 272 jours; et au moment où on a mis fin aux expériences rien ne pouvait faire supposer que cet état de choses dût se modifier.

A la suite de ce travail interne, les fruits subissent de profondes modifications.

1° Dès que ces fruits sont exposés au contact de l'air, ils deviennent bruns dans toute leur masse, comme le sont les fruits blets ou pourris. Les feuilles prennent la couleur et l'aspect des feuilles mortes;

2° Le tissu cellulaire est en partie ou complètement désagrégé. Ainsi des poires duchesses, au bout d'une année, ressemblaient à une masse de sirop revêtue d'un sac;

3° Le fruit qui a perdu son activité ne la reprend pas, même après avoir été mis de nouveau en présence de l'air;

4° Le germe contenu dans le fruit participe à son altération et la graine perd la propriété de germer.

Il semble donc, comme le disent les auteurs, qu'au moment où le fruit, la graine et la feuille sont détachés du végétal qui les porte, la vie n'est pas éteinte dans les cellules qui les composent. Cette vie s'accomplit à l'abri de l'air, en consommant du sucre et en produisant de l'alcool et de l'acide carbonique. L'instant où cesse la production de l'acide carbonique est aussi celui où s'éteint dans leurs cellules toute vitalité. Les fruits, les graines et les feuilles peuvent alors rester en état indéfiniment inerte, si un ferment organisé ne se développe pas à leur intérieur.

Pour les betteraves et les pommes de terre, on a toujours observé un fait particulier qui mérite d'être relevé.

L'ensemble des phénomènes est le même que pour les poires

et les pommes; lors de la période d'arrêt on n'observe pas de ferment alcoolique, mais, dans le liquide acide qui imprègne la masse de leurs tissus ramollis ou désagrégés on reconnaît des bactériums à divers degrés de grosseur et cependant on ne constate aucun dégagement de gaz carbonique.

2° *Expériences de M. Pasteur.* — Les expériences de M. Pasteur, tout en vérifiant les conclusions précédentes, ont été dirigées surtout dans le but d'établir des vues particulières sur les fermentations et une théorie générale de ces manifestations biologiques. Le moment est arrivé de les faire connaître. Nous ne pouvons mieux faire que de citer textuellement l'auteur. (Pasteur, *Comp. rend. de l'Acad. des sciences*, t. LXXV, p. 784 et suiv.)

« Depuis longtemps j'ai été conduit à envisager les fermentations proprement dites comme des phénomènes chimiques corrélatifs d'actions physiologiques d'une nature particulière. Non seulement j'ai démontré que leurs ferments ne sont point des matières albuminoïdes mortes, mais bien des êtres vivants; j'ai provoqué, en outre, la fermentation du sucre, de l'acide lactique, de l'acide tartrique, de la glycérine et plus généralement de toutes les matières fermentescibles dans des milieux exclusivement minéraux, preuve incontestable que la décomposition de la matière fermentescible est corrélative de la vie du ferment, qu'elle est un de ses aliments essentiels; par exemple, dans les conditions que je rappelle, il est impossible que, dans la constitution des ferments qui prennent naissance, il y ait un seul atome de carbone qui ne soit enlevé à la matière fermentescible.

« Ce qui sépare les phénomènes chimiques des fermentations d'une foule d'autres et particulièrement des actes de la vie commune, c'est le fait de la décomposition d'un poids de matière fermentescible bien supérieur au poids du ferment en action.

« Je soupçonne depuis longtemps que ce caractère particulier doit être lié à celui de la nutrition en dehors du contact de l'oxygène libre. Les ferments seraient des êtres vivants, mais d'une nature à part, en ce sens qu'ils jouiraient de la propriété d'accomplir tous les actes de leur vie, y compris celui de leur

multiplication¹, sans mettre en œuvre d'une manière nécessaire l'oxygène de l'air atmosphérique. Qu'on se souvienne de ces singuliers infusoires qui provoquent la fermentation butyrique, ou la fermentation tartrique, ou certaines putréfactions, et qui non seulement peuvent vivre et se multiplier à l'abri du contact de l'oxygène, mais qui périssent et cessent de provoquer la fermentation si l'on vient à faire dissoudre ce gaz dans le milieu où ils se nourrissent. Ce n'est pas tout. Par des expériences précises, faites avec de la levure de bière, j'ai montré que, si la vie de ce ferment avait lieu partiellement par l'influence du gaz oxygène libre, cette petite plante cellulaire perdait, en proportion de l'intensité de cette influence, une partie de son caractère ferment, *c'est-à-dire que le poids de levure, qui prend naissance dans ces conditions pendant la décomposition du sucre, s'élève progressivement et se rapproche du poids du sucre décomposé au fur et à mesure que la vie se manifeste en présence de quantités croissantes de gaz oxygène libre.*

« Guidé par tous ces faits, j'ai été conduit peu à peu à envisager la fermentation comme une conséquence obligée de la manifestation de la vie, quand la vie s'accomplit en dehors des combustions directes dues au gaz oxygène libre.

« On peut entrevoir, comme conséquence de cette théorie, que tout être, tout organe, toute cellule qui vit ou qui continue sa vie sans mettre en œuvre l'oxygène de l'air atmosphérique, ou qui le met en œuvre d'une manière insuffisante pour l'ensemble des phénomènes de sa propre nutrition, doit posséder le caractère ferment pour la matière qui lui sert de source de chaleur totale ou complémentaire. Cette matière paraît devoir être forcément oxygénée et carbonée, puisque, comme je le rappelais tout à l'heure, elle sert d'aliment au ferment. Je viens apporter à cette théorie nouvelle que j'ai déjà proposée à diverses reprises quoique timidement, depuis l'année 1861, l'appui de faits nouveaux qui cette fois, je l'espère, entraîneront les convictions. »

Dans un liquide sucré, propre à la nourriture des ferments,

(1) Non celui de la sporulation. (Note de l'auteur.)

contenu dans un vase qui permet l'ensemencement artificiel, en évitant l'ensemencement spontané par les germes aériens, M. Pasteur dépose à la surface une trace de *mycoderma vini* pur¹. Les jours suivants, la moisissure recouvre peu à peu tout le liquide sous forme d'un voile continu. On constate facilement que le développement du mycoderme, dans ces conditions, donne lieu à une absorption de l'oxygène atmosphérique, qui est remplacé par un volume à peu près égal d'acide carbonique, et, d'autre part, qu'il ne se forme pas du tout d'alcool.

M. Pasteur ayant fait remarquer lui-même que le *mycoderma vini* a la propriété, lorsqu'il végète à la surface d'un liquide alcoolique, de brûler l'alcool tout formé en donnant, non de l'acide acétique ou de l'aldéhyde, mais de l'eau et de l'acide carbonique, il nous semble que de l'absence d'alcool constatée dans l'expérience on ne peut pas conclure qu'il ne s'en est pas formé. Celui-ci a pu fort bien subir une combustion complète en même temps qu'il prenait naissance. Le volume de l'acide carbonique dégagé dans l'expérience était à peu près égal au volume de l'oxygène consommé ; or, à moins de supposer que la combustion ne portait que sur des substances hydrocarbonées ou sur du carbone, on ne s'explique pas cette égalité ; elle pourrait être due au dégagement d'acide carbonique sous l'influence d'une fermentation alcoolique, dont l'un des éléments caractéristiques (l'alcool) serait brûlé, au fur et à mesure de sa production. Quoi qu'il en soit, revenons à l'expérience de M. Pasteur. Répétons celle-ci exactement dans les mêmes conditions, avec cette seule différence que, quand le voile sera devenu continu, on agite le vase pour disloquer celui-ci et le submerger, autant que cela est possible, les *matières grasses* dont il est accompagné empêchant qu'il ne soit mouillé en totalité.

Le lendemain, souvent après quelques heures déjà, lorsqu'on opère à la température de 25 à 30 degrés, on voit s'élever sans

(1) Dans une publication antérieure à celle-ci, M. Pasteur avait annoncé que la levure inférieure était produite par le *mycoderma vini*, privé du contact de l'oxygène ; M. Pasteur revient aujourd'hui sur cette opinion qu'il ne considère plus comme entièrement fondée.

cesse du fond du vase de petites bulles de gaz qui annoncent que la fermentation du liquide sucré a commencé. Elle continue les jours suivants, quoique toujours faible, et il est facile de constater dans le liquide la présence d'une quantité sensible d'alcool. Une observation attentive au microscope des cellules ou articles du mycoderme submergé, montre que ces articles ne se reproduisent pas.¹

L'expérience dont nous venons de donner les détails, en citant presque textuellement la description de l'auteur, permet de conclure avec certitude que le mycoderma vini peut jouer le rôle de ferment alcoolique lorsqu'il est immergé dans un milieu sucré.

D'autre part, M. Pasteur a constaté la formation de l'alcool, avec dégagement d'acide carbonique, toutes les fois que des fruits mûrs et sucrés sont conservés dans une atmosphère de gaz carbonique, à l'abri de l'oxygène. Ces expériences et celles de M. Lechartier prouvent péremptoirement que les cellules végétales peuvent produire de l'alcool et de l'acide carbonique aux dépens du sucre, et agir comme la levure de bière, quoique moins énergiquement ; mais rien dans la description donnée par M. Pasteur et par M. Lechartier de leurs essais ne peut entraîner, pour le lecteur, la conviction que cette production d'alcool, cette fermentation cellulaire ne commence qu'à partir du moment où la cellule est entièrement ou partiellement privée du contact de l'oxygène.

En admettant même, ce qu'ils ne disent pas, que les auteurs cités aient directement constaté l'absence d'alcool dans le fruit tant qu'il n'a pas été privé de l'influence de l'oxygène, il reste toujours cette arrière-pensée que l'alcool formé a pu être brûlé et disparaître sous forme d'eau et d'acide carbonique. Du reste la levure de bière, la cellule du *saccharomyces cerevisiæ* nous offre l'exemple le plus frappant, le plus incontesté, d'une cellule qui provoque la fermentation alcoolique, même en présence de l'oxygène libre, dissous dans le milieu ; et maintenant qu'elle est détrônée comme facteur unique de la fermentation alcoolique, il n'y a aucune raison sérieuse de lui conserver le caractère exceptionnel d'être seule à la provoquer en présence de l'oxygène. Quant à ce dernier fait, nous n'avons, pour en prou-

ver la réalité, qu'à citer M. Pasteur lui-même (*Bullet. soc. chimique*, 1861, p. 621). « La levure toute formée peut bourgeonner et se développer dans un liquide sucré et albumineux en l'absence complète d'oxygène ou d'air. Il se forme peu de levure dans ce cas, et il disparaît comparativement une grande quantité de sucre, 60 ou 80 parties pour une de levure formée. *La fermentation est très lente dans ces conditions.* Si l'expérience est faite au contact de l'air et sur une grande surface, *la fermentation est rapide.* Pour la même quantité de sucre disparu, il se fait beaucoup plus de levure. Celle-ci se développe énergiquement, mais son pouvoir comme ferment tend à disparaître dans ces conditions. On trouve, en effet, que pour 1 partie de levure formée, il n'y a que 4 à 10 parties de sucre transformé. Le rôle de ferment de cette levure subsiste néanmoins et se montre même *fort exalté* si l'on vient à la faire agir sur le sucre en dehors de l'influence du gaz oxygène libre. »

Il semble au premier abord qu'il y a contradiction entre les faits signalés plus haut et les conclusions tirées par l'auteur; car, d'une part, on constate que les fermentations faites en présence de l'oxygène libre sont très actives, rapides et tumultueuses; d'autre part on admet qu'en présence de l'oxygène la levure perd une partie de son pouvoir comme ferment. Mais cette apparente contradiction, née de l'analogie de sens entre les mots pouvoir et activité ou énergie, disparaît par le fait même de la définition du pouvoir comme ferment donnée par M. Pasteur. Ce pouvoir ne doit pas être confondu avec l'activité vitale de la levure. Il a pour mesure le rapport entre le poids du sucre décomposé et le poids de la levure formée en même temps. Ainsi en constatant que dans la fermentation sans oxygène le rapport entre le sucre décomposé et la levure de nouvelle formation est égal à 80 : 1, tandis que dans les fermentations faites en présence de l'oxygène il n'est plus que 10 : 1, M. Pasteur en tire cette conséquence que le pouvoir comme ferment a été abaissé dans le rapport de 8 à 1, bien que dans le second cas la décomposition du sucre soit beaucoup plus active.

Le pouvoir comme ferment ainsi compris n'a qu'une valeur purement théorique. Sa définition est intimement liée à la

pensée que la fermentation est la conséquence du développement de la levure.

Ce qu'il importe surtout de mesurer au point de vue pratique dans des conditions déterminées, c'est l'énergie du ferment, c'est-à-dire la quantité de sucre décomposé dans l'unité de temps, par l'unité de poids de levure.

Quoi qu'il en soit, il ressort clairement des faits observés par Pasteur que la levure peut se multiplier dans un milieu sucré albumineux convenable avec ou sans la présence de l'oxygène libre ; la multiplication est favorisée dans une forte proportion par l'oxygène, ce qui explique pourquoi le rapport entre le sucre dédoublé et la levure formée passe de 80 : 1 à 10 : 1, mais en même temps l'activité du ferment est notablement accrue, les fermentations sont rapides et tumultueuses.

L'expérience suivante justifie cette interprétation. J'ai étudié avec soin, au moyen d'un procédé de dosage rapide et exact de l'oxygène dissous, décrit ailleurs, les phénomènes respiratoires de la levure. J'ai pu constater ainsi que dans un milieu liquide tenant de l'oxygène en dissolution, la quantité d'oxygène absorbée par un gramme de levure, dans l'unité de temps, et à la même température, était constante, que le liquide soit saturé d'oxygène, sursaturé, ou contienne une dose d'oxygène plus faible que celle exigée par la saturation. Ainsi en délayant 1 à 2 grammes de levure dans un litre d'eau aérée, on n'observe un abaissement sensible dans la puissance respiratoire que lorsque la dose d'oxygène descend au-dessous de 1 c.c. par litre. Ces phénomènes respiratoires suivent les mêmes lois dans un milieu à la fois sucré et oxygéné, renfermant en outre des matières albuminoïdes nutritives ; mais l'intensité respiratoire s'élève ; c'est-à-dire que la dose d'oxygène absorbée dans l'unité de temps par l'unité de poids est plus considérable, à la même température que dans l'eau pure. Enfin, j'ai dosé l'alcool produit dans un temps donné, dans deux fermentations placées dans les mêmes conditions et offrant cette seule différence, que dans l'une on maintenait constamment de l'oxygène dissous. La proportion d'alcool a été trouvée, dans ce cas, sensiblement supérieure, ce qui est conforme aux expériences de Pasteur ; pendant toute la durée de la fermentation, on a pu constater une absorption rapide de l'oxygène.

Si la décomposition du sucre était la conséquence d'une respiration des cellules de levure aux dépens de l'oxygène combiné, suppléant l'oxygène libre, il semble évident que la fermentation ne devrait pas avoir lieu, ou tout au moins devrait être singulièrement ralentie, en présence de l'oxygène; or, c'est l'inverse qui est vrai. Le pouvoir respiratoire de la levure est indépendant de la dose d'oxygène contenue dans le milieu où elle vit; elle ne varie qu'avec la température et les conditions plus ou moins favorables de nutrition, ainsi qu'avec l'état de santé plus ou moins parfait de la cellule. La levure placée dans un milieu sucré et oxygéné respire aussi activement et même plus activement que dans l'eau pure, elle satisfait donc pleinement son pouvoir respiratoire aux dépens de l'oxygène libre et cependant elle provoque la fermentation du sucre aussi et même plus activement que dans un milieu non oxygéné. La conclusion de ceci est facile à tirer: le pouvoir respiratoire et le pouvoir comme ferment sont deux qualités inhérentes à la cellule de saccharomyces, mais indépendantes l'une de l'autre, en ce sens que l'un des phénomènes n'est pas la conséquence de l'autre. L'énergie de ces deux pouvoirs dépend des conditions plus ou moins favorables à la nutrition et au développement de la levure; il n'est donc pas étonnant de les voir s'accroître ou s'affaiblir parallèlement. En d'autres mots, ce ne sont pas les deux termes variables d'une somme constante, dont l'un est nul quand l'autre a atteint sa valeur maximum; au contraire tous les faits tendent à établir que ces deux valeurs s'affaiblissent, s'annulent ou atteignent leur plus grande valeur en même temps, sous l'influence des mêmes causes. En affaiblissant la vitalité de la levure, on diminue à la fois sa puissance respiratoire et sa puissance comme ferment; en plaçant au contraire la levure dans les meilleures conditions physiques et chimiques de nutrition, on voit les deux facteurs croître parallèlement et atteindre ensemble leur maximum. Hâtons-nous cependant d'ajouter que les deux phénomènes sont forcément en dépendance l'un vis-à-vis de l'autre et nous ne pourrions le nier sans être en contradiction avec ce que nous venons de dire. En effet, le sucre est un aliment nécessaire au développement des cellules du saccharomyces, sa présence est donc indispensable à la

nutrition de ces cellules. Priver la levure du sucre ou, ce qui revient au même, la mettre dans l'impossibilité d'agir comme ferment, c'est diminuer sa vitalité, la placer dans un état comparable à l'inanition; aussi n'est-il pas étonnant de voir diminuer sa puissance respiratoire, toutes choses égales d'ailleurs. Réciproquement, empêcher la levure de respirer l'oxygène libre, c'est la priver de l'une de ses fonctions les plus importantes, c'est encore la mettre dans des conditions pathologiques; et son activité comme ferment en sera atteinte comme le constate M. Pasteur lui-même.

Les expériences suivantes viennent toutes à l'appui de cette manière de voir. On sait par les travaux de M. Béchamp que la levure de bière placée dans les conditions d'inanition, c'est-à-dire conservée sans le contact d'un liquide sucré, subit une modification profonde, qui n'a aucun rapport avec la putréfaction. Elle se ramollit et convertit son protoplasma et une partie de son contenu en principes solubles, parmi lesquels M. Béchamp signale de la leucine et de la tyrosine, une matière albumineuse soluble coagulable par la chaleur, un ferment inversif, une substance gommeuse, des phosphates et de l'acide acétique; ces phénomènes sont en outre accompagnés d'une production d'alcool et d'acide carbonique, ainsi que d'un dégagement d'azote pur. J'ai moi-même examiné de près cette singulière réaction, et j'ai pu démontrer, dans l'extrait de levure ramollie, la présence de la xanthine, de l'hypoxanthine, de la carnine, de la guanine.

A la suite de ces premières recherches j'ai cru intéressant d'étudier les modifications qu'éprouvait la levure ainsi altérée au point de vue de ses fonctions respiratoires. Je me suis servi, à cet effet, des méthodes décrites ailleurs à propos de l'étude de l'intensité respiratoire de la levure. Un poids connu de levure est délayé dans un volume déterminé d'eau aérée, dont on connaît le degré oxymétrique initial; ce degré est mesuré après un quart d'heure ou une demi-heure de respiration. Voici les faits que j'ai observés :

400 grammes de levure fraîche renfermant 28^{gr},94 p. 100 de matériaux solides fixes, ont été délayés dans de l'eau distillée, de manière à former 2 litres. Cette bouillie homogène a été

partagée en dix parties égales introduites dans des flacons à peu près remplis. Ces flacons ont été abandonnés à eux-mêmes à l'étuve à 20 degrés centigrades.

Je n'ai pas cru devoir employer dans ces expériences l'eau créosotée recommandée par M. Béchamp et dont j'ignorais l'influence dans les titrages oxymétriques ou sur le pouvoir respiratoire. Je courais ainsi le risque de voir apparaître quelques productions végétales étrangères à la levure, mais dont la faible proportion, par rapport à la levure, ne pouvait pas entacher les résultats d'une grande erreur.

Au bout de trois jours d'inanition, le premier et le second flacon ont été vidés sur un filtre taré d'avance; le résidu sur le filtre a été dans ce cas bien lavé à l'eau à 30° jusqu'à épuisement, puis séché et pesé. Déduction faite du poids du filtre, on a trouvé pour les 40 grammes de levure primitive 5^{gr},37, soit 13,40 p. 100 de matière solide fixe. Le contenu du second flacon a été bouilli avec de l'eau avant filtration; le résidu fixe trouvé était de 5^{gr},73, soit 14 p. 100.

Après une digestion de cinq jours, suivie d'une ébullition, le troisième flacon a donné un résidu fixe sec de 4^{gr},16 ou de 10,4 p. 100.

Après un temps plus long, la variation de poids des matériaux solides non solubles de la levure devient insensible. La levure fraîche, lavée à l'eau tiède, perd environ 9^{gr},5 p. 100 de matériaux solubles. Ainsi en cinq jours la levure maintenue en inanition transforme en produits solubles, 18,5 — 9,5 ou 9^{gr},5 de matériaux insolubles et qui résistent au lavage immédiat.

Arrivé à cette limite, et bien lavée à l'eau tiède jusqu'à épuisement, la levure se montre presque complètement inerte vis-à-vis de l'oxygène. La levure fraîche respirait à 20 degrés centigrades, par gramme et par heure, 1^{cc},4, tandis qu'après épuisement l'absorption d'oxygène dans les mêmes conditions ne s'élevait plus qu'à 0^{cc},23. La levure digérée à jeun pendant quarante-huit heures et bien lavée, étant placée dans un milieu sucré pur, n'y provoque plus qu'une fermentation très lente, à peine sensible, comme l'a déjà observé M. Béchamp.

Ainsi la digestion à jeun, suffisamment prolongée, et suivie

d'un lavage complet, nous fournit un moyen très simple d'enrayer à peu près en entier, et simultanément, les deux manifestations biologiques les plus caractéristiques de la cellule de levure. Cependant sa vitalité n'est pas détruite, si toutefois l'expérience n'a pas été poussée trop loin.

A l'eau aérée, contenant la levure digérée et lavée, qui n'agit plus sur l'oxygène que d'une manière presque insensible, ajoutons de l'eau de lavage de levure digérée, et nous verrons le phénomène respiratoire, d'abord très faible, s'accroître de plus en plus, et reprendre une activité égale et même supérieure à celle de la levure fraîche simplement délayée dans l'eau pure. La levure fraîche elle-même respire plus énergiquement, si au lieu d'eau aérée pure, on emploie de l'eau aérée contenant des produits solubles, provenant de la digestion de la levure.

D'un autre côté, si au mélange de levure digérée lavée et d'eau sucrée, mélange qui ne révèle qu'une fermentation insensible, nous apportons les produits solubles de la levure, nous voyons en très peu de temps la décomposition du sucre s'accroître par un dégagement de plus en plus abondant d'acide carbonique.

M. A. Fitz (*Soc. ch. de Berlin*, janvier et février 1873) a publié un mémoire étendu sur la fermentation alcoolique produite par le *mucor racemosus*.

Le rapport de l'alcool à l'acide carbonique a été trouvé, comme moyenne de plusieurs déterminations, égal à $\frac{123,1}{100}$, tandis que dans la fermentation alcoolique par la levure de bière, il est de $\frac{100}{96,3}$.

L'alcool distillé contient un peu d'aldéhyde; le résidu renferme de l'acide succinique; quant à la glycérine, sa présence est douteuse. La dextrine, l'inuline, le sucre de lait, ne fermentent pas alcooliquement en présence du *mucor racemosus*.

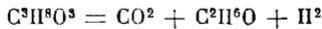
Avec le sucre interverti, la fermentation provoquée par le *mucor racemosus* s'arrête après un temps assez court, de sorte que la moitié du sucre reste intacte, si le liquide contenait au début 15 p. 100 de sucre.

La cause de cet arrêt rapide dans la fermentation n'est autre

que la sensibilité de cette levure vis-à-vis de l'alcool. M. Fitz a démontré en effet que la fermentation cesse lorsque la teneur en alcool du liquide atteint 3 1/2 à 4 p. 100.

Sous tous les autres rapports le *mucor racemosus* se comporte comme la levure; il intervertit le sucre, assimile l'azote des sels ammoniacaux et se multiplie aux dépens du sucre (1,8 p. 100 du sucre décomposé).

Le même savant a démontré que la glycérine peut subir une véritable fermentation alcoolique représentée par l'équation chimique :



sous l'influence d'un microbe particulier de la famille des bactéries et qu'il désigne sous le nom de *bacillus æthylicus*. C'est le microbe de l'infusion du foin qui résiste le mieux à l'action de la chaleur. On le cultive très bien dans un milieu contenant 30 p. 1000 de glycérine, 1 p. 1000 d'extrait de viande Liebig et 5 millièmes de carbonate de chaux précipité. Ce liquide estensemencé avec de l'eau de lavage du foin, on fait bouillir le tout pendant cinq minutes et on abandonne à l'étuve à 40°, dans un ballon fermé avec de l'ouate. La fermentation ne tarde pas à se développer; après quelques jours on ensemence avec une goutte du liquide une solution semblable à la première, stérilisée à 110°. Au bout de sept semaines la fermentation est achevée, le bacille transformé en spores permanentes tombe au fond. Le liquide renferme de l'alcool éthylique pur. 200 grammes de glycérine ont fourni 25^{gr},8 d'alcool.

Le bacille æthylicus se développe aussi dans la solution de mannite étendue; mais les produits de la fermentation ne sont pas connus.

Il résulte donc de l'ensemble de faits signalés qu'il n'est plus possible d'envisager la fermentation alcoolique comme le résultat de l'intervention biologique d'une seule espèce d'organismes ou d'espèces très voisines.

CHAPITRE VIII

FERMENTS BACTÉRIENS

On peut désigner sous le nom de fermentations bactériennes les phénomènes et les transformations chimiques qu'éprouvent les divers composés organiques appartenant à des classes variées (matières sucrées, hydrocarbonées, albuminoïdes, acides végétaux, etc.) sous l'influence d'organismes élémentaires compris dans la classe des *bactéries* (*Schizophytes* ou *Schizomycètes*).

Ce genre de fermentations étant plutôt défini par la nature des ferments figurés qui les provoquent que par la réaction chimique variant avec la nature du corps qui se transforme, nous parlerons tout d'abord du ferment.

Les bactéries ou schizomycètes se présentent sous forme de cellules de très petites dimensions, rondes, ovales ou cylindriques, sous forme de filaments droits ou courbes, tantôt mobiles, tantôt immobiles.

Elles sont constituées par une enveloppe très ténue, insoluble dans l'ammoniaque, l'acide acétique cristallisable, l'acide sulfurique étendu. L'intérieur de la cellule est occupé par un protoplasma hyalin qui devient granuleux avec l'âge. On n'observe pas de noyau mais souvent des vacuoles.

Dans presque toutes les espèces mobiles on constate la présence de cils vibratiles placés aux extrémités de la cellule.

Cohn partage les diverses bactéries en familles; en s'appuyant surtout sur la forme, ce sont :

Les *sphérobactéries* ou bactéries globulaires représentées par un seul genre, genre *micrococcus*. Ce sont des cellules sphé-

riques ou ovales, isolées ou réunies en chapelets (*torula*), immobiles, d'un diamètre de 1 à 3 millièmes de millimètre ;

Les *microbactéries*, bactéries en bâtonnets courts. Cette famille ne comprend qu'un seul genre, genre *bacterium*. Ce sont des cellules cylindriques, mobiles, isolées ou groupées par 2, 3 ou 4. Ils diffèrent des micrococci par leur mobilité et leur forme plus allongée et des bacilles par la brièveté des articles ;

Les *desmobactéries* en filaments droits ou ondulés. Cette famille comprend deux genres :

1° Le genre *bacillus*. — Filaments rectilignes, longs ou courts, mobiles ou immobiles, disposés en chaînes d'articles souvent nombreux ;

2° Le genre *vibrio*. — Filaments ondulés mobiles.

Les *spirobactéries*. — Cellules en forme de tire-bouchon, à mouvements rapides et réversibles.

Les bactéries se reproduisent soit par scissiparité, soit par sporulation.

Dans le développement par scissiparité la cellule s'allonge, son protoplasma s'éclaircit suivant une ligne médiane perpendiculaire au grand axe et il se forme en ce point une cloison qui limite deux cellules qui ne tardent pas à se séparer. Chacune de ces deux cellules subit à son tour un sectionnement analogue. Il peut se faire que les cellules superposées ne se séparent pas, d'où naîtra une chaîne composée d'un plus ou moins grand nombre d'articles. On voit souvent aussi se produire un étranglement au point où se forme la cloison transversale. La rapidité avec laquelle s'opère ce mode de reproduction peut être très grande ; elle dépend de la température et de la composition du milieu. On peut calculer qu'au bout de deux jours, dans des conditions favorables, une seule bactérie donne naissance à plus de 281 milliards d'individus.

Les travaux de MM. Pasteur, Robin, Cohn, Koch, van Tieghem ont mis hors de doute la possibilité de reproduction des bactéries par sporulation, possibilité méconnue pendant longtemps.

Les spores se forment vers la fin d'une fermentation ou lorsque le microbe se trouve placé dans de mauvaises conditions. On voit se produire au milieu de la cellule ou à l'une de ses extrémités ou aux deux bouts, au sein du protoplasma homo-

gène, un corpuscule très réfringent qui se transforme rapidement en une spore oblongue ou cylindrique, à contours très foncés et possédant un grand pouvoir réfringent. Puis la cellule se détruit en mettant les spores ou germes en liberté, quelquefois aussi la spore formée à l'extrémité de la cellule se détache sans amener la destruction de la cellule-mère.

La spore introduite dans un milieu favorable commence à germer si en même temps on permet l'accès de l'air. Elle se gonfle et double son volume au bout de deux heures, en même temps elle perd son éclat et ses contours foncés. Au bout de une à deux heures, le germe produit une voussure qui s'allonge rapidement, puis la jeune bactérie se dégage de la membrane de la spore et suit son développement par sectionnement. Les spores des bactéries résistent beaucoup mieux aux influences extérieures que la bactérie elle-même (action de l'eau, de l'alcool, de l'éther, de la pepsine ; dessiccation ; oxygène sous pression ; température de -100° à $+100^{\circ}$). Les spores bien desséchées peuvent être chauffées au delà de $+130^{\circ}$ sans perdre leur vitalité. En règle générale les spores résistent mieux dans un milieu alcalin, à l'action de la chaleur que dans un milieu acide.

D'après M. Miquel les spores des bactéries chauffées pendant deux heures avec de l'eau pure sont détruites à des températures très variables avec l'espèce, comme le montre le tableau suivant :

| | Température limite. |
|---|---------------------|
| Spores du <i>micrococcus vulgaris</i> | 50° à 55° |
| — du — <i>ellipsoideus</i> | 94° à 95° |
| — du <i>Bacillus elongatus</i> | 96° à 97° |
| — du — <i>subtilis</i> | 100° à 102° |
| — du gros bacille | 98° à 100° |
| — du <i>Bacterium termo</i> | 49° à 50° |

D'après les analyses immédiates de MM. Nencki et Schaffer, les bactéries adultes sont approximativement composées de :

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Eau | 83,42 |
| Matière sèche | 46,58 |
| La matière sèche renfermant p. 100. | |
| Matières albumionides | 84,20 |
| — grasses | 6,04 |
| Cendres | 4,72 |
| Principes indéterminés | 5,01 |

La majeure partie des matières albuminoïdes est formée par une substance spéciale à laquelle Nencki a donné le nom de mycoprotéine.

Lorsqu'on traite les bactéries par une solution étendue de potasse à 5 p. 1000, on dissout la presque totalité de la masse. Le résidu insoluble formant environ 5 p. 100 du produit employé est constitué par une matière de nature cellulosique et représente les enveloppes des microorganismes. On neutralise le liquide alcalin par un acide et on ajoute du sel marin en excès pour séparer la mycoprotéine qui est insoluble dans une eau chargée de chlorure de sodium. Le précipité est d'abord lavé avec une solution saturée de ce sel puis avec un peu d'eau pure.

Ainsi obtenue, la mycoprotéine retient encore du sel marin qu'il est impossible d'enlever complètement sans dissoudre une grande partie du produit. La mycoprotéine est, en effet, soluble dans l'eau pure. Elle est également soluble dans les alcalis et les acides.

Ses solutions précipitent par le tanin, l'acide picrique, le sublimé, le ferrocyanure de potassium en présence de l'acide acétique. Elles ne sont coagulées et précipitées ni par l'alcool, ni par l'acide azotique.

En liqueur alcaline, elle dévie à gauche la lumière polarisée $[\alpha]_d = -79^\circ$.

Par sa composition élémentaire :

| | |
|--------------------|-------|
| Carbone. | 52,43 |
| Hydrogène. | 1,54 |
| Azote | 14,91 |

elle se rapproche beaucoup de la substance retirée de la levure au moyen des lessives alcalines étendues.

Les principes nutritifs nécessaires au développement et à la multiplication des cellules bactériennes sont de même nature que ceux qui servent à la levure, savoir : matières organiques non azotées (matières sucrées, hydrocarbonées, acides végétaux, glycérine, etc.); matériaux azotés (matières organiques azotées, sels ammoniacaux); substances minérales (principalement des phosphates de potasse et de magnésie).

Les bactéries vivent généralement mieux dans un milieu neutre ou légèrement alcalin que dans un milieu acide (contenant

des acides végétaux tels que l'acide acétique, l'acide tartrique. La présence d'acides minéraux forts leur est très défavorable).

Parmi les substances nutritives énumérées plus haut et pour un certain nombre de bactéries ferments, il y en a une ou plusieurs qui jouent par rapport à l'organisme vivant le même rôle que la dextrose par rapport au saccharomyces. Ce sont les matières fermentescibles qui tout en entrant pour une fraction dans le développement du ferment, subissent en même temps une décomposition spéciale, d'après une équation chimique variant avec la nature de cette substance et l'espèce du ferment.

Pour la culture des bactéries on emploie le plus souvent comme milieu, en variant son espèce suivant la nature des bactéries que l'on veut étudier :

Le bouillon de levure à 30 grammes de levure par litre; divers bouillons de viandes (mammifères, poissons, oiseaux); des jus de viande; du petit-lait neutralisé; le sérum du sang et le blanc d'œuf étendus d'eau; une dissolution d'extrait de viande Liebig à 50 grammes par litre, neutralisée à chaud; l'urine normale étendue d'eau et amenée à la densité 1,005.

Le liquide de Cohn dont on fait aussi un fréquent usage est formé en dissolvant dans un litre d'eau, 10 grammes de tartrate neutre d'ammoniaque, 5 grammes de phosphate de potasse $\text{PhO}'\text{HK}^2$, 5 grammes de sulfate de magnésie et 0,5 de phosphate de chaux.

On se sert également de bouillon de peptone et de milieux solides favorables à l'étude des colonies telles que gélatine nutritive, gelose nutritive; les substratums solides s'obtiennent en dissolvant à chaud la gélatine ou la gelose dans le bouillon de culture et en laissant la liqueur se figer par refroidissement. Dans ce cas, les germes des bactéries déposés à la surface ou à une faible profondeur se développent et se multiplient sur place, en constituant des colonies dont la forme, l'aspect, la couleur sont souvent caractéristiques.

Quelle que soit la nature du milieu de culture employé, celui-ci doit être préalablement stérilisé avec soin, c'est-à-dire privé de tout germe vivant préexistant et la culture doit se faire à l'abri des germes apportés par l'air.

En général, les spores des bactéries réclament le concours de

l'oxygène pour germer et commencer à se développer. Quant aux bactéries elles-mêmes, les unes sont anaérobies et vivent dans un milieu exempt d'oxygène, l'oxygène dissous les tue ou entrave leur développement; d'autres, au contraire, sont aérobies et se multiplient à la surface des milieux, au contact de l'air atmosphérique.

Les bactéries diffèrent beaucoup les unes des autres au point de vue de la facilité avec laquelle elles se laissent cultiver.

Certaines d'entre elles, tout en préférant tel ou tel milieu, se développent cependant plus ou moins aisément dans les diverses préparations énumérées plus haut. Pour d'autres, la culture ne réussit que dans certains milieux déterminés par une longue pratique.

Ainsi le microbe du choléra des poules ne se développe pas dans le bouillon de levure ni dans l'urine neutralisée et ne peut être cultivé que dans du bouillon de poule, encore celui-ci devient-il assez rapidement stérile et la culture s'arrête-t-elle au bout d'un certain temps, le bouillon de poule ayant perdu un des principes nutritifs nécessaires au microbe.

Le développement des bactéries s'effectue le mieux entre 30 et 40°. Au-dessous de 30° il s'affaiblit progressivement et s'éteint vers 0°. Dans quelques cas la différence entre la température pour laquelle le développement est le plus actif et celle où l'organisme meurt est très petite. Ainsi le bacille du charbon meurt à 41° et se développe activement à 39°.

Après cette étude générale des bactéries, étude dans laquelle nous avons laissé de côté, comme ne faisant pas partie de notre sujet, l'importante question de l'atténuation de la virulence de certaines bactéries par cultures successives dans des conditions déterminées, nous passerons en revue les principales fermentations qu'ils sont susceptibles de provoquer.

Les développements étendus que nous avons donnés à propos de la fermentation alcoolique nous permettent d'être beaucoup plus courts en ce qui touche les autres phénomènes de cet ordre. Sauf la réaction chimique et l'espèce de ferment, les caractères généraux de ces phénomènes sont les mêmes; les conditions de nutrition et de développement des ferments organisés ne variant pas dans des limites très étendues.

CHAPITRE IX

FERMENTATIONS VISQUEUSE ET LACTIQUE

FERMENTATION VISQUEUSE

Comme tous les phénomènes qui se produisent spontanément dans les conditions ordinaires de la vie humaine, la fermentation visqueuse est connue depuis longtemps, car elle se développe dans certains vins et certains jus sucrés naturels (jus de betteraves, de carottes, d'oignons, dans certaines potions et juleps renfermant du sucre et des matières azotées) et devient apparente par la viscosité du liquide.

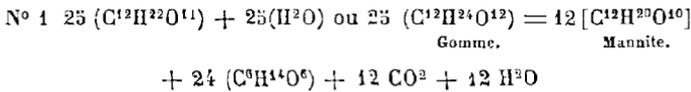
Cette réaction a été étudiée par Braconnot (*Ann. de chim.* (1), LXXXVI, p. 97, 1813), Desfosse (*Journ. de pharm.*, XV, p. 604), François (*Ann. de chim. et de phys.* (2), t. XLVI, p. 212, 1829), Pelouze et Jules Gay-Lussac (*Ann. de chim. et de phys.* (2), LII, p. 410, 1833), Kircher (*Annalen, Ch. Pharm.*, XXXI, p. 337), Tilley et Maclagan (*Philos. magaz.*, XXVIII, p. 12), Boutron-Charlard et Fremy (*Comp. rend.*, XII, p. 708, 1841) et enfin par Pasteur (*Bulletin soc. chim.*, Paris, 1861, p. 30).

La fermentation visqueuse est provoquée, d'après Pasteur, par une levure spéciale agissant sur la glucose ou le sucre de canne préalablement interverti, et les transformant en une espèce de gomme ou de dextrine, en mannite et en acide carbonique. La gomme, la mannite et l'acide carbonique sont les seuls termes constants de cette réaction ; l'acide lactique, l'acide butyrique et l'hydrogène que l'on voit souvent apparaître en même temps, sont des produits d'autres fermentations dues à des levures étrangères.

M. Pélégot (*Traité de chimie de Dumas*, t. VI, p. 335, 1843) signala le premier un ferment spécial, capable d'engendrer la fermentation visqueuse dans les dissolutions sucrées auxquelles on l'ajoute. Pasteur reconnut plus tard que ce ferment est constitué par des petits globules réunis en chapelet, dont le diamètre varie de 0^{mm},0012 à 0^{mm},0014, figure 20. Ces globules semés dans un liquide sucré contenant des matières azotées nutritives et des substances minérales donnent toujours lieu à la fermentation visqueuse. 100 parties de sucre fournissent environ 51,09 de mannite et 45,5 de gomme; de plus il se dégage de l'acide carbonique. Ces résultats peuvent se traduire par l'équation.



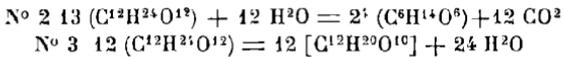
Fig. 20. — Ferment visqueux du vin.



Celle-ci exige pour 100 de sucre :

| | |
|----------------------------|-------|
| Mannite | 51,09 |
| Gomme | 45,48 |
| Acide carbonique | 6,18 |

M. Monoyer (Thèse pour le doctorat en médecine, Strasbourg, 1862) propose de représenter la production de la mannite et de la gomme par deux équations séparées, s'appliquant à deux phénomènes distincts et indépendants l'un de l'autre.



qui, ajoutées ensemble, reproduisent l'équation n° 1. Les proportions respectives de gomme et de mannite correspondant aux résultats précédents s'obtiennent généralement et avec constance lorsqu'on fait intervenir l'ensemencement du ferment décrit plus haut.

Dans certaines fermentations visqueuses cependant, la proportion de gomme l'emporte sur celle de la mannite. Dans ce cas, on s'aperçoit, selon M. Pasteur, de la présence dans le liquide, de globules plus gros et d'une nature différente. Le

même auteur ajoute qu'il serait possible que ce second ferment transformât le sucre en gomme seulement, sans qu'il y eût alors fermentation de mannite. Pour prouver l'exactitude de cette vue il faudrait pouvoir isoler le second ferment du premier et le faire agir seul; jusqu'à présent on n'a pu encore réussir cette séparation. Quoi qu'il en soit, cette variabilité dans la proportion de gomme plaide en faveur de l'opinion de M. Monoyer.

Les liquides les plus aptes à produire la fermentation visqueuse¹ peuvent aussi subir les fermentations lactique et butyrique; mais, dans ce cas, les êtres organisés qui se développent dans le liquide sont de nature différente.

La gomme qui se forme dans ces conditions est plus rapprochée, par ses caractères, de la dextrine que de la gomme arabe. L'acide azotique la convertit en acide oxalique, sans production d'acide mucique. Les conditions d'action dues à ces ferments gommiques et mannitiques sont les mêmes que celles qui conviennent au ferment alcoolique. La température la plus favorable est de 30°.

M. Héry (*Ann. de micrographie*, t. IV, p. 13) a étudié une fermentation visqueuse qui se développe quelquefois dans les encres au campêche et les rend filantes et épaisses. Il a reconnu dans les encres malades la présence de nombreux bacilles. L'encre filanteensemencée sur plaques de gélatine (eau 100; gélatine 6 à 7; glycérine anglaise 1; sucre blanc 1) donne deux formes principales de colonies :

1° Des colonies larges (1 à 2 centimètres après trente-six heures), rondes, claires et filantes à la pointe de l'aiguille; 2° des colonies plus petites de 1/2 millimètre, blanches et mates par réflexion, opaques par transmission.

Ce sont les colonies n° 1 qui ajoutées à l'encre au campêche chromaté :

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| Eau | 1000 grammes |
| Extrait de campêche | 35 — |
| Chromate neutre de potasse | 3 — |

(1) Décoction de levure de bière filtrée et additionnée de sucre, eaux de farine, d'orge, de riz avec addition de sucre. Les vins blancs sont plus sujets que les vins rouges à cette altération appelée graisse des vins; cette différence paraît tenir à l'absence de tanin dans les premiers. M. François a proposé l'addition de tanin au vin blanc, comme remède à la maladie graisseuse.

la rendent filante et épaisse par suite de la formation aux dépens des principes organiques de l'extrait de campêche, d'une matière visqueuse et soluble dans l'eau qu'elle rend filante, insoluble dans l'alcool, probablement analogue par sa composition aux gommés et aux mucilages.

Quand la culture est encore jeune, une partie de l'encre demeure liquide et l'aiguille soulève un paquet glaireux; le bacille est alors court, presque ovale; la capsule qui l'entoure est petite. Plus tard l'encre devient épaisse et comme huileuse, le bacille est long (quinze fois sa largeur), la capsule est énorme et a un diamètre égal à trois ou quatre fois la longueur du bacille et ne se colore plus comme lui par le violet de gentiane.

Le bacille de M. Héry ne se développe pas dans une solution d'extrait de campêche non additionnée de chromate.

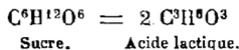
On empêche le développement par l'introduction dans l'encre au campêche de 0^{sr},05 de biodure de mercure dissous dans l'iodure de potassium (0,05) pour 1 litre.

L'acide salicylique à la dose de 0^{sr},05 par litre peut également servir de préservatif.

FERMENTATION LACTIQUE

Par fermentation lactique, on entend la transformation de certains sucres, sucre de lait, sucre de raisin, en un acide sirupeux, soluble dans l'eau, l'acide lactique. En comparant les formules du sucre qui fermente et de l'acide lactique produit unique de sa fermentation, on voit qu'il s'agit ici d'une simple transformation moléculaire ou plutôt du dédoublement d'une molécule en deux molécules équivalentes plus simples :

On a, en effet :



Cette transformation a été observée depuis longtemps dans une foule de circonstances.

MM. Boutron et Frémy la considérèrent les premiers comme le résultat d'une fermentation spéciale, indépendante de la fer-

mentation visqueuse avec laquelle elle était confondue (*Ann. ch. phys.* (3), t. II, p. 257, 271).

Lorsque le lait s'aigrit spontanément, c'est le sucre de lait qu'il contient qui se convertit en acide lactique, et c'est du petit-lait aigri que Scheele retirait pour la première fois l'acide lactique, dès 1780. Braconnot rencontra le même acide dans le riz en fermentation abandonné sous l'eau, dans le jus de betterave qui, après avoir éprouvé la fermentation visqueuse et un mouvement de fermentation alcoolique, devient aigre et donne de l'acide lactique et de la mannite ; dans l'eau de fermentation de pois et de haricots bouillis, dans l'eau sûre du levain des boulangers. On retrouve le même produit dans l'eau sûre des amidonniers et la choucroute. MM. Frémy et Boutron, Pelouze et Gélis ont fixé les meilleures conditions pour amener la transformation rapide du sucre en acide lactique. D'après leurs recherches, la fermentation lactique exige la présence de matières azotées albuminoïdes en voie de décomposition et ne peut se continuer que si l'on empêche le degré d'acidité de la liqueur de dépasser certaines limites. On atteint le mieux le but, soit en saturant de temps en temps avec du carbonate de soude, soit en ajoutant préalablement une quantité de craie suffisante pour neutraliser tout l'acide qui pourra se former aux dépens du sucre.

Voici brièvement les meilleurs procédés publiés par les auteurs qui se sont occupés de cette question. On prend trois ou quatre litres de lait, auquel on ajoute une dissolution de 200 ou 300 grammes de sucre de lait ; on abandonne la liqueur à l'air dans un vase ouvert, pendant quelques jours, entre 15 et 20°. On reconnaît, après ce temps, que la liqueur est devenue acide ; on la sature par du carbonate de soude, et on continue ces saturations successives, de vingt-quatre heures en vingt-quatre heures, jusqu'à ce que tout le sucre de lait soit transformé. A ce moment, on fait bouillir, on filtre et on évapore à sirop avec ménagements. Le résidu est repris par l'alcool à 38°, qui dissout le lactate de soude. Cette solution est précipitée par une quantité convenable d'acide sulfurique, qui précipite la soude ; on filtre et on évapore. Le résidu saturé par la craie donnera des cristaux mamelonnés de lactate de chaux pur (Boutron et Frémy).

Le procédé de Bensch est aussi très recommandable. Il consiste à faire dissoudre 3 kilogrammes de sucre de canne et 15 grammes d'acide tartrique dans 13 kilogrammes d'eau bouillante. La solution est abandonnée à elle-même pendant quelques jours ; après quoi on y ajoute 60 grammes de vieux fromage pourri, délayé dans 4 kilogrammes de lait caillé et écrémé, ainsi que 1 kilogramme et demi de craie lavée. Le tout est mis dans un lieu chaud (30-35°) et remué de temps en temps. Après huit ou dix jours le liquide se prend en masse de lactate de chaux. On ajoute 10 kilogrammes d'eau bouillante et 15 grammes de chaux éteinte ; on fait bouillir et on passe par une toile ; on évapore et on laisse cristalliser. Les cristaux sont exprimés et purifiés par de nouvelles cristallisations. Le lactate de chaux est ensuite dissous dans l'eau, précipité par une quantité convenable d'acide sulfurique (210 grammes pour 1 kilogramme de lactate) ; on sépare le sulfate de chaux et on neutralise le liquide par le carbonate de zinc ; on obtient ainsi du lactate de zinc facile à purifier par cristallisation, que l'hydrogène sulfuré décompose aisément en acide lactique et en sulfure de zinc insoluble, 9 kilogrammes de sucre donnent ainsi facilement 10 kilogrammes et demi de lactate de chaux.

Le jus de betterave fermenté (Pelouze et J. Gay-Lussac), l'eau de lavage de la choucroute (Liebig) peuvent également servir à l'extraction de l'acide lactique par des méthodes analogues (emploi de la craie ou du carbonate de zinc). On connaissait donc bien les termes de la réaction et les conditions favorables à sa production, mais avant les travaux de Pasteur on n'avait que des idées vagues et mal assises sur la cause provocatrice du phénomène. L'absence apparente d'un ferment organisé que l'on n'avait pu constater¹ prêtait un puissant appui aux idées de Liebig. La caséine ou la matière albuminoïde semblait n'agir

(1) Le véritable ferment lactique avait cependant été déjà entrevu par le Dr Remak (*Remak Canstatt's Jahrsbericht*, I, 1841), et caractérisé en partie par Blondeau (1848), *Journ. de pharm.* (3), XII, 244 et 336.

Remak avait observé que les globules de levure de bière sont souvent mélangés à des globules plus petits qui donnent lieu à une fermentation spéciale, et ne peuvent en aucun cas se transformer en globules de levure de bière.

Blondeau indique dans la levure de bière deux espèces de cellules, les

sur le sucre qu'en se décomposant elle-même, et l'on pouvait supposer que le mouvement moléculaire, suite de cette altération spontanée, était capable de se transmettre aux principes sucrés contenus dans la liqueur.

M. Pasteur, dès 1837, guidé par des idées bien arrêtées sur les causes de la fermentation alcoolique et des fermentations en général, chercha la levure lactique, c'est-à-dire l'organisme qui transforme le sucre en acide lactique par l'effet de sa nutrition et de son développement, et parvint à la découvrir et à l'étudier, bien qu'elle n'apparaisse pas avec la même netteté que la levure alcoolique.

« Si l'on examine, dit-il (*Ann. de chim. et de phys.* (3) t. LII, p. 407, mémoire sur la fermentation appelée lactique), avec attention une fermentation lactique ordinaire, il y a des cas où l'on peut reconnaître au-dessus du dépôt de la craie et de la matière azotée des taches d'une substance grise formant quelquefois zone à la surface du dépôt. Cette matière se trouve d'autres fois collée aux parois supérieures du vase, où elle a été emportée par le mouvement gazeux. Son examen au microscope ne permet guère, lorsqu'on n'est pas prévenu, de la distinguer du caséum, du gluten désagrégé, etc., de telle sorte que rien n'indique que ce soit une matière spéciale, ni qu'elle ait pris naissance pendant la fermentation. Son poids apparent est toujours très faible, comparé à celui de la matière azotée primitivement nécessaire à l'accomplissement du phénomène. Enfin, très souvent, elle est tellement mélangée à la masse de caséum et de craie, qu'il n'y aurait pas lieu de croire à son existence. C'est elle néanmoins qui joue le principal rôle. »

Pour le prouver, M. Pasteur épuise de la levure fraîche par quinze à vingt fois son poids d'eau bouillante. Le liquide filtré avec soin renfermant l'aliment azoté et minéral le plus approprié à la nutrition des ferments organisés, est additionné de 50 à 100 grammes de sucre par litre et de craie. On y sème une trace de la matière grise indiquée plus haut, on remplace l'air

cellules ordinaires de 0^m,01 de diamètre, déterminant la fermentation alcoolique et des cellules environ quatre fois plus petites, et déterminant la fermentation lactique. Blondeau leur attribue également la fermentation butyrique et la fermentation ammoniacale de l'urée; en cela il se trompait

par de l'acide carbonique et on maintient le tout à 30 ou 35°. On voit en peu de temps se développer tous les symptômes d'une fermentation lactique, accompagnés de ceux d'une faible fermentation butyrique.

Lorsque la craie a disparu, le liquide concentré fournit une abondante cristallisation de lactate de chaux, tandis que l'eau mère retient du butyrate de chaux. Quelquefois la liqueur devient très visqueuse. En un mot, on a sous les yeux une fermentation lactique des mieux caractérisées, avec tous les accidents et toute la complication habituelle de ce phénomène. En même temps que se passent les réactions décrites, le liquide, limpide à l'origine, se trouble; un dépôt apparaît qui augmente continuellement à mesure que la craie se dissout. On peut dans cette expérience remplacer la décoction de levure par celle de toute matière azotée plastique, fraîche ou altérée.

La substance qui s'est déposée et dont la production est corrélative des réactions connues sous le nom de fermentation lactique, ressemble tout à fait, prise en masse, à de la levure ordinaire, égouttée et pressée. Elle est un peu visqueuse, de couleur grise. Au microscope, elle apparaît comme formée de petits globules ou d'articles



Fig. 21. — Levure lactique.

très courts, légèrement étranglés vers leur milieu, isolés en général, rarement joints en chaînes de deux ou trois articles; leur largeur est d'environ 1,3 millièrne de millimètre, avec une longueur double. C'est un bactérium qui forme des amas, constituant des flocons ressemblant à ceux de certains précipités amorphes (fig. 21) Les globules, beaucoup plus petits que ceux de levure de bière, sont agités vivement, lorsqu'ils sont isolés, du mouvement brownien. Lavée à grande eau par décantation, puis délayée dans de l'eau sucrée pure, elle l'acidifie immédiatement, progressivement, mais avec une grande lenteur, parce que l'acidité gêne beaucoup son action. Si l'on fait intervenir la craie, qui maintient la neutralité du milieu, la transformation du sucre est sensiblement accélérée; au bout d'une heure le dégagement de gaz est manifeste; la liqueur se charge de lactate et de butyrate de chaux en quantités variables.

Dans le cas où la solution de sucre renferme une matière azotée et des sels convenables à la nutrition des ferments, la levure lactique se développe et l'on en recueille des quantités qui n'ont de limites que dans les poids du sucre et de la matière albuminoïde employés. Il faut très peu de cette levure pour transformer un poids considérable de sucre. Son activité n'est qu'affaiblie quand on la dessèche ou qu'on la fait bouillir avec de l'eau. La fermentation doit s'effectuer de préférence à l'abri de l'air, pour ne pas être gênée par les végétations et les infusoires étrangers.

La fermentation lactique, dans les conditions indiquées plus haut par M. Pasteur *lorsque le ferment lactique se développe seul*, est souvent plus rapide que la fermentation alcoolique et moins longue que dans la pratique ordinaire (procédés Boutron et Frémy, Bensch, etc.).

La température la plus favorable paraît être de 35° centigrades environ.

D'après les recherches de M. Ch. Richet (*Compt. rend. de l'Acad. des sciences*, t. LXXXVI, p. 550; t. LXXXVIII, p. 750), l'oxygène libre active la fermentation lactique; l'ébullition du lait diminue de moitié l'activité de la fermentation, en coagulant une matière albuminoïde soluble. Par l'addition de peptone ou de sucs digestifs pouvant produire de la peptone dans le lait, on augmente aussi l'activité de la fermentation. On sait de plus aujourd'hui qu'il existe plusieurs variétés de microbes susceptibles de provoquer la fermentation lactique.

Si, sans rien changer aux conditions du milieu sucré qui,ensemencé avec la levure lactique, donne une fermentation lactique, on ensemence ce milieu avec des globules de levure, on voit apparaître la fermentation alcoolique et le développement de levure alcoolique.

Enfin, pour compléter l'analogie entre les deux espèces de fermentations, M. Pasteur fait ressortir que le ferment lactique peut, comme la levure alcoolique, se produire spontanément en apparence dans les liquides sucrés d'une composition appropriée à son développement. Ainsi, dans les fermentations alcooliques dans un milieu artificiel,ensemencé de traces de levure alcoolique, M. Pasteur a presque toujours vu apparaître la levure et

la fermentation lactiques, à côté de la levure et de la fermentation alcooliques.

Dans ces cas de production spontanée de levure lactique, en présence de levure alcoolique, la prédominance de l'un ou de l'autre organisme, et par conséquent de ses effets, dépend de la composition du milieu, plus ou moins appropriée à l'une ou à l'autre levure, et notamment des conditions de neutralité du liquide.

Ainsi, si à un mélange d'eau sucrée et de levure de bière on ajoute de la magnésie, il y aura à la fois fermentation alcoolique et fermentation lactique avec précipitation de lactate de magnésie, et l'on verra, mêlés aux globules de levure de bière, une quantité considérable de petits globules de ferment lactique. Un milieu légèrement alcalin convient le mieux au développement de la nouvelle levure ; il en est de même, du reste, pour le ferment alcoolique.

Le développement concomitant de la levure alcoolique et du ferment lactique explique pourquoi on a pu, à plusieurs reprises signaler la présence de l'acide lactique comme l'un des produits de la décomposition du sucre sous l'influence de la levure de bière.

Les expériences les plus précises et les plus multipliées ont prouvé à M. Pasteur qu'il ne se forme pas la plus petite quantité d'acide lactique dans les fermentations alcooliques normales.

Lorsqu'il y apparaît ce qui est fort rare, à moins qu'on ne choisisse les conditions favorables, on peut être assuré que la levure de bière est mêlée de levure lactique facile à reconnaître par sa forme, son volume, son fourmillement.

Pour s'assurer de la présence ou de l'absence de l'acide lactique, on opère comme nous l'avons dit plus haut, page 25, pour la recherche de l'acide succinique et de la glycérine. La solution éthérée alcoolique de l'extrait du liquide fermenté est évaporée ; le résidu est saturé par l'eau de chaux ; le liquide est évaporé à nouveau, et le résidu est repris par l'alcool éthéré. Le résidu est enfin épuisé par l'alcool bouillant à 95° p. 100 qui dissout le lactate de chaux.

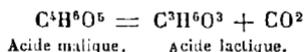
Sont susceptibles de subir la fermentation lactique : les glu-

coses et les substances conversibles en glucoses. Les saccharoses qui subissent le plus facilement la fermentation alcoolique sont celles qui ont le plus de peine à se transformer en acide lactique et réciproquement. Le sucre de lait donne très difficilement lieu à la production d'alcool, tandis qu'il se convertit beaucoup mieux en acide lactique, bien que d'après Lubolté, *Journ. J. Prakt. Chem.*, LXXXVII, 282) et Proust (*Ann. ch. phys.* (2) X, 29) l'action soit très lente, le sucre de lait se retrouvant dans la liqueur jusqu'à la fin de la fermentation.

La sorbine, l'inosite, la mannite, la dulcité ne subissent pas la fermentation alcoolique, mais sont entamées par le ferment lactique.

Le malate de chaux et, en général, toutes les substances dont la fermentation produit de l'acide butyrique, semblent pouvoir donner de l'acide lactique.

Dans la fermentation du malate de chaux, il se dégage de l'acide carbonique.



CHAPITRE X

FERMENTATIONS ACIDES

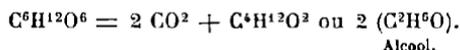
Un grand nombre de composés chimiques sont susceptibles de fermenter en fournissant divers acides gras volatils, notamment l'acide butyrique comme produits de leur transformation, lorsqu'on les place dans des conditions convenables. On peut donner à ce genre de fermentations le nom de fermentations acides.

Tels sont l'acide lactique et toutes les substances susceptibles de subir la fermentation lactique, sucre, matières amylacées ; les acides tartrique, citrique, malique, mucique, la glycérine.

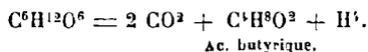
Les fermentations acides représentent au point de vue de la réaction chimique effectuée un phénomène dans lequel il y a à la fois oxydation et réduction dans la molécule, et par conséquent partage de celle-ci en produits plus riches en oxygène tels que l'acide carbonique et en produits plus pauvres en oxygène que le composé initial. En cela la fermentation acide se rapproche de la fermentation alcoolique.

Elle en diffère en ce que la somme de l'acide carbonique et du second terme moins oxygéné n'est pas égale au terme initial ; il manque pour atteindre cette égalité une certaine quantité d'hydrogène qui se dégage avec l'acide carbonique.

Dans la fermentation alcoolique on a :

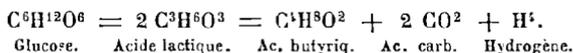


Dans la fermentation butyrique on a :

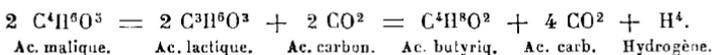


Rien n'est plus facile que de représenter par des équations la production de l'acide butyrique aux dépens de la plupart de ces corps bien définis et de composition connue.

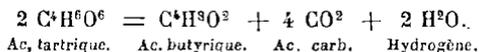
Ainsi, le sucre et l'acide lactique donneraient :



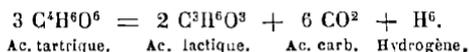
Pour l'acide malique, on aurait :



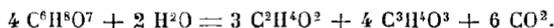
L'acide tartrique se dédoublerait en acides butyrique, carbonique et en eau :



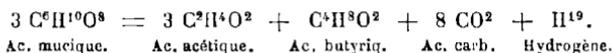
Peut-être se forme-t-il préalablement de l'acide lactique :



Suivant M. Personne, l'acide citrique se transformerait préalablement en acides lactique et acétique :



L'acide mucique, qui ne diffère de l'acide citrique que par de l'eau en plus, se dédouble comme lui en acides acétique, butyrique, carbonique et en hydrogène.

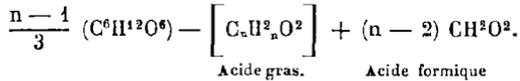


Dans d'autres phénomènes analogues qui s'exercent aux dépens des mêmes substances, on voit apparaître des acides homologues de l'acide butyrique ; de même que dans la fermentation alcoolique il se forme des alcools à équivalents plus élevés que celui de l'alcool éthylique.

Ainsi dans les conditions de la fermentation butyrique, on voit se former de l'acide propionique, de l'acide acétique, de l'acide valérique aux dépens du sucre ou de l'amidon.

La glycérine mise en contact prolongé avec la levure de bière fournit aussi de l'acide propionique mêlé d'acides for-

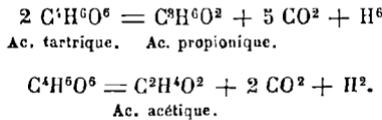
mique et acétique. M. Monoyer représente d'une manière générale la production des acides gras aux dépens du sucre par l'équation :



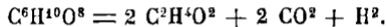
L'acide formique se décomposerait lui-même en acide carbonique et hydrogène.

Le tartrate de chaux brut, mêlé à des matières organiques et abandonné en été sous l'eau, fermente et fournit de l'acide propionique, que Limpricht et von Uslar considèrent comme étant isomère de l'acide propionique ordinaire, ce qui paraît peu probable, la théorie ne permettant pas de prévoir l'existence de deux modifications de l'acide propionique.

Le tartre brut, sans addition de chaux, ne donne que de l'acide acétique. On a :



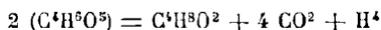
Dans la fermentation de l'acide mucique, dont nous avons parlé plus haut, l'acide butyrique, qui n'apparaît que tardivement et en petite quantité, doit être considéré comme un terme secondaire. Le phénomène principal se résume au point de vue chimique par l'équation :



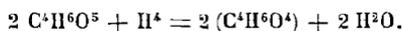
Tous les composés du groupe malique, les acides malique, fumarique, aconitique, aspartique et l'asparagine subissent, sous forme de sels de chaux et en présence des matières animales en voie de décomposition, une transformation en divers produits parmi lesquels on peut signaler l'acide succinique comme terme principal.

Il convient de remarquer que l'acide succinique étant un produit de réduction de l'acide malique, sa production s'explique naturellement par l'action de l'hydrogène naissant résultant de

la formation des acides gras volatils sous l'influence des microbes aux dépens d'une portion de l'acide malique.

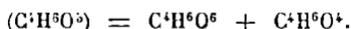


Ac. malique. Ac. butyrique.



Ac. succinique.

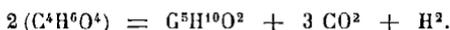
On peut aussi supposer que deux molécules d'acide malique se transforment en une molécule d'acide tartrique et une molécule d'acide succinique.



Ac. malique. Ac. tartrique, Ac. succinique.

L'acide tartrique donnerait ensuite lieu à la fermentation butyrique formulée plus haut.

La production de l'acide valérique dans la fermentation succinique du malate de chaux s'explique par l'équation :



Ac. succinique Ac. valérique.

Les acides maléique, fumarique, aconitique, ne différant de l'acide malique que par de l'eau en moins, leur transformation en acide succinique s'explique de la même manière.

Enfin l'acide aspartique pouvant être considéré comme de l'acide amido-succinique, et l'asparagine comme de l'acide amido-succinamique, la production de l'acide succinique à leurs dépens ne peut pas surprendre.

Nous venons de passer en revue un grand nombre de réactions ; toutes elles appartiennent à la classe des fermentations, parce qu'elles sont provoquées par des organismes cellulaires (ferments figurés).

Elles ont en outre un côté commun, la formation d'acides de la série grasse.

M. Pasteur a particulièrement étudié le ferment qui développe la décomposition butyrique du lactate de chaux, organisme auquel il a donné le nom de *fermentum butyricum*.

« Le ferment butyrique est constitué par de petites baguettes cylindriques arrondies à leurs extrémités, ordinairement droites, isolées ou réunies par chaîne de 2, 3, 4 articles et même davantage. La largeur de ces bâtonnets est en moyenne de 2 millièmes

de millimètre et la longueur des articles isolés varie de 2 à 20 millièmes de millimètre. Ces organismes s'avancent en glissant. Pendant ce mouvement, leur corps reste rigide ou éprouve de légères ondulations; ils pirouettent, se balancent et font trembler leurs extrémités; souvent ils sont recourbés. Ces êtres singuliers se reproduisent par scissiparité.

« Le ferment butyrique est donc un infusoire du genre *vibron*. » (Pasteur, *Comp. rend.*, LII, p. 344, février 1861.) Il est identique avec le *bacillus amylobacter*.

Le même auteur a constaté que ce ferment, placé dans une solution de sucre contenant des phosphates et des sels ammoniacaux, se reproduit et détermine la fermentation butyrique.

Les conditions de son développement sont celles de la fermentation lactique.

Température la plus favorable : 40 degrés; milieu neutre ou légèrement alcalin. Un milieu acide s'oppose au développement des germes du ferment butyrique. Cependant, une fois formé, il peut vivre et provoquer la décomposition du sucre ou de l'acide lactique dans un milieu acide, pourvu qu'il n'y ait pas excès d'acidité.

En immergeant des tiges feuillues d'*Elodea canadensis* dans de l'eau sucrée et en exposant le vase à une température de 40°, on voit bientôt se développer une fermentation butyrique très active, avec dégagement abondant de gaz; elle continue pendant longtemps alors même que le liquide est devenu fortement acide. En même temps on observe la pullulation de nombreuses bactéries, surtout à la surface inférieure des feuilles, bactéries dont les germes se trouvaient à la surface de ces feuilles. Dans ce cas la fermentation butyrique se produit directement sur le sucre sans fermentation lactique préalable.

D'après M. Pasteur, les vibrions butyriques non seulement vivent sans oxygène libre ⁽¹⁾, mais l'oxygène les tue. Ce sont donc des organismes anaérobies.

Les conditions de nutrition du ferment butyrique sont, d'après Pasteur, les mêmes que celles de tous les ferments en général. Cependant, vu son apparition plus tardive, par rapport

(1) Les ferments alcoolique et lactique sont dans le même cas.

au ferment lactique, dans les mélanges qui subissent la décomposition lacto-butyrique, on peut admettre qu'il a besoin pour se nourrir de substances albuminoïdes en voie d'altération plus avancée.

Généralement avec le sucre, on voit apparaître successivement les fermentations visqueuses, lactique et butyrique. Cependant il est certain que la fermentation butyrique peut précéder la fermentation lactique et s'exercer sur le sucre lui-même.

M. Fitz donne le nom de bacillus butylicus à un microbe contenu dans l'eau de lavage du foin. Comme il se développe plus facilement que les autres microbes qui l'accompagnent dans le liquide glycérique dont nous avons donné la composition plus haut, on arrive à le purifier par des cultures successives. Dans tous les cas il est plus sûr pour arriver à une culture pure d'employer la méthode d'ensemencement par une seule cellule dont il a déjà été parlé à l'occasion des ferments alcooliques. Par son aspect, il ressemble au ferment butyrique de M. Pasteur et ses proportions sont notablement plus grandes que celles du bacillus ethylicus.

Il ne produit pas de zoglée à la surface des liquides au sein desquels il se développe. Les formes qu'il présente dépendent de l'âge de la cellule et de la nature du milieu. Dans un liquide riche en glycérine les cellules s'élargissent; elles deviennent au contraire plus ténues dans les liquides contenant de l'albumine.

Lorsque la fermentation provoquée par ce microbe est arrivée à son maximum d'intensité on observe une voussure au milieu de la cellule qui prend ainsi la forme d'un fuseau. Les cellules jeunes ne sont pas colorées par l'iode, mais au moment où se produit la sporulation ce réactif leur communique une coloration violette intense.

Dans le milieu glycérique les spores du microbe supportent une ébullition de quelques minutes seulement, à 80° les spores perdent la faculté de germer après huit à dix heures.

L'action comme ferment atteint son maximum entre 39 et 40° et s'éteint entre 45 et 45°,5. Pendant la fermentation de la glycérine sous l'influence du bacillus butylicus il se dégage à la fois de l'hydrogène et de l'acide carbonique; la surface du li-

quide se couvre d'une abondante mousse blanche qui tombe au bout de dix à douze jours.

Lorsque la fermentation s'est effectuée régulièrement, on trouve à la fin pour 100 grammes de glycérine employée 8^{es},1 d'alcool butylique normal, 17^{es},4 d'aide butyrique, 1^{er},7 d'acide lactique ordinaire, 3^{es},4 de glycol propylénique normal et des traces d'alcool éthylique et d'alcool propylique normal, ainsi que de la phorone.

Le même bacille ensemencé dans un milieu composé de 6 litres d'eau, 180 grammes de mannite, 0^{es},1 de phosphate bi-potassique, 0^{es},2 de sulfate de magnésie, 1 gramme de sel ammoniac et de 45 grammes de carbonate de chaux précipité provoque au bout du onzième jour une fermentation qui se poursuit pendant quinze jours environ. Le liquide renferme alors pour 100 grammes de mannite, de l'alcool butylique normal 10 grammes, de l'acide butyrique pur 35^{es},4, de l'acide lactique 0^{es},4 et une trace d'acide succinique.

Le bacillus butylicus renfermant de l'invertine, on peut donc admettre qu'il y a préalablement inversion dans son action sur la saccharose.

Ensemencé sur une solution formée de : eau, 6 litres ; saccharose 180 grammes, 76 grammes de carbonate de chaux précipité, phosphate bipotassique, sel ammoniac, sulfate de magnésie comme précédemment, il donne lieu à une fermentation qui débute après huit jours et se poursuit durant vingt-cinq jours.

Les produits formés rapportés à 100 de saccharose sont : acide butyrique normal 42^{es},5 avec de faibles quantités d'acide acétique et d'acide caproïque; alcool butylique normal 0^{es},5; acide lactique 0^{es},3.

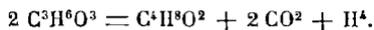
Le bacillus batylicus se développe aussi dans des solutions : de lactate de chaux ou d'ammoniaque; de glycérate, malate, citrate, tartrate, quinate de chaux, de tartrate d'ammoniaque, d'érythrite de lactose, de quercite, mais sans provoquer de véritable fermentation.

Le bœcillus butylicus est sans action sur l'amidon. Il ne produit pas, en effet, de diastase capable de saccharifier la matière amyloïde qui ne peut fermenter qu'à cette condition.

Au contraire, le bacillus ethylicus agit à 40° sur l'empois d'amidon additionné de carbonate de chaux. L'amidon est d'abord saccharifié par la diastase élaborée par l'organisme; on trouve comme produits pour 100 grammes de fécule : 1 gramme d'alcool éthylique normal; 3 grammes d'acide acétique; 384^{gr},7 d'acide butyrique et 0^{gr},33 d'acide succinique. Comme le bacillus ethylicus ne transforme pas le lactate de chaux en butyrate, on peut admettre que la glucose provenant de la saccharification de l'amidon est directement convertie dans ces conditions en acide butyrique.

La fermentation butyrique du lactate de chaux dont nous avons parlé plus haut, est provoquée par le bacillus amylobacter ou ferment butyrique de Pasteur; outre l'acide butyrique il se forme de petites quantités d'alcools éthylique et butylique.

Fitz a constaté l'existence d'un autre microbe agissant dans le même sens sur le lactate de chaux, ce microbe butyrique s'obtient en faisant des cultures de bouse de vache dans un milieu contenant du lactate de chaux. Ce ferment butyrique se précipite sous forme de globules ronds ayant 1,6 à 1,7 millièmes de millimètre de diamètre, rangés en chapelets. Les cellules en voie de segmentation sont un peu allongées et étranglées vers le milieu. On obtient avec cet organisme une fermentation très active, produisant la dose théorique d'acide butyrique normal d'après l'équation



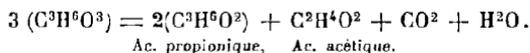
Sous l'influence de certains bacilles, le lactate de chaux au lieu de donner de l'acide butyrique se convertit en d'autres acides gras volatils, dont le plus important par la masse est l'acide propionique : acides acétique, propionique, valérique.

Ce fait avait déjà été observé en 1854 par Streeker dans une fermentation butyrique montée comme à l'ordinaire mais dont la marche fut très ralentie par des abaissements de température. Au bout d'une année, lorsque tout l'acide lactique eût disparu, ce chimiste trouva au lieu d'acide butyrique, les acides gras nommés plus haut et surtout de l'acide propionique.

Fitz a depuis repris l'étude de cette fermentation propionique

du lactate de chaux. Le ferment spécial (ferment propionique) qu'il a eu entre les mains et dont il n'indique pas l'origine dans les notes diverses publiées par lui dans les *Berichte* (1878, p. 1898; 1879, p. 479; 1880, p. 1309; 1881, p. 1084) se présente sous forme d'un bacille allongé, mince, formé de chaînes recourbées par la juxtaposition bout à bout de plusieurs cellules.

Sous l'influence de ce ferment propionique, 100 grammes de lactate de chaux n'ont fourni que des traces qualitativement déterminables d'alcools. Les proportions des acides acétique et propionique répondaient à peu près à l'équation de décomposition :



Il ne se dégage pas d'hydrogène, Pasteur avait déjà observé que dans des cas assez rares, lors de la fermentation du lactate de chaux, l'acide carbonique dégagé ne contenait pas d'hydrogène.

La fermentation propionique du lactate de chaux ne donne pas trace d'acide butyrique. Elle représente donc une espèce de fermentation toute spéciale et bien distincte de la fermentation butyrique ordinaire; dans d'autres fermentations du même genre Fitz a obtenu outre l'acide propionique et l'acide acétique des quantités notables d'acide valérianique. Il n'a pas pu établir nettement si dans la fermentation propionique du lactate de chaux il peut se former des quantités variables d'acide valérique normal ou si l'apparition de cet acide est due à une fermentation spéciale accompagnant la fermentation propionique.

Le malate de chaux est également susceptible de fournir de l'acide propionique sous l'influence d'un bacille spécial composé de cellules cylindriques courtes et sur l'origine duquel Fitz ne donne pas de renseignement.

55^{gr}, 6 d'acide malique à l'état de malate de chaux ont donné 0^{gr}, 5 d'alcool et un mélange d'acides gras volatils principalement formé d'acide propionique 18 grammes et d'acide acétique 6 grammes, avec des traces d'acide butyrique. Le phénomène chimique se représente approximativement par l'équation :



Le bacille propionique du malate de chaux est sans action sur le succinate de chaux.

Sous l'influence d'un bacille spécial assez semblable au bacille éthylique, mais pourtant distinct, bacille qui offre la forme de baguettes ténues quelquefois réunies deux à deux, le malate de chaux subit une transformation très active terminée en quelques jours (quatre à cinq jours).

Les produits formés sont l'acide carbonique, l'acide succinique et l'acide acétique, d'après l'équation :



Les travaux de Fitz sur les ferments contenus dans le foin et la bouse de vache, travaux malheureusement restés inachevés par la mort prématurée de ce jeune et distingué savant, ont également porté sur l'action qu'exercent ces ferments sur l'érythrite.

Si l'on fait deux cultures successives et préliminaires dans une solution d'érythrite contenant les matières nutritives nécessaires, et si l'on ensemence quelques gouttes de la seconde culture dans une grande quantité de solution nutritive d'érythrite à 30 p. 100, additionnée de carbonate de chaux précipité (25 p. 100), on voit tout d'abord se développer une bactérie en forme de poire ayant une longueur de 2,8 millièmes de millimètre et une largeur de 1,5 millième de millimètre. Cependant cet organisme ne tarde pas à disparaître pour faire place : à un bacille qui ressemble beaucoup au bacille butyrique de Fitz et à deux micrococci, l'un rond et l'autre ovale. On trouve après que la fermentation est achevée, comme produit principal, de l'acide butyrique accompagné de traces d'acides acétique et formique; l'acide succinique fait défaut.

En procédant de même avec l'eau de lavage de la bouse de vache, le microbe dont le développement est le plus abondant est le bacille en poire, signalé plus haut; il est accompagné d'un autre bacille très petit, d'un micrococcus et d'un microbe en chapelet. La fermentation effectuée en présence du carbonate de chaux a donné pour 30 grammes d'érythrite, à côté de traces d'alcool, 13 grammes d'un sel de chaux presque entièrement constitué par du butyrate, avec traces d'acétate et de caproate et 12 grammes d'acide succinique.

Une solution étendue de quercite ensemencée avec l'eau de lavage du foin, comme dans les cas précédents, en présence du carbonate de chaux, a donné lieu au développement du *bacillus butylicus* et à la production exclusive d'acide butyrique.

Un bacille en forme de massue trouvé par hasard dans que culture des bacilles du foin dans le milieu glycérique, agit comme ferment dans une solution de mannite à 30 p. 1000, additionnée de sels nutritifs et de carbonate de chaux. La fermentation terminée au bout de sept semaines a fourni pour 100 grammes de mannite : 27^{gr}, 3 d'alcool, 7^{gr}, 9 de formiate de chaux, avec une trace d'acide succinique (0^{gr}, 04).

Une solution de glycérine à 1^{gr}, 5 p. 100 mise en fermentation avec un micrococcus souillé par une petite quantité d'un bacille a donné après quatre semaines pour 50 grammes de glycérine : 16^{gr}, 63 d'alcool brut contenant 6/7 d'alcool éthylique et 1/7 d'alcools supérieurs. On a obtenu en plus 8^{gr}, 5 d'un sel de chaux à acides volatils, principalement composé de butyrate avec un peu de formiate et d'acétate. On n'a pas trouvé d'acide fixe.

Il résulte de cette expérience et de beaucoup d'autres que la glycérine peut être amenée à fermenter sous l'influence d'un assez grand nombre de microorganismes, avec production de divers termes de décomposition.

Ainsi, le microbe du pus bleu mis en fermentation avec la glycérine étendue a donné pour 100 grammes de glycérine : 10^{gr}, 9 d'alcool anhydre brut, principalement composé d'alcool éthylique et contenant 0^{gr}, 8 d'un alcool passant entre 114 et 117°; 9 grammes de sels de chaux à acides volatils (acide butyrique dominant et un peu d'acide acétique); 0^{gr}, 71 d'acide succinique. Le milieu de fermentation contenait outre le microbe pyocyanique un autre bacille. Fitz n'a pu établir avec certitude auquel de ces deux microorganismes il convient d'attribuer la principale fermentation. Ce savant a fait diverses tentatives afin de s'assurer si le microbe pyocyanique fonctionne réellement comme ferment. Deux ou trois jours après l'ensemencement ce microbe se développe abondamment et apparait seul; en même temps on voit commencer la fermentation. Il ne paraît donc y avoir aucune raison de l'exclure comme ferment. Il est vrai

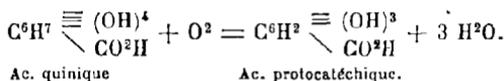
que dans les solutions de lactate et de malate de chaux le même microbe se multiplie en engendrant la matière colorante caractéristique, mais sans produire de fermentation.

Une solution nutritive contenant du citrate de chaux, ensemencée avec l'eau de lavage non bouillie du foin, présentait au bout de trois jours un micrococcus accompagné d'une petite quantité de bacilles. Au bout de cinq jours on y constatait la présence d'un bacille très fin contenant des spores permanentes, d'un micrococcus généralement constitué par des paires de cellules. Après dix jours les micrococci ont disparu à peu près et il ne reste plus que le bacille ténu qui paraît être l'agent principal de la fermentation. L'opération a donné pour 100 grammes d'acide citrique anhydre :

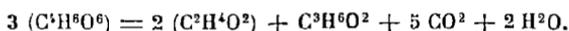
4^{gr}, 75 d'alcool éthylique ; 72^{gr}, 9 de sel de chaux à acide volatil uniquement composé d'acétate de chaux ; 0^{gr}, 41 d'acide succinique.

Une solution de quinate de chaux ensemencée par les ferments aériens, puis conservée à l'abri de l'air atmosphérique ne fournit que les acides : formique, acétique et propionique, c'est-à-dire les premiers termes de la série des acides gras saturés.

Au libre contact de l'air l'acide quinique se convertit en acide protocatéchique, grâce au développement d'un organisme aérobique qui agit comme ferment oxydant. Les relations de composition qui relient l'acide quinique à l'acide protocatéchique expliquent le phénomène chimique :

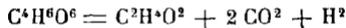


Un milieu composé de 2 litres et demi d'eau, 100 grammes de tartrate de chaux pur, 1 gramme de phosphate d'ammoniaque, 1 gramme de phosphate de magnésie, 0^{gr}, 5 de phosphate potassique et 0^{gr}, 5 de sulfate d'ammoniaque, abandonné à lui-même dans un endroit chaud, entre spontanément en fermentation par suite du développement d'un bacille anaérobique. L'acide tartrique est converti en acide acétique, propionique et carbonique :

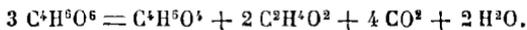


Avec la bouse de vache, un milieu nutritif chargé de tartrate de chaux donne lieu au développement de divers organismes (deux micrococccus dont l'un est ovale et l'autre rond; et vers la fin de la fermentation un bacille et un bactérium).

Fitz n'a pas vu dans ce cas le ferment décrit par Pasteur. Les produits trouvés sont l'acide acétique, un peu d'acide butyrique et d'alcool éthylique. La formation dominante de l'acide acétique s'explique par l'équation :



En abandonnant à elle-même une solution à 1 p. 100 d'acide tartrique neutralisé par l'ammoniaque et renfermant les sels nutritifs nécessaires aux microorganismes, on voit pulluler un microbe assez semblable au *Bacterium termo*. Celui-ci introduit dans une solution de tartrate ammonique beaucoup plus concentrée que la précédente, à 25 ou 30°, provoque la décomposition totale du sel en six à huit semaines, en obtenant de l'acide acétique, de l'acide succinique et de l'acide carbonique comme termes principaux :

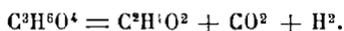


On trouve aussi un peu d'acide formique.

2 kilogrammes d'acide tartrique ont fourni ainsi plus de 500 grammes d'acide succinique.

La bactérie commune (Miquel), très répandue dans l'eau ordinaire, peut se développer dans les solutions d'asparagine contenant les sels nutritifs usuels, entre 30 et 36°, surtout si l'on a soin d'aérer la liqueur. Après huit à dix jours l'asparagine a disparu et se trouve remplacée par du succinate d'ammoniaque, avec un peu de carbonate ammonique, ainsi qu'une substance mucilagineuse. En même temps, la moitié du carbone de l'asparagine se dégage à l'état d'acide carbonique. Le ferment en question se présente sous forme d'articles isolés ou réunis deux à deux, plus rarement trois à trois; ils sont renflés aux extrémités; longueur 1,5 millièrne de millimètre, largeur 0,5 millièrne de millimètre. En présence de l'eau, ce microbe ne résiste pas plus de deux heures à une température voisine de 49° (Miquel, *Bulletin soc. chim. de Paris*, t. XXXI, p. 101).

Une solution de glycérate de chaux ensemencée avec de la bouse de vache ou de l'eau de lavage du foin fournit plusieurs microbes, notamment deux micrococci, l'un sphérique, l'autre en cellules allongées et réunies en chapelets. La décomposition de l'acide glycérique se fait d'après l'équation ;



Le bacillus amylobacter de MM. Trécul et Van Tieghem, identifié plus tard avec le ferment butyrique de M. Pasteur, possède la propriété de provoquer l'hydratation de certaines variétés très sensibles de la cellulose.

La glucose qui résulte de ce premier phénomène, subit ensuite la fermentation butyrique.

Les fermentations des détritux végétaux dans la vase des marais et aussi dans le tube digestif des herbivores, fermentations qui donnent lieu à un dégagement de méthane, d'hydrogène et d'acide carbonique, sont dues à l'action d'une bactérie minuscule qui peut fonctionner avec ou sans air. M. Toppeiner décrit le ferment intestinal, comme formé de bacilles courts et mobiles; il a constaté son action sur le coton et le papier à filtrer.

Fermentation du tabac. (Suchsland, *Berichte der deutschen botan. Gesellschaft*, t. XI, p. 79.) — Avant de fabriquer les cigares avec les feuilles de tabac on fait subir à celles-ci une fermentation spéciale qui se développe lorsqu'on les empile en tas très serrés. Le tabac acquiert ainsi l'arome nécessaire à la qualité des cigares. D'après M. Suchsland cette fermentation serait provoquée par des microbes. Chaque espèce de tabac paraît avoir ses microbes particuliers et, en inoculant une espèce bactérienne propre à un tabac à un autre tabac, on communiquerait à celui-ci, pendant sa fermentation, le goût et l'odeur qui distinguent le produit auquel elle a été empruntée.

Du tabac cultivé en Allemagne, mis à fermenter par l'action de microbes recueillis sur des espèces plus fines a fourni des produits exceptionnellement bons.

Ces résultats sont analogues à ceux obtenus avec les moûts de raisins ordinaires mis en fermentation avec des levures empruntés à de bons crus.

Fermentations sulfhydriques. — On doit à M. P. Miquel la découverte d'un microorganisme qui jouit de la remarquable propriété de convertir le soufre : soufre libre, soufre contenu dans le caoutchouc vulcanisé ou celui qui se trouve dans les matières albuminoïdes (en combinaison instable avec la molécule organique), en hydrogène sulfuré s'il opère en milieu acidulé ou en sulfure (sulfure ammonique, sulfure de potassium ou de sodium) si le liquide est alcalin. M. Miquel lui donne le nom de bacillus sulfhydrogenus.

L'attention de ce savant avait été attirée par un fait assez singulier qui se produisait toutes les fois que l'on prenait de l'eau à un tube de caoutchouc adapté à la canalisation d'eau de Seine alimentant le laboratoire.

En mettant des fragments de ce tube en caoutchouc dans des tubes scellés et remplis d'eau bouillie et refroidie on pouvait constater dans cette eau, au bout de soixante-douze heures, à la température de 15 à 20°, la présence d'une quantité notable d'hydrogène sulfuré (environ 30 centimètres cubes par litre). Le caoutchouc qui avait produit cet effet étant privé d'eau sulfhydrique par balayage au moyen d'un courant d'air filtré reproduisait le même phénomène, lorsqu'il était remis en contact avec de la nouvelle eau.

Il perdait au contraire toute activité après avoir été maintenu pendant une heure dans l'eau bouillante. Ces faits indiquaient assez nettement une cause microbienne pour la genèse de l'hydrogène sulfuré.

A l'examen microscopique la matière muqueuse répandue à la surface interne du caoutchouc révéla la présence de plusieurs microbes, notamment d'un bactérium ou bacille à articles très courts et très grêles. Cet organisme isolé put être cultivé dans des liqueurs minérales, dans de l'urine, des liqueurs albumineuses et se montra capable de déterminer la fermentation sulfhydrique dans tous les liquides où il a à sa disposition du soufre à l'état de liberté ou du soufre combiné à des matières protéiques. Par contre il ne paraît pas capable d'agir sur les sulfates alcalins et alcalino-terreux. Les hyposulfites donnent cependant un résultat positif, mais cela tient à ce que la formation de l'hydrogène sulfuré est précédée de celle d'acides orga-

niques (acide lactique) qui en décomposant les hyposulfites amènent la précipitation du soufre libre. M. Miquel a du reste reconnu que les organismes doués de la propriété de produire de l'hydrogène sulfuré sont très nombreux. La plupart d'entre eux se présentent sous forme de bacilles plus ou moins allongés pouvant varier depuis la forme du bactérium à articles à peu près globulaires jusqu'à celle des bactéries filamenteuses à articles longs de 10 à 20 millièmes de millimètre.

La plupart de ces ferments appartiennent à la classe des êtres anaérobies facultatifs.

Quelques-uns de ces bacilles peuvent croître dans des liqueurs minérales, dans la composition desquelles entre le tartrate d'ammoniaque. D'autres au contraire ne s'y développent jamais, tandis qu'on les voit généralement prospérer dans les bouillons de bœuf, de peptone, dans la gélatine, l'urine, où ils donnent rapidement naissance à une quantité plus ou moins abondante d'hydrogène sulfuré. Le bacille *sulphhydrogenus* est formé d'articles courts de 1 à 2 millièmes de millimètre de longueur et de 0,6 à 0,8 millième de millimètre de largeur. Ses dimensions varient avec la richesse des milieux nutritifs où on le cultive. Il est grêle dans les solutions minérales étendues et devient plus gros dans la gélatine. Sur les substances demi-solides il produit en se développant des clous blancs très fournis. Maintenu pendant quelques heures entre 50 et 55° il meurt. D'autres bacilles sulfhydrogènes résistent mieux et peuvent supporter des températures humides allant jusqu'à 80°.

Pour se procurer ces bacilles et notamment le *bacillus sulphhydrogenus* dont nous venons de parler on procède comme il suit : l'eau d'égout récemment recueillie est additionnée d'un peu de soufre concassé; le vase à peu près plein et bien bouché est mis à l'étuve à 30°. On ne tarde pas à percevoir l'odeur sulfhydrique; le liquide s'éclaircit par suite de l'arrêt qu'éprouvent les fermentations concomitantes sous l'influence de l'acide sulfhydrique. Lorsque le phénomène est bien marqué on décante l'eau d'égout en laissant les fragments de soufre et on y substitue soit de la liqueur de Cohn stérilisée et étendue, soit de l'eau additionnée d'urine. Le dégagement d'hydrogène sulfuré ne tarde pas à se reproduire plus intense que le premier.

Une goutte de ce nouveau liquide est délayée dans un litre d'eau stérilisée, puis une goutte de cette dilution est mélangée à de la gélatine peptonisée additionnée d'une solution stérile de chlorure de plomb. Au bout de quelques jours, le substratumensemencé offre de nombreuses sphérules parmi lesquelles dominant des sphérules de couleur brun chocolat. Ces colonies colorées sont toutes formées par des organismes sulfhydrogènes et n'ont pris la teinte brune que grâce à l'action sur le sel de plomb de l'hydrogène sulfuré qu'elles engendrent.

En variant dans plusieurs expériences successives l'action de la chaleur sur l'eau d'égout, source naturelle de ces ferments, on arrive à détruire le bacillus sulfhydrogenus qui est de tous le plus répandu et l'on isole de nouveaux bacilles sulfhydrogènes moins sensibles à l'action de la chaleur.

Comme le soufre, les phosphores blanc et rouge peuvent être hydrogénés directement par plusieurs bactéries et fournir au contact des liquides nutritifs des dégagements gazeux d'une odeur aliacée et très fétide; ils agissent également sur l'albumine et sur l'urine.

On connaît aussi des bactéries susceptibles de réduire les sulfates en sulfures. On les rencontre dans les eaux sulfureuses des Pyrénées où ils constituent les flocons nommés *barégine* et *glairine*. Ces flocons sont formés de filaments très fins, entourés de matière muqueuse, rigides et à mouvements oscillatoires; leur protoplasma renferme de nombreuses granulations de soufre.

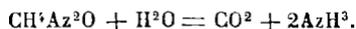
CHAPITRE XI

FERMENTATION AMMONIACALE

L'urée $\text{CH}^2\text{Az}^2\text{O}$ est, comme on le sait, l'un des principes constitutifs les plus importants de l'urine. Il y apparaît comme la principale forme sous laquelle l'azote est éliminé de l'organisme animal.

Ce corps de composition simple, cristallisable en prismes volumineux, ne diffère du carbonate d'ammoniaque que par les éléments de l'eau.

On a, en effet :



Par l'ébullition avec de l'eau alcaline ou avec l'eau seule, ce phénomène d'hydratation se produit plus ou moins vite. On l'observe même avec les composés plus complexes connus sous le nom d'uréides et dans lesquels on doit admettre la molécule de l'urée associée à d'autres groupements organiques; tels sont l'acide urique, l'alloxane, la créatine, etc.

Une solution d'urée pure dans l'eau se conserve sans altération pendant longtemps. Il n'en est pas de même des solutions naturelles d'urée, telles que l'urine, qui contient des sels et d'autres principes azotés plus rapprochés des matières albuminoïdes.

Tout le monde sait qu'au bout d'un temps plus ou moins long, suivant les conditions de température et l'état de santé de l'individu qui a excrété l'urine, ce liquide après son émission devient alcalin, d'acide qu'il était auparavant; en même temps

il exhale une odeur très prononcée d'ammoniaque; à ce moment l'urée a disparu, ou est sur le point de disparaître complètement; à sa place on trouve une quantité équivalente de carbonate d'ammoniaque.

Dans certains cas, l'urine est déjà alcaline et ammoniacale dans la vessie.

C'est à ce phénomène, à cette transformation spontanée que l'on a donné le nom de fermentation ammoniacale. (Dumas, *Traité de chimie*, VI, p. 380.)

D'après les observations de Müller (1860, *Journ. für prakt. Chem.*, LXXXI, p. 467), et de Pasteur (*Compt. rend.*, L, 869, mai 1860), la transformation de l'urée en ammoniaque et acide carbonique est due à l'intervention d'un ferment organisé spécial, constitué par une *torulacée* et formé de chapelets de globules très semblables à ceux de la levure de bière, mais beaucoup plus petits; leur diamètre est d'environ 1,5 millième de millimètre. M. Van Tieghem a fait une étude très complète de ce ferment. Il se trouve dans le dépôt blanc réuni au fond des urinoirs. M. Jacquemart (*Ann. chim. phys.* (3) VII, p. 149, 1843) avait déjà signalé ce dépôt comme particulièrement apte à provoquer la transformation.

L'étude, longuement poursuivie, des productions organisées qui se développent dans l'urine exposée à l'air, a convaincu M. Van Tieghem de la présence constante du ferment (*torulacée*), toutes les fois que l'urée fermente, et de la corrélation intime qui lie son développement facile ou pénible, à la transformation rapide ou lente de l'urée.

« Dans le cas, exceptionnellement réalisé, où cette *torulacée* se développe seule, le liquide reste limpide, la fermentation est prompte et le dépôt qui se forme au fond du vase est exclusivement constitué par les chapelets et les amas de globules mêlés aux cristaux d'urates et de phosphate ammoniaco-magnésien. Si la *torulacée* n'est accompagnée que d'infusoires, ce qui est le cas le plus général, la fermentation, quoiqu'un peu ralentie, est encore facile; mais s'il apparaît, outre les infusoires, des productions végétales dans le liquide et à la surface, la *torulacée* se développe péniblement et la transformation est très lente, le liquide pouvant rester acide ou neutre pendant des

mois entiers. Si, au lieu d'abandonner l'urine aux chances variables qu'y introduit l'ordre d'apparition des germes de l'air, on la place à l'étuve dans un flacon bouché, en y ajoutant une trace du dépôt d'une bonne fermentation, toutes les variations accidentelles disparaissent et le phénomène s'accomplit toujours de la même manière; un ou deux jours suffisent pour que l'urée disparaisse, et en même temps la torulacée se développe seule. La transformation de l'urée dans l'urine est donc corrélative de la vie et du développement d'un ferment organisé végétal. Ce ferment qui se développe au sein du liquide et surtout au fond du vase où, en s'accumulant il forme un dépôt blanchâtre, est constitué par des chapelets ou de petits amas de globules sphériques, sans granulations, sans enveloppe distincte du contenu et qui paraissent se développer par bourgeonnement; leur diamètre est de 0^m,0015 environ. »

Par des expériences directes M. Van Tieghem pense avoir démontré que le dédoublement par hydratation de l'acide hippurique, en acide benzoïque et glyco-colle, qui s'observe dans l'urine des herbivores après son émission, est dû à une fermentation analogue à celle qui dédouble l'urée. Le ferment actif serait identique avec le ferment ammoniacal. Ainsi, l'hippurate d'ammoniaque dissous, soit dans l'eau de levure, soit dans de l'eau sucrée contenant des phosphates, se dédouble toujours comme conséquence du développement d'un végétal microscopique identique avec la torulacée décrite ci-dessus (*Comptes rendus de l'Acad. des sc.*, t. LVIII, p. 533).

D'après Müller l'activité du phénomène est proportionnelle au nombre des globules. Lorsque à un mélange de sucre et d'urée en solution aqueuse on ajoute de la levure de bière, on voit toujours apparaître les petits globules de levure ammoniacale, dès que le liquide prend une réaction alcaline (Pasteur). La levure de bière seule décompose le sucre sans provoquer la transformation de l'urée. La température la plus convenable est celle du corps humain (37°).

Enfin, comme pour le moût de raisin et de bière, le ferment ne préexisterait pas dans l'urine; il y serait apporté du dehors sous forme de germes.

La nécessité du ferment ammoniacal, pour la transformation

de l'urée dans l'urine, dans les conditions ordinaires de température, soulève une question médicale d'une grande importance. En effet, on a observé de nombreux cas pathologiques où l'urine était déjà plus ou moins fortement ammoniacale dans la vessie. Cette altération accompagne généralement, soit des lésions vésicales ou rénales, soit des maladies générales graves, telles que la fièvre typhoïde.

Lorsque l'urine est ammoniacale après un sondage, on peut craindre que la sonde n'ait servi de véhicule, et n'ait apporté dans la vessie les germes de la torulacée, en provoquant ainsi l'infection. Une urine ammoniacale provenant d'un malade de la Charité a été examinée par M. Gayon, à l'instant même de son émission; on y a constaté la présence d'innombrables organismes; l'examen avait eu lieu quelques jours après un sondage.

Cependant, d'après l'avis des chirurgiens, l'urine se présente souvent ammoniacale sans sondage préalable; par exemple, dans les rétentions, bien que le séjour prolongé du liquide dans la vessie ne soit pas la seule condition du phénomène. En effet, M. Verneuil n'a pas trouvé l'urine ammoniacale chez une jeune fille hystérique, sondée après plusieurs jours de rétention.

Comme l'a dit M. Pasteur, le canal de l'urètre, relativement aux infiniment petits qui agissent comme ferment, est comparable au tunnel de la Tamise où ils peuvent circuler facilement.

Si donc, l'on doit s'étonner de quelque chose, c'est plutôt de ne voir apparaître que si rarement l'infection ammoniacale. C'est peut-être parce que l'urine est ordinairement acide et que cette acidité nuit au développement des germes de la fermentation.

Quoi qu'il en soit, pour Pasteur, le dédoublement de l'urée n'est pas possible sans la présence d'un ferment particulier, et il n'y a pas dans le corps humain de réaction purement chimique, capable de donner naissance à du carbonate d'ammoniaque dans les urines. C'est là, dit-il, une impression née de ses études prolongées sur les ferments et de sa longue expérience. Il avoue cependant que la solution définitive est encore à venir. (Voir à ce sujet la discussion sur les urines ammoniacales à l'Académie de médecine, *Moniteur scientifique* (3), t. IX, p. 143.)

Il semble déjà résulter des recherches micrographiques de Pas-

teur et de M. van Tieghem que la fermentation ammoniacale de l'urée n'est pas due à l'activité vitale d'un seul et même organisme.

Les travaux de M. Miquel commencés en 1878 et poursuivis jusqu'à ce jour démontrent, avec certitude que l'hydrolyse de l'urée et sa conversion en carbonate d'ammoniaque peut être provoquée par un assez grand nombre d'espèces d'organismes élémentaires.

Il nous est impossible de donner ici une analyse détaillée du long et important mémoire publié par M. Miquel dans ses annales de micrographie, sur les ferments de l'urée. Nous devons nous borner à en résumer les conclusions.

D'après l'auteur, il existe trois groupes d'organismes vivants capables de déterminer l'hydratation de l'urée, ce sont :

- 1° Les moisissures ou champignons urophages ;
- 2° Les schizophytes ou bactériens urophages, comprenant, les urobacilles, les urocoques, les urosarcines.

L'auteur décrit dix-sept ferments de l'urée distincts les uns d'avec les autres par des caractères suffisamment tranchés.

Sept appartiennent à la tribu des bacilles ;

Neuf appartiennent à la tribu des microcoques ;

Un doit être rangé dans la famille des sarcines.

M. Miquel classe les espèces urophages : d'après leur degré d'activité ou leur énergie fermentaire ; d'après leur résistance aux agents physiques et notamment à la chaleur ; enfin d'après quelques caractères morphologiques et l'aspect des cultures.

Lurobacillus Pasteurei décompose 3 grammes d'urée par heure ; il peut se cultiver à 40°. Ses spores résistent à 90°. Il est formé d'articles gros, mobiles, incultivables dans le bouillon et la gélatine peptonisée neutres.

Lurobacillus Duclauxii décompose 1^{er},50 d'urée par heure. Il peut se cultiver à 40°. Ses spores résistent à 90°. L'espèce est formée par des articles grêles, mobiles, incultivables dans le bouillon et la gélatine peptonisée neutres.

Les autres espèces (*urobacillus Maddoxii*, *Freudenreichii*, *Schutzenbergii* α et β ¹, *urobacillus* δ et ϵ) sont moins actives et hydratent moins de 1 gramme d'urée par heure.

(1) La découverte de *Lurobacillus Schützenbergii* β est due à M. Cambier, micrographe adjoind à l'observatoire de Montsouris.

Les urococques (urococcus van Tieghemi, Dowdeswelli, urococcus β , γ , μ , ν , ρ , δ , ϵ) ont généralement une énergie moindre que les urobacilles les plus actifs. Ceux dont l'énergie fermentaire est la plus grande décomposent de 2 à 5 grammes d'urée en vingt-quatre heures ¹.

Mécanisme de la fermentation ammoniacale. — Abstraction faite de la nature de la réaction chimique effective et des conditions du milieu, la fermentation ammoniacale diffère essentiellement sous plus d'un rapport de la fermentation alcoolique.

Nous avons vu plus haut que le ferment alcoolique se nourrit aux dépens du sucre qu'il décompose en alcool et acide carbonique et ne se développe que dans les milieux sucrés.

Les ferments ammoniacaux, tels que l'urobacillus Pasteurii, n'empruntent au contraire à l'urée décomposée l'azote dont ils ont besoin pour leur développement qu'en cas d'absence totale de tout autre produit azoté plus favorable à leur nutrition, telles que les matières protéiques ou leurs produits de décomposition; l'hydratation de l'urée paraît être un phénomène secondaire et indépendant de la nutrition de l'organisme actif. Les bouillons de culture rendus légèrement alcalins par addition d'un peu de carbonate d'ammoniaque sont aussi favorables au développement de l'urobacille que ceux auxquels on a ajouté de l'urée.

On avait, il est vrai, remarqué qu'un bouillon neutre et impropre à la culture devenait milieu convenable si l'on y ajoutait préalablement de l'urée. Ce résultat avait fait croire que la présence de l'urée est indispensable à la nutrition de l'organisme. Il est prouvé aujourd'hui que l'urée préalablement ajoutée ne favorise le développement que par suite de l'alcalinité du milieu résultant de l'hydrolyse d'une fraction de cette urée pendant l'opération de la stérilisation.

D'un autre côté la nature de la réaction est bien différente. Au lieu d'une dislocation profonde de la molécule sucrée en alcool et acide carbonique, phénomène que nous ne pouvons

(1) Voir pour la forme et l'apparence microscopiques de ces espèces les planches III, IV et V du tome V des *Annales de micrographie*, pages 260, 261, 263.

reproduire artificiellement avec les forces chimiques seules, nous nous trouvons ici en face d'un phénomène d'hydrolyse simple, réalisable par l'action des alcalis ou de l'eau seule avec le concours de la chaleur, analogue à ceux que provoquent comme nous le verrons plus loin les diastases ou ferments solubles.

On était donc en droit de penser que l'hydratation de l'urée pourrait être due à un produit de cet ordre élaboré et excrété par l'urobacille ou l'urococcus, comme l'invertine est excrétée par la levure de bière.

L'expérience est venue confirmer cette idée.

- En 1876, M. Musculus annonçait l'existence dans les urines filantes et ammoniacales rendues par certains malades d'un ferment soluble, capable de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque, en l'absence de ferments figurés. Il s'obtenait en précipitant par l'alcool les urines filantes et ammoniacales, le mucus coagulé constituant le ferment une fois lavé et séché se conserve sans perdre son pouvoir hydratant; il est soluble dans l'eau et sa solution filtrée fait fermenter rapidement l'urée; li est précipitable par l'alcool; les acides détruisent rapidement son activité comme ferment.

Depuis cette époque, personne après lui n'a pu mettre la main sur ce ferment soluble qui avait pris naissance dans des conditions pathologiques exceptionnelles. On avait même fini par mettre en doute l'existence d'un semblable agent.

Ce n'est que dans ces dernières années (1893) et à la suite de longs efforts restés d'abord infructueux que M. Miquel est arrivé à mettre hors de doute la présence d'une zymase (urase) spéciale dans les cultures des ferments figurés de l'urée. Les principales difficultés qui s'opposent à son extraction sont d'une part son oxydabilité, d'autre part son altérabilité sous l'influence des agents que l'on peut employer pour le précipiter (alcool, sels de chaux, etc.). L'urase, lorsqu'elle date de moins d'une semaine, est à peu près infiltrable et ses solutions sont inconcentrables; aussi les bouillons sur lesquels on opère doivent-ils être fortement chargés d'urase par des ferments figurés très actifs (urobacillus Pasteurii ou urobacillus Duclauxii). On emploie du bouillon de peptone stérilisé auquel on ajoute 3 à

4 centimètres cubes par litre de bouillon d'une fermentation achevée avec le ferment qu'on désire semer.

L'alcalinisation et l'ensemencement se font ainsi simultanément.

On stérilise à l'autoclave à 110° en flacon de trois à six litres de capacité aux trois quarts plein de bouillon de peptone à 2 p. 100. Après refroidissement on introduit le liquide alcalin contenant les germes du ferment, avec les précautions indispensables pour éviter l'entrée de germes étrangers et l'on porte à l'étuve à 30°.

Lorsque le ferment figuré de l'urée s'est sensiblement développé, on dirige très lentement dans le bouillon et bulle à bulle un courant d'air filtré sur du coton. De temps en temps, on prélève de la culture une vingtaine de centimètres cubes de liquide et on y dose la teneur en diastase. Quand cette dernière se montre en quantité assez grande pour déterminer en une heure à 48-50°, l'hydratation de 40 à 50 grammes d'urée par litre du liquide étendu de son volume d'eau l'opération est terminée; on retire le flacon de l'étuve; on y remplace l'air par du gaz de l'éclairage et on laisse la culture vieillir au contact de ce gaz.

Pour débarrasser le liquide chargé d'urase des ferments figurés qu'il peut renfermer, on le filtre à l'abri de l'air et au moyen du vide à travers une bougie en biscuit. Cette opération, toujours délicate à cause de la grande altérabilité du ferment soluble, peut être évitée si l'on opère l'hydrolyse de l'urée à une température qui dépasse 48°. En effet, à ce degré de chaleur les ferments figurés les moins sensibles à l'influence de la chaleur deviennent inactifs comme ferments. Il en résulte qu'au-dessus de 46° le phénomène chimique ne peut plus être attribué qu'à l'urase.

En résumé, les ferments figurés de l'urée sont des organismes qui se développent en milieu alcalin ammoniacal et qui sécrètent une diastase susceptible de provoquer l'hydratation de l'urée. La température la plus favorable à cette hydrolyse diastatique est d'environ 50°.

CHAPITRE XII

PUTRÉFACTION. — FERMENTATIONS PUTRIDES PTOMAÏNES ET LEUCOMAÏNES

Les matières protéiques, albuminoïdes et autres, qui entrent dans la composition des organismes vivants ont depuis longtemps une réputation toute spéciale d'instabilité, variable, du reste, avec la nature du corps.

On admettait généralement, avant les travaux de Pasteur, que ces produits, dès qu'ils sont soustraits à l'influence de la vie qui seule est capable de les maintenir dans leur intégrité, commencent à se transformer, à s'altérer et à se décomposer en divers principes, parmi lesquels se trouvent des composés à odeur forte et putride.

Les remarquables recherches d'Appert sur la conservation des substances animales, celles de Gay-Lussac sur la fermentation du moût de raisin, avaient fait penser que l'intervention momentanée de l'oxygène était indispensable pour provoquer un premier mouvement d'altération. Cette impulsion initiale une fois donnée, le phénomène de décomposition, pensait-on, se poursuit spontanément; la matière organique en voie de transformation devenait, d'après cette théorie, susceptible de transmettre le mouvement moléculaire dont elle est animée à des corps plus stables tels que le sucre, qui par eux-mêmes ne subissent aucune modification. C'est, comme nous l'avons déjà vu, la théorie de la fermentation empruntée par Liebig à Stahl et à Willis, avec certaines modifications de formes.

Cependant Schwann (*Ann. de Poggend.*, XLI, p. 184), Ure

(*Journal. prakt. Chem.*, XIX, 186), Helmholtz (*J. f. pra. Ch.*, XXXI, p. 429) avaient démontré que la plupart des substances altérables, chauffées dans un ballon avec de l'eau, de manière à chasser tout l'air par l'ébullition, ne s'altèrent plus lorsque au lieu de laisser rentrer de l'air ordinaire dans le matras qui se refroidit, on a soin de n'y faire pénétrer que de l'air préalablement chauffé au rouge. Dans ces conditions, la putréfaction n'apparaît pas et l'on n'observe pas non plus le développement d'infusoires ou de moisissures.

La présence abondante des infusoires et des moisissures dans la putréfaction était connue depuis longtemps, mais on ne pensait pas que ces êtres microscopiques étaient les vraies causes déterminantes des altérations. Ils se développent, disait-on, grâce aux germes apportés par l'air ou déjà contenus dans les corps altérables ou par génération spontanée, et parce qu'ils rencontrent un terrain favorable à leur nutrition ; entre leur apparition et la putréfaction il n'y a qu'un lien de concomitance.

Schwann et les auteurs cités plus haut pensaient, au contraire, que les germes des infusoires et les moisissures provoquent la putréfaction en se développant, et comme preuve ils présentaient leurs expériences où la putréfaction ne se produisait plus lorsqu'on détruisait les germes préexistants et qu'on empêchait leur introduction par l'air.

Comme la calcination de l'air donnait lieu à quelques objections, notamment à celle d'une altération possible des principes constitutifs de ce gaz, Schröder et Th. v. Dusch (*Ann. der Chem. und. Phar.*, t. LXXXIX, p. 232) reprirent les expériences de Schwann, avec cette différence qu'au lieu de laisser rentrer de l'air calciné dans les matras, où la substance organique avait été bouillie, ils firent simplement filtrer l'air à travers une couche suffisamment épaisse de coton cardé ; on arrive ainsi à arrêter mécaniquement les germes et les particules solides tenus en suspension, mais sans porter atteinte en quoi que ce soit aux propriétés et à la composition de l'air. Le mout de bière, le bouillon, la viande récemment bouillie dans l'eau, se conservent alors très bien, même pendant les chaleurs de l'été.

Quelques faits contradictoires venaient cependant prêter des

arguments aux adversaires de la théorie de la putréfaction sous l'influence des infusoires. Ainsi les auteurs des expériences citées tout à l'heure avaient eux-mêmes reconnu que le lait récemment bouilli se coagule, s'aigrit et se putréfie tout aussi bien dans l'air tamisé que dans l'air ordinaire; la viande non trempée dans l'eau, mais simplement chauffée au bain-marie ne se conserve pas non plus dans l'air tamisé; dans ces deux cas on n'observe ni infusoires ni moisissures et cependant l'altération se produit.

Il est donc évident, disait-on (Gerhardt, *Chimie organ.*, t. IV, p. 545), que c'est bien l'air qui apporte et dépose dans les matières en putréfaction les germes des êtres organisés, mais il n'est pas moins certain que ceux-ci ne sont pas la cause première de la décomposition, puisqu'elle peut s'effectuer sans leur concours. Si l'air calciné ou tamisé est moins actif, dans beaucoup d'expériences, que l'air ordinaire, c'est qu'on lui enlève par ces opérations non seulement les germes des infusoires, mais encore des débris des matières en décomposition qui y sont suspendus, c'est-à-dire les ferments dont l'activité viendrait s'ajouter à celle de l'oxygène.

La question en était là, lorsque Pasteur reprit l'étude de la putréfaction en se plaçant au point de vue qui l'avait guidé dans ses recherches sur les fermentations. Soutenu par l'idée que tous ces phénomènes trouvent leur explication dans la présence, le développement et la multiplication de végétaux ou d'animaux microscopiques, il cherche à établir qu'il en est de même dans la putréfaction des substances azotées animales.

Ses expériences sont dirigées dans deux voies qui conduisent au même but et se confirment l'une l'autre.

D'une part, elles tendent à démontrer que la putréfaction est toujours accompagnée de la présence, du développement et de la multiplication d'êtres vivants, organisés, infiniment petits.

D'un autre côté, elles établissent que toutes les fois que l'on se place dans des conditions convenables pour éviter la présence de germes d'organismes au début de l'expérience, l'altération n'apparaît pas, *même dans les produits les plus altérables.*

Ces expériences sont de nature, par leur précision et leur portée, à écarter les objections que soulèvent les altérations

partielles, observées par ses devanciers, Schrœder et v. Dusch, et dont il a été question plus haut.

Nous parlerons de la seconde série d'expériences à propos de l'origine des ferments, nous contentant de dire ici que tous les essais si multipliés de Pasteur conduisent à une solution positive. En empêchant le contact des germes avec la matière animale, on empêche en même temps toute trace de fermentation et d'altération.

M. Pasteur distingue deux ordres de phénomènes dans la putréfaction : les uns se produisent sous l'influence de ferments organisés qui vivent sans le concours de l'oxygène, comme le ferment butyrique; dans les autres, au contraire, l'oxygène intervient, comme élément essentiel, comburant; l'oxydation est également provoquée par des organismes.

Nous avons parlé des combustions lentes dans le chapitre de la *Fermentation acétique*; cette fermentation nous offre un exemple simple et net des réactions de ce groupe, et peut être considérée comme type des combustions lentes. Nous n'avons rien à ajouter ici à ce qui a été dit à ce sujet, et il ne nous reste qu'à parler des putréfactions à l'abri de l'oxygène ou de la *fermentation putride*.

Lorsque dans un liquide putrescible, contenant des matières organiques albuminoïdes, l'oxygène dissous a été absorbé et a disparu complètement sous l'influence des premiers infusoires développés, tels que le monas crepusculum et le bactérium termo, « les vibrions ferments qui n'ont pas besoin de ce gaz pour vivre, commencent à se montrer et la putréfaction se déclare aussitôt. Elle s'accélère peu à peu, en suivant la marche progressive du développement des vibrions. Quant à la putridité, elle devient si intense que l'examen au microscope d'une seule goutte de liquide est chose très pénible.

Il résulte de ce qui précède que le contact de l'air n'est aucunement nécessaire au développement de la putréfaction. Bien au contraire, si l'oxygène dissous dans un liquide putrescible n'était pas tout d'abord soustrait par l'action d'êtres spéciaux, la putréfaction n'aurait pas lieu; l'oxygène ferait périr les vibrions qui tenteraient de se développer à l'origine. »

Lorsque le liquide putrescible est exposé à l'air, on observe

simultanément les deux ordres de réactions; il se forme à la surface un véritable voile composé de bactériums, de mucors et de mucidinées, qui arrête l'oxygène et l'empêche de pénétrer dans le liquide. Les vibrions qui s'y multiplient, à l'abri de ce rempart, transforment par fermentation les matières albuminoïdes en produits plus simples, tandis que les bactériums et les mucors provoquent la combustion de ces produits et les ramènent à l'état des combinaisons les moins complexes de la chimie. Tel est le tableau, dessiné par M. Pasteur (*Compte rend.*, juin 1863), de l'ensemble des phénomènes putrides.

L'opinion de Pasteur, relative à la cause des putréfactions, est corroborée par les procédés mêmes que l'on peut mettre en œuvre pour préserver les corps altérables. Les conditions de conservation sont précisément celles qui s'opposent au développement des êtres organisés.

Tels sont l'emploi du froid (0° et au-dessous), d'une température suffisamment élevée. Les matières albuminoïdes cuites résistent plus longtemps à la putréfaction parce que l'on a tué les germes qui s'y trouvaient, mais l'altération se manifestera néanmoins si l'on ne se gare pas convenablement des effets du dehors. Le procédé d'Appert, qui consiste à cuire les viandes ou les substances alimentaires altérables dans des boîtes de fer-blanc hermétiquement scellées, réalise ces conditions. On tue les germes sans qu'il puisse en arriver de nouveaux. Comme, en même temps, la petite quantité d'air contenue dans la boîte perd son oxygène, on avait pensé que la conservation dépendait de cette élimination complète de l'oxygène à 100°.

La privation totale d'eau s'oppose très efficacement au développement d'êtres vivants. Aussi peut-on conserver, pour ainsi dire indéfiniment, la viande et les légumes desséchés.

Toutes les substances connues comme antiseptiques sont en même temps les ennemis des ferments. Ainsi le sel marin ordinaire, l'alcool, la créosote, le phénol, l'acide salicylique, l'acide sulfureux, les sulfites, l'acétate de potasse (Sacc), l'acide carbonique, le tanin, les acides, beaucoup de sels métalliques (sels de cuivre, de mercure, de fer, d'alumine, chromates de potasse), l'acide arsénieux, l'acide prussique, l'eau de chaux dont les propriétés anti-putrides sont connues et expérimentées, sont

aussi aux doses où ils agissent, des poisons pour les ferments de divers ordres.

L'action préservatrice de l'huile, de la graisse, des cendres, du sable fin, du son, de la sciure de bois, de la paraffine et de la gélatine en enduits, s'explique parce que ces corps poreux ou imperméables empêchent l'arrivée et l'accès des germes apportés par l'air, comme le coton cardé dans l'expérience de Schröder.

Produits de la putréfaction. — Les produits de la putréfaction sont très nombreux. Cela se conçoit facilement, d'abord parce que l'altération d'un organe ou d'un liquide extrait directement de l'économie animale ou végétale est la résultante de l'altération des diverses parties constituantes qui s'y trouvent. L'étude spéciale des termes de la putréfaction de chaque substance albuminoïde en particulier, n'a été tentée que dans un petit nombre de cas.

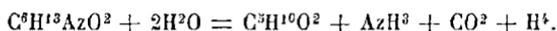
En second lieu, les composés en apparence définis, qui subissent la fermentation putride, sont si complexes eux-mêmes dans leur constitution, que l'on doit s'attendre à rencontrer un grand nombre de dérivés formés par la décomposition putride.

Les termes les plus constants, qui apparaissent dans les putréfactions à l'abri de l'air, sont : la leucine et ses homologues, la tyrosine, des acides gras volatils de la série $C^n H^{2n} O^2$ (acides formique, acétique, propionique, butyrique, valérique, caproïque, etc.), l'ammoniaque et quelques ammoniaques composées (éthylamine, propylamine, amyamine, triméthylamine, ptomaïnes), l'acide carbonique, l'hydrogène surfuré, l'hydrogène, l'azote.

Si nous nous reportons à ce qui sera dit à propos des transformations des matières albuminoïdes sous l'influence de l'hydrate de baryte, nous pouvons nous rendre facilement compte de l'apparition de ces divers produits. D'une part, les albuminoïdes contiennent les éléments de l'urée et doivent être envisagés comme des uréides composées. Ce seul fait explique l'apparition de l'acide carbonique et d'une partie de l'ammoniaque (voir *Fermentation ammoniacale*).

Les albuminoïdes se décomposent par hydratation sous l'in-

fluence de la baryte en fournissant de la leucine et quelques-uns de ses homologues, de la tyrosine et un sulfure. Ces premiers termes peuvent subir l'action ultérieure des ferments et fournir de l'ammoniaque et des acides gras volatils. On sait, en effet, qu'en présence de la fibrine putréfiée, la leucine se dédouble en ammoniaque et acide valérique. On a :



Tout porte à croire que la putréfaction est un phénomène complexe, qu'elle n'est qu'une série successive de fermentations s'exerçant sur des termes de plus en plus simples.

Ainsi, par exemple, lorsqu'on abandonne la fibrine à l'altération spontanée à l'abri de l'air, elle se dédouble d'abord en deux principes, comme sous l'influence du sel marin. L'un de ces principes est de l'albumine, qui, en raison de sa plus grande résistance à l'action des ferments, se retrouvera pendant longtemps dans le liquide putride. Le second produit de ce dédoublement, subissant assez vite une altération plus profonde, fournit les acides acétique, butyrique, valérique et caprique, ainsi que de l'ammoniaque (Brendecke) qui évidemment dérivent des acides amidés homologues de la leucine.

Les réactions chimiques qui accompagnent la putréfaction des albuminoïdes, sont donc, pour la plupart, des phénomènes d'hydratation que l'on peut reproduire identiquement, en dehors de l'action vitale, par les seules forces chimiques. Or nous verrons que les phénomènes de ce genre peuvent être provoqués par l'action de ferments solubles, diastasiques ou indirects ; et l'on est conduit à supposer qu'une partie au moins des transformations, subies par les substances protéiques et leurs dérivés les plus immédiats, sont la conséquence de phénomènes de cet ordre (fermentations indirectes).

Rien ne rappelle mieux la fermentation putride, au point de vue des termes dérivés, que l'altération éprouvée par les éléments constitutifs de la levure, lorsque celle-ci est abandonnée à elle-même, à jeun, privée de sucre et d'oxygène. On voit, en effet, apparaître la leucine, la tyrosine, la sarcine, etc. C'est un premier pas : le phénomène s'arrête là et ne va pas plus loin ; la levure ou le ferment soluble spécial

qu'elle secrète sont impropres à attaquer davantage ces corps ; mais si l'on attend le développement des vibrions, on constatera la production d'ammoniaque, d'acide carbonique, d'acides gras volatils, en même temps la leucine disparaîtra en partie.

M. Ulysse Gayon a publié tout récemment, sous forme de thèse pour le doctorat ès sciences (Paris, 1875, faculté des sciences de Paris, n° 362), un travail très étendu sur les altérations spontanées des œufs. La question était importante, et d'un grand intérêt pour les adversaires de la théorie des générations spontanées. De plus, les faits observés par M. Donné et par M. Béchamp à ce sujet semblaient contraires aux idées de M. Pasteur sur la cause générale des putréfactions. Élève et préparateur de M. Pasteur, M. Gayon cherche à faire rentrer l'altération spontanée des œufs et leur putréfaction dans la loi générale énoncée par son maître.

M. Donné (*Expériences sur l'altération spontanée des œufs*, Comp. rend. de l'Ac., LVII, p. 450, 1863) avait dit : « Si l'on prend des œufs naturels, non agités, et qu'on les abandonne à eux-mêmes, ils restent des semaines et des mois, même pendant les grandes chaleurs de l'été, sans subir aucune altération putride. L'œuf n'exhale aucune odeur, et rien, absolument rien de vivant, soit de la vie végétale ou de la vie animale, ne s'est produit, ni à la surface de la membrane, ni dans l'intérieur de la matière; pas traces d'infusoires ni de végétaux microscopiques.

« Si, au contraire, par des secousses, on détruit la structure physique de l'intérieur de l'œuf, c'est-à-dire si l'on rompt la trame ou les cellules du corps albumineux, et qu'on opère ainsi le mélange du jaune et du blanc; alors, même sans accès de l'air extérieur, en se garantissant même de cette intervention par un surcroît de précaution, tel qu'une couche de collodion répandue à la surface de l'œuf, on voit tous les phénomènes de décomposition apparaître, après un temps plus ou moins long, suivant la température, mais toujours en moins d'un mois; tous les phénomènes de décomposition, excepté toutefois la production d'êtres vivants de l'un ou de l'autre règne, car, quel que soit le degré de pourriture auquel on laisse arriver l'œuf, on n'y peut découvrir la moindre trace d'animalcules, ni de

végétaux microscopiques ; la matière de l'œuf est trouble, d'une couleur livide, elle exhale une odeur fétide au moment où l'on brise la coque, mais rien, absolument rien, ne bouge dans cette matière ; rien ne vit, et l'examen microscopique le plus attentif et le plus répété n'y fait pas découvrir le moindre être organisé ou vivant. »

Ajoutons que M. Béchamp n'avait pas vu non plus d'organismes dans les œufs pourris.

Les expériences de M. U. Gayon, dans les détails desquelles nous ne pouvons entrer, le conduisent aux conclusions suivantes :

« La putréfaction dans les œufs, en présence ou en l'absence de l'air, est corrélative du développement et de la multiplication d'êtres microscopiques de la famille des vibrioniens.

« En d'autres termes, contrairement au résultat trouvé par MM. Donné et Béchamp, les œufs ne font pas exception à la grande loi de corrélation que M. Pasteur a démontrée pour tous les phénomènes de fermentation proprement dite. »

Nous voici donc, au sujet des œufs en présence de deux affirmations très nettes. L'une dit blanc, l'autre dit noir. M. Donné n'a pas vu. M. Gayon a vu. Nous manquons de balance pour peser et comparer l'adresse des deux observateurs. Il nous semble certain que M. Gayon a vu ce qu'il décrit ; mais nous ne saurions affirmer que M. Donné s'est absolument trompé, et que dans les conditions où il était placé les œufs contenaient des vibrioniens qu'il n'a pas trouvés.

A défaut d'autre critérium, nous relèverons un fait très important signalé par M. Gayon lui-même.

Cet habile micrographe a observé que quelques-uns de ses œufs mis en expérience à la température de 23° environ, brouillés ou non, éprouvaient une modification spéciale, distincte de la putridité ordinaire et de la fermentation acide¹.

(1) Dans certains cas, M. Gayon a vu le contenu des œufs, surtout des œufs brouillés, se transformer en une masse homogène, de consistance butyreuse et de couleur jaune clair, d'une odeur aigre et d'une réaction franchement acide. M. Béchamp a observé une altération analogue sur un œuf d'autruche et a pu reconnaître la présence de l'alcool, de l'acide acé-

La masse décomposée a une teinte jaune sale, une odeur de matières animales sèches, une grande fluidité ; on y remarque, en outre, un grand nombre d'aiguilles cristallines et de mamelons cristallins, formés de tyrosine. Elle renferme des quantités de tyrosine et de leucine, beaucoup plus grandes que dans la putréfaction ordinaire. M. Gayon n'a pu découvrir, dans ces cas, trace d'organismes microscopiques, ni dans l'intérieur, ni à la surface, ni dans l'épaisseur des membranes. Cependant la tyrosine et la leucine sont les symptômes palpables, évidents de la décomposition des matières albuminoïdes. Entre la production de ces corps et les phénomènes appelés putréfaction, il n'y a pas, au point de vue chimique, de distinction très franche à établir. Ce sont des réactions du même ordre, des décompositions plus ou moins profondes de la molécule protéique ; les traces d'hydrogène sulfuré et d'autres produits fétides qui communiquent aux putréfactions une odeur si repoussante, ne peuvent servir à établir une ligne de démarcation absolue et philosophique entre la décomposition sans organismes, observée par M. Gayon, et les putréfactions appelées à tort proprement dites.

Il semble résulter de là que les matières albuminoïdes peuvent éprouver certaines décompositions, certains dédoublements sans le concours d'organismes vivants.

Au moyen d'un appareil très simple et très ingénieux, M. Gayon a pu extraire les gaz contenus dans les gros œufs d'autruche en putréfaction.

Un de ces œufs en pleine putréfaction, lui a fourni 150 centimètres cubes de gaz contenant pour 100 :

| | |
|-----------------------------|--------|
| Hydrogène sulfuré | Traces |
| Acide carbonique | 30,5 |
| Hydrogène | 40,2 |
| Azote | 29,3 |
| | 100,0 |

La présence de l'azote serait due à l'accumulation d'une certique et de l'hydrogène sulfuré. M. Gayon attribue cette altération, à laquelle il donne le nom de fermentation acide, à la présence d'organismes spéciaux. Ce sont des bâtonnets immobiles, à contours pâles, à teintes homogènes, articulés deux à deux ou isolés, de 5 à 10 millièmes de millim. de longueur, sur 0,5 à 0,7 millièmes de millim. de largeur.

taine quantité d'air, dans la chambre à air, avant la putréfaction.

Parmi les produits solides et liquides de la putréfaction des œufs, on a reconnu la présence de petites quantités de leucine et de tyrosine, de produits alcooliques, d'acides volatils (acide butyrique). Le sucre a disparu.

Mécanisme du processus de la putréfaction. — Au cours de leurs recherches sur les ptomaïnes de la putréfaction de la viande, MM. Gautier et Elard ont eu l'occasion d'étudier de plus près le mécanisme du processus de la putréfaction.

Au début les muscles de bœuf ou de cheval étaient acides et inodores. Au bout de quelques jours, alors même que l'on met par certains artifices la matière à l'abri de tout vibrion, il se dégage une odeur acide et la chair laisse suinter, sans se désagrégér, un liquide clair, sirupeux, qui paraît résulter d'un commencement de digestion de la chair musculaire. Cette liqueur contient 21 à 22 grammes d'albumine coagulable par la chaleur, par litre, et un peu de caséine.

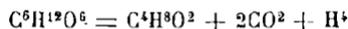
Les fermentations lactique et butyrique ne tardent pas à s'établir dans ce milieu, sous l'influence de grands bacilles à trois ou quatre articles, de bactéries en huit et de granulations mobiles. Il se produit en même temps un dégagement régulier de gaz composé d'acide carbonique, d'azote et d'hydrogène. Le gaz recueilli le septième jour, contenait :

| | |
|--------------------------------------|----|
| Acide carbonique pour 100 en volume. | 65 |
| Hydrogène et azote. | 35 |

le seizième jour, il renfermait :

| | |
|----------------------------|------|
| Acide carbonique | 84,0 |
| Azote. | 3,7 |
| Hydrogène | 12,3 |

Ce gaz contient, en outre, de très petites quantités d'hydrogène sulfuré et d'hydrogène phosphoré, mais pas de carbures d'hydrogène. Jusqu'au onzième jour le mélange gazeux est presque uniquement composé d'acide carbonique et d'hydrogène ; au onzième jour, il contenait volumes égaux de ces deux gaz, comme dans la fermentation butyrique du sucre.



On trouve, en effet, à ce moment dans la liqueur de l'acide lactique ordinaire, de l'acide butyrique normal et ses homologues et d'autres acides indéterminés; à partir du onzième, quelquefois même du sixième, on voit apparaître de l'azote; le vingt-sixième jour l'hydrogène a disparu et le gaz recueilli se compose de :

| | |
|---------------------------|--------|
| Acide carbonique. | 88,5 |
| Azote | 11,5 |
| Hydrogène. | Traces |

C'est alors que commence la véritable putréfaction. Les grands bacilles et bactériums font place à des bacilles très petits, à tête réfringente, droits ou sinueux mélangés à des ferments punctiformes. Il se dégage alors de l'acide carbonique et de l'ammoniaque; le milieu devient alcalin; il se dégage de l'azote, des hydrogènes phosphoré et sulfuré; la grande masse de la fibrine musculaire se scinde par hydratation en leucines et leucéines avec production de petites quantités de scatol, d'indol et de phénol.

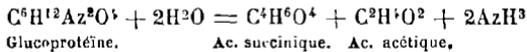
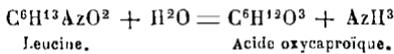
Dans ses grandes lignes, cette phase rappelle ce qui se passe lors de la décomposition des albuminoïdes sous l'influence de l'hydrate de baryte.

Au bout d'un certain temps, même en plein été, le travail putréfactif s'arrête, le dégagement de gaz n'a plus lieu. Cependant, le muscle a conservé en partie sa forme et sa coloration, il est devenu imputrescible, même quand on le sépare avec soin de tous les produits formés et qu'on le met en contact avec l'air et l'eau.

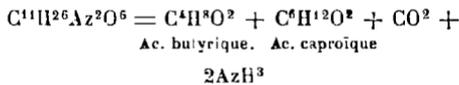
La fermentation acide du début observée avec les muscles des mammifères fait défaut pendant l'altération putride de la chair de poisson. La masse devient immédiatement alcaline et on ne constate pas de dégagement appréciable d'hydrogène. Le dégagement gazeux (CO^2 et Az avec $\text{H}^2 \text{S}$ et PhH^3) finit par s'arrêter sans que pour cela le travail de transformation moléculaire du muscle soit annulé. La masse finit par se convertir en produits extractifs, solubles dans l'alcool et en partie cristallisables (leucines et leucéines, ptomaïnes). Grâce à ces données le mécanisme du processus de la putréfaction d'un muscle peut être facilement établi. Comme l'a dit si bien M. Gautier, la ferment-

tation putride dissèque la molécule albuminoïde en procédant par simple hydratation, et en mettant en évidence les noyaux multiples qui entrent dans la constitution de la molécule protéique.

Au début, on constate une fermentation butyrique portant sur un groupement hydrocarboné condensé dans le muscle du bœuf et du cheval et qui fait défaut dans la chair du scombre ; puis le groupement uréique est scindé par hydratation en acide carbonique et en ammoniaque ; le reste de la molécule, la partie la plus importante comme masse se décompose toujours par hydratation, en gluco-protéines, leucines et leucéines (voir le chapitre des *Matières albuminoïdes*), mais tandis que les leucines et les leucéines ne sont plus altérées par l'hydrate de baryte, même à 250°, l'action hydratante des ferments putrides s'exerce à son tour sur ces corps qui se décomposent en ammoniaque et en composés oxygénés non azotés et à fonctions acides, d'après des équations du genre des suivantes :



Pendant la putréfaction de la chair de poisson, il se produit en abondance un corps bien cristallisé, ayant pour formule $\text{C}^{11}\text{H}^{26}\text{Az}^2\text{O}^4$ et qui paraît être un hydrate de gluco-protéine ($\text{C}^{11}\text{H}^{22}\text{Az}^2\text{O}^6 + 2\text{H}^2\text{O}$). Ce corps en s'hydratant sous l'influence des bactéries et vibrions de la putréfaction, se scinde d'après l'équation :



Les phénomènes d'hydratation qui dominent dans le processus de la putréfaction sont peut-être provoqués, en partie du moins, par des ferments solubles élaborés par les microbes actifs. Il est probable qu'il en est ainsi, car les réactions par hydratation les mieux connues sont dues à des diastases (inversion de la saccharose par l'invertine de la levure, saccharification de la matière amylacée, peptonisation des matières

albuminoïdes, décomposition des glucosides, fermentation ammoniacale). Jusqu'ici on n'a pas encore isolé avec certitude les diastases putrides qui agissent dans ce sens.

Les acides organiques multiples retirés par MM. Gautier et Etard des produits de la putréfaction des matières albuminoïdes, viennent par leur nature, à l'appui de la théorie du phénomène proposée par ces savants.

Voici la liste de ces acides avec indication de leur importance en tant que masse :

I. Acides gras.

| | |
|--------------------------|---------------------|
| Acide formique | Très peu. |
| — acétique | Douteux. |
| — butyrique | Forte proportion. |
| — valérique | Proportion moyenne. |
| — palmitique | Abondant. |

II. Acides gras incomplets.

| | |
|---------------------------|-----------------------------------|
| Acide acrylique | Peu. |
| — crotonique | Notable proportion ¹ . |

III. Oxy-acides.

| | |
|--------------------------------|-------------------|
| Acide glycolique | Quantité notable. |
| — lactique ordinaire | Peu. |
| — valérolactique | Douteux. |

IV. Acides bibasiques.

| | |
|--------------------------|------------------|
| Acide oxalique | Trace. |
| — succinique | Grande quantité. |

Ptomaïnes et leucomaïnes. — On donne le nom de *ptomaïnes* à des bases organiques formées aux dépens des matières animales pendant la putréfaction.

Leur existence a été nettement établie grâce aux recherches indépendantes et presque simultanées de MM. A. Gautier et de F. Selmi, recherches publiées entre 1872 et 1876. Ces deux savants sont partis il est vrai de points de vue différents, mais sont arrivés aux mêmes conclusions.

L'extraction de ces alcaloïdes de putréfaction qui ne se pro-

(1) $CH^2. CH = CH CO^2 H.$

duisent jamais qu'en petites quantités est une opération assez délicate, étant donnée l'altération facile qu'ils subissent sous l'influence des réactifs. On a donné pour atteindre le but divers procédés dont nous indiquerons sommairement la marche.

Selmi a employé la méthode instituée par Stas pour la recherche des poisons végétaux, en la modifiant légèrement.

Les viscères putréfiés ou les produits de la putréfaction des matières animales sont traités par le double de leur poids d'alcool fort faiblement acidulé avec de l'acide tartrique, le tout est mis à infuser au bain-marie. Après filtration, on évapore le liquide dans le vide ou dans un courant d'hydrogène, à la température de 33°. L'extrait alcoolique et acide est repris par l'éther qui dissout les matières grasses ainsi qu'une petite quantité de ptomaines. La solution étherée évaporée laisse un résidu qu'on reprend par l'eau ou bien encore on agite avec de l'eau cette solution étherée pour lui enlever les ptomaines dissoutes.

Quoi qu'il en soit, la liqueur aqueuse est additionnée de baryte et l'on reprend par l'éther.

L'extrait alcoolique sec épuisé par l'éther est alcalinisé avec de la baryte ou du bicarbonate de soude et traité ensuite successivement : 1° par l'éther de pétrole ; 2° par le chloroforme, d'abord à froid, puis à chaud, et enfin, 3° par l'alcool amylique froid et chaud. Ces diverses liqueurs fournissent des extraits que l'on reprend par l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique. La solution chlorhydrique évaporée donne un résidu pouvant être soumis aux réactions grâce auxquelles on a l'habitude de caractériser les alcaloïdes.

De son côté, M. Gautier s'est servi de deux méthodes distinctes.

Dans la première il coagule les suc putrides après acidulation très légère à l'acide sulfurique; on filtre et on traite la liqueur par un excès de magnésie calcinée. Le liquide filtré à nouveau est soumis à la distillation. Il passe avec la vapeur d'eau beaucoup d'ammoniaque, de la triméthylamine, diverses bases volatiles, du phénol, de l'indol, etc.

La liqueur distillée est exactement saturée par l'acide chlorhydrique et évaporée à sec; le résidu sec est traité à plu-

sieurs reprises par l'alcool absolu, on obtient ainsi en solution alcoolique les chlorhydrates des bases volatiles, donnant des chloroplatinates et des chloroaurates en partie solubles et que l'on sépare par les méthodes connues.

La liqueur magnésienne, débarrassée des bases volatiles par une ébullition prolongée est concentrée dans le vide presque à siccité ; on y ajoute le précipité magnésien formé précédemment et une assez grande quantité de sable siliceux. La masse est séchée à 60°, pulvérisée et introduite dans l'allonge d'un appareil à épuisement et épuisée par un mélange d'alcool et d'éther à 56°. L'éther alcoolique dissout les bases fixes ; on évapore le dissolvant ; le résidu est repris par de l'eau très faiblement acidulée ; la solution est séchée dans le vide sur de la chaux ; on obtient ainsi les sels des bases fixes.

Plus tard (1881-1882), dans de nouvelles recherches entreprises en collaboration avec M. Etard, M. A. Gautier a employé un autre procédé.

Les matières organiques, viandes de divers animaux, sont placées en grandes masses dans des tonneaux étanches en chêne, munis d'un tube de dégagement à la partie supérieure pour recueillir les gaz et d'un robinet à la partie inférieure pour soutirer les liquides putrides.

Les liquides putrides séparés des huiles après légère acidulation et agitation avec de l'acide sulfurique très étendu sont distillés dans le vide à basse température. Il se dégage de l'ammoniacque, du phénol, de l'indol, du scatol. Le résidu liquide et sirupeux est séparé d'avec les cristaux qui se forment, alcalinisé avec de la baryte, filtré et le liquide est agité un grand nombre de fois avec du chloroforme pour dissoudre les bases. On distille le chloroforme à basse température dans le vide ou dans un courant d'acide carbonique. A la liqueur qui reste on ajoute de l'eau et de l'acide tartrique qui sépare une résine jaune brunâtre. La partie liquide traitée par une solution très étendue de potasse dégage une vive odeur de carbylaminés. Les bases mises en liberté sont enlevées par agitation du liquide avec de l'éther. On évapore le dissolvant sous faible pression dans un courant d'hydrogène et on sèche sous une cloche en présence de la potasse caustique.

La séparation les uns d'avec les autres des alcaloïdes mélangés se fait par précipitations fractionnées avec le chlorure platinique, ou si l'on dispose d'une quantité suffisante de matière par distillation fractionnée dans le vide.

M. Gabriel Pouchet précipite les alcaloïdes par le tannin, en solution légèrement alcaline.

Les tannites formés sont ensuite décomposés par l'hydrate de plomb en présence de l'alcool. La solution alcoolique laisse après évaporation de l'alcool, une masse sirupeuse que l'on dialyse. Les bases se trouvent dans la partie dialysée et peuvent en être retirées par agitation avec l'éther, l'éther de pétrole ou le chloroforme.

En fin de compte M. Gautier préfère aujourd'hui la première méthode indiquée par lui en la modifiant sur certains points, notamment en remplaçant l'acide sulfurique par de l'acide oxalique.

Aux liqueurs alcalines de putréfaction il ajoute de l'acide oxalique jusqu'à réaction franchement acide, tant qu'il se sépare des acides gras.

On sépare les acides gras qui surnagent à chaud, on filtre et on distille tant que les liqueurs passent troubles. On chasse ainsi ; le pyrrol, le scalol, le phénol, l'indol, les acides gras volatils et une partie de l'ammoniaque. Le résidu est alcalinisé avec la chaux ; on sépare le précipité contenant des acides gras fixes. Le liquide alcalin est distillé à sec dans le vide, en recueillant les vapeurs dans de l'acide sulfurique étendu. Les bases volatiles distillent avec l'ammoniaque.

Le liquide distillé est neutralisé au besoin par de l'acide sulfurique étendu, on concentre en séparant à mesure le sulfate ammoniaque qui cristallise.

Enfin les dernières eaux mères sont traitées par l'alcool fort qui dissout les sulfates des ptomaïnes ; on chasse l'alcool ; on ajoute un peu de soude caustique et on traite la solution aqueuse concentrée successivement par l'éther, l'éther de pétrole et le chloroforme.

Le produit resté dans la cornue avec l'eau de chaux est desséché, pulvérisé et épuisé par l'éther à 36° qui dissout les bases fixes.

Après élimination de l'éther on reprend le résidu par un peu d'eau acidulée et on précipite les alcaloïdes par la potasse.

Brieger coagule les sucs putrides par la chaleur, précipite le liquide filtré par l'acétate de plomb. L'excès de plomb est enlevé par l'hydrogène sulfuré ; on évapore à consistance sirupeuse ; le résidu est repris par l'alcool amylique.

La solution amylique est évaporée, traitée par l'eau ; on concentre, on acidule avec de l'acide sulfurique et on lave plusieurs fois à l'éther qui enlève les acides oxyaromatiques. La liqueur aqueuse acide est concentrée au quart de son volume pour chasser les acides gras volatils. Après refroidissement, on précipite par le sublimé, au bout de vingt-quatre heures le précipité est repris par l'eau bouillante et décomposé par l'hydrogène sulfuré. On filtre et on concentre. Les sels minéraux ou organiques qui se séparent en cristallisant sont rejetés ; le résidu desséché est repris par l'alcool absolu. La solution alcoolique concentrée donne les chlorhydrates cristallisés des ptomaïnes.

MM. A. Gautier et Etard ont reconnu que les ptomaïnes les plus abondantes appartiennent les unes à la série pyridique, les autres à la série hydroypyridique.

Les alcaloïdes de la putréfaction se présentent sous la forme de liquides oléagineux, incolores, fortement alcalins. Ceux qui ne contiennent pas d'oxygène ont une odeur à la fois pénétrante et tenace (odeur d'aubépine, de musc ou de seringa). Ils donnent avec les acides des sels cristallisables qui s'altèrent facilement en présence d'un excès d'acide minéral qui les colore en rouge et donne finalement un précipité brun résineux. Ils sont facilement oxydables. Les chloroplatinates sont cristallins, tantôt solubles, tantôt insolubles ; ils s'altèrent rapidement en présence d'un excès de chlorure platinique.

Les ptomaïnes sont toutes solubles dans l'éther alcoolique ; beaucoup se dissolvent dans le chloroforme et l'alcool amylique.

Les réactifs de Meyer, de Nessler, l'iodure de potassium ioduré, l'iodure de bismuth et de potassium, le phosphomolybdate de soude précipitent les solutions des sels de ptomaïnes.

Le chlorure mercurique donne tantôt un précipité, tantôt il n'en donne pas suivant la nature de la base et la concentration.

Généralement il forme des chlorures doubles cristallisables dans l'eau bouillante.

Le chlorure d'or donne avec beaucoup de solutions de ptomaïnes un précipité jaune, soluble dans l'eau chaude; dans certains cas, le chloroaurate est très soluble et se réduit rapidement.

Les picrates sont peu solubles, de couleur jaune pâle ou tabac d'Espagne.

Le tanin forme des tannates insolubles ou peu solubles.

L'acide sulfurique étendu de très peu d'eau les colore en rouge violacé.

L'acide chlorhydrique mélangé d'acide sulfurique donne une coloration rouge violacé surtout à chaud; une ptomaïne chauffée quelques instants avec de l'acide nitrique développe une belle coloration jaune d'or lorsqu'on ajoute de la potasse en excès au liquide.

Les ptomaïnes qui sont toutes très oxydables à l'air, réduisent énergiquement à froid et à chaud l'acide iodique, l'acide chromique, le chlorure d'or, le nitrate et le bromure d'argent, le chlorure ferrique.

Nous donnons ici les noms et la composition des ptomaïnes qui ont pu être isolées sous forme de produits définis :

Parvoline, $C^9H^{13}Az$, produite par la fermentation bactérienne du scombre et de la viande de cheval. Base oléagineuse d'odeur de fleurs d'aubépine, bouillant au-dessous de 200° , légèrement soluble dans l'eau.

Hydrocollidine, $C^8H^{13}Az$, et *Collidine* $C^8H^{11}Az$. — Fermentation bactérienne du scombre, de la viande de cheval et de bœuf. Liquide incolore, légèrement oléagineux, odeur de seringa; bout vers 210° .

Une base de formule $C^{11}H^{38}Az^4$ formée dans la transformation de la gélatine sous l'influence de pancréas (Nencki).

Une base de formule $C^{10}H^{15}Az$, trouvée par MM. Guareschi et Mono parmi les produits de la putréfaction de la fibrine.

M. Pouchet a retiré des produits putrides deux bases oxygénées ayant pour formules $C^7H^{18}Az^2O^6$ et $C^8H^{12}Az^2O^4$.

Suivant Brieger, les alcaloïdes formés par la putréfaction différent les uns des autres suivant la durée de cette transfor-

mation. Au début (2^e jour) on trouve de la *choline*, de la *neuridine* ($C^5H^{14}Az^2$) ; apparaissent ensuite successivement la *cadavérine* ($C^5H^{16}Az^2$), la *putrescine* ($C^4H^{12}Az^2$), la *saprine* ($C^5H^{16}Az^2$), la *mydaléine* dont on ne connaît pas la composition et une autre base aussi vénéneuse que la mydaléine. La neuridine, la cadavérine, la putrescine et la saprine ne sont pas des poisons.

Un certain nombre de ces ptomaïnes sont fort toxiques et exercent sur l'organisme vivant des actions énergiques dans les détails desquels nous ne pouvons entrer ici.

Les importants et beaux travaux de M. A. Gautier ont démontré que des alcaloïdes possédant les caractères des ptomaïnes et susceptibles d'agir comme de véritables toxiques se forment aux dépens des matières protéïques, non seulement par le fait de la putréfaction bacillaire, mais aussi comme conséquence de la vie normale ou pathologique des cellules de l'organisme. Avant les recherches de ce savant, Liebig avait trouvé de la créatinine ($C^4H^7Az^2O$) dans les urines et dans les muscles; Liebreich avait extrait la bétaine ($C^5H^{11}AzO^2$) de l'urine normale. Gabriel Pouchet retirait du même liquide excrémentiel de l'albumine, de la carnine et un alcaloïde nouveau donnant un chloroplatinate et un chloraurate cristallisés, alcaloïde auquel M. Gautier reconnut les propriétés générales des ptomaïnes. D'un autre côté, M. Bouchard démontrait en 1882 que non seulement les alcaloïdes se trouvent en minimes proportions dans les urines normales, mais qu'ils augmentent très notablement au cours de certaines maladies infectieuses. MM. Lépine, Guérin et Aubert confirmaient et étendaient les observations de M. Bouchard.

M. Gautier en étudiant le venin des serpents, notamment celui du Cobra capello y démontra l'existence de deux alcaloïdes nouveaux offrant les caractères des ptomaïnes ; et reconnut cependant que la substance la plus active du venin n'est pas de nature alcaloïdique. Il retira également une ptomaïne toxique de la salive humaine.

Le venin du crapaud et de la salamandre fournirent des alcaloïdes à MM. Cloez et Zalesky, alcaloïdes parmi lesquels figure la salmandarine, $C^{34}H^{60}AzO^3$.

Miescher et Picard ont retiré du sperme des animaux une substance alcaloïdique ayant pour formule $C^9H^{21}Az^5O^3$.

Tous ces faits tendant à prouver que les animaux produisent normalement des alcaloïdes à la façon des végétaux, M. Gautier entreprit un grand travail sur la composition de l'extrait de chair musculaire au point de vue de sa richesse en alcaloïdes. Il réussit à isoler différents composés nouveaux, doués de propriétés alcalines et possédant des caractères toxiques plus ou moins énergiques ¹.

Nous nous contenterons ici d'en donner les noms et la formule :

| | |
|---|----------------------|
| Xanthocréatinine. | $C^5H^{10}Az^4O$. |
| Crusocréatinine. | $C^5H^8Az^4O$. |
| Amphicréatine. | $C^9H^{19}Az^7O^4$. |
| Pseudoxanthine. | $C^4H^5Az^5O$. |
| Deux bases de formules $C^{11}H^{24}Az^{10}O^5$ et $C^{12}H^{25}Az^{11}O^5$. | |

M. Gautier donne le nom de leucomaines aux alcaloïdes formés physiologiquement dans les tissus et cellules de l'organisme animal, par opposition aux ptomaines engendrées par la putréfaction.

Cette distinction qui peut avoir son utilité au point de vue médical et pratique ne subsiste pas si on se place à un point de vue plus général.

Dans l'un et l'autre cas, putréfaction et vie physiologique, les composés alcaloïdiques formés le sont aux dépens des substances albuminoïdes ou des termes de leur hydrolyse. Dans l'un et l'autre cas, ce sont des cellules vivantes (cellules de microbes ou cellules des organes) qui provoquent l'hydrolyse d'abord, puis la décomposition beaucoup plus complexe des produits de l'hydrolyse albuminoïde.

Le travail chimique qui s'effectue dans les cellules musculaires, travail dont M. Gautier a constaté une partie des résultats en retirant de l'extrait de viande les bases nouvelles nommées plus haut, est tout à fait comparable à ce qui se passe dans une cellule de levure ; nous avons vu, en effet, que cette cellule conservée à l'abri de l'air désassimile son protoplasma.

(1) Pour les détails du procédé employé, voir le *Bulletin de l'Académie de médecine*, 12 et 19 janvier 1886.

CHAPITRE XIII

FERMENTATIONS PAR OXYDATION

Fermentation acétique. — La fermentation acétique et les réactions que nous placerons à côté d'elle, en leur donnant le nom générique de fermentations par oxydation, ont un caractère spécial, que nous n'avons retrouvé dans aucun des phénomènes étudiés jusqu'à présent.

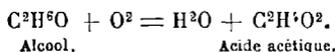
La matière fermentescible et le ferment n'interviennent plus seuls dans la réaction, l'une fournissant les éléments constitutifs des nouveaux corps qui se forment, l'autre agissant comme cause. Le concours d'un troisième facteur, de l'oxygène de l'air devient nécessaire.

En d'autres termes, sous le nom de fermentations par oxydation, nous parlerons des combustions provoquées par les organismes vivants qui servent, pour ainsi dire d'intermédiaires entre l'oxygène de l'air et le corps combustible ou matière fermentescible. Quant aux produits de cette combustion, ils varieront suivant la nature du corps qui est brûlé, et iront même jusqu'aux termes simples des combustions les plus complètes (eau et acide carbonique).

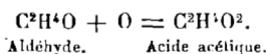
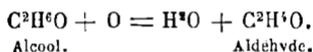
Nous plaçons en première ligne la *fermentation acétique de l'alcool*.

On sait depuis longtemps que l'alcool contenu dans des liquides fermentés, vin, bière, etc., peut disparaître dans certaines circonstances et faire place au vinaigre ou acide acétique, et que l'air ou plutôt son oxygène interviennent dans cette réaction. Les progrès de la chimie et la détermination exacte

des compositions respectives de l'alcool et de l'acide acétique rendent un compte simple et net de la réaction; elle peut se formuler ainsi :



L'oxydation peut se faire en deux temps avec production d'un terme intermédiaire, l'aldéhyde.



Au point de vue chimique pur nous nous trouvons en face d'un phénomène très simple, sur lequel nous n'avons pas à nous arrêter.

Les causes déterminantes de cette oxydation fixeront plus spécialement notre attention. Doebenreiner ayant montré par une expérience devenue classique, que la vapeur d'alcool mélangée à l'oxygène de l'air s'acidifie sous l'influence du noir de platine en se transformant en acide acétique, crut avoir établi par là la véritable théorie du phénomène, dont les conditions essentielles devenaient l'action simultanée de l'alcool et de l'oxygène, en présence d'un corps poreux (platine divisé, charbon, copeaux de bois, etc.), capable de favoriser par action de contact, action *catalytique*, l'oxydation de l'alcool.

C'est sur cette idée que reposait à l'origine le procédé d'acétification rapide, dit procédé allemand, qui fut installé la première fois par Schützenbach en 1823. Bien longtemps auparavant Boerhaw avait déjà introduit dans la pratique un procédé industriel analogue. Il employait des cuves de 3 mètres de haut et de 1 mètre et demi de diamètre, avec double fond percé de trous, placé à 30 centimètres du fond. On entasse sur le faux fond et jusqu'au haut, de manière à remplir la cuve, des rafles de raisins exprimés. L'une de ces cuves est entièrement remplie de vin, l'autre ne l'est qu'à moitié; après vingt-quatre heures, on soutire de la cuve pleine, et l'on verse dans l'autre, assez de liquide pour remplir celle-ci; on répète alternativement cette opération jusqu'à acidification complète. On comprend que dans

la cuve à moitié pleine le liquide alcoolique qui imprègne les rafles se trouve exposé à l'action de l'air sur une grande surface; aussi l'oxydation est-elle singulièrement favorisée par ce fait.

Dans le procédé Schützenbach, on se sert d'une grande cuve en bois de chêne, de 2 à 3 mètres de hauteur sur 1 mètre de diamètre, munie d'un faux fond percé de trous et placé à environ 30 centimètres du fond. A quelques centimètres plus haut, le pourtour de la cuve est régulièrement percé d'une série de trous, formant circonférence dans leur ensemble. Ces orifices sont inclinés de dehors en dedans, pour éviter la sortie du liquide. A la partie supérieure, à 30 centimètres du couvercle, se trouve placé un nouveau faux fond, percé de beaucoup de petits trous et de plusieurs grands trous; ces derniers sont ordinairement fermés par des tampons, et sont destinés au renouvellement de l'air, lorsque celui-ci est désoxydé. Le tout est fermé par un couvercle muni d'un orifice en entonnoir, que l'on peut fermer, pour l'introduction des liquides à oxyder. On remplit l'intervalle entre les deux faux fonds avec des copeaux de hêtre. Un thermomètre placé dans l'intérieur de la cuve donne une idée de l'intensité des réactions.

Tout étant ainsi disposé, on commence par verser du vinaigre chaud dans la cuve, celui-ci filtre à travers les copeaux, les imprègne et facilitera plus tard ou plutôt provoquera l'oxydation de l'alcool. Pour la transformation en vinaigre, on emploie des mélanges convenables d'eau, d'alcool et de vinaigre, analogues à ceux qui servent dans le procédé d'Orléans. La température de l'air ambiant est maintenue à 21°. Le liquide alcoolique employé est chauffé entre 26 et 27°; dans les cuves la température s'élève spontanément depuis 38 jusqu'à 42°.

La liqueur alcoolique n'est jamais complètement oxydée par un premier passage dans la cuve; l'opération se répète, une ou deux fois, soit sur la même cuve, soit sur d'autres cuves voisines (voir pour plus de détails les ouvrages spéciaux de technologie chimique). Dans les bonnes fabrications on obtient un rendement qui ne diffère pas de plus de 6 p. 100 en moins, du rendement théorique; encore cette perte peut-elle être amoindrie par des dispositions accessoires convenables, dont nous ne pouvons nous occuper ici.

La méthode française d'acidification du vin, dite méthode d'Orléans, est bien différente. Nous en dirons quelques mots, avant d'aborder les résultats obtenus par les travaux de Pasteur et les conséquences qu'on en a tirées pour la pratique.

L'oxydation se fait dans des tonneaux couchés les uns à côté des autres, sur des cadres en bois supportés par des colonnes en pierres. A la partie supérieure et antérieure de chaque tonneau sont percés deux orifices d'inégales grandeurs : le plus grand sert à l'introduction et au soutirage des liquides, l'autre à la rentrée de l'air. Ces tonneaux, de 200 à 400 litres de capacité, appelés mères, sont d'abord remplis au tiers de vinaigre fort et bouillant ; on ajoute ensuite 11 à 12 litres de vin, qu'on abandonne à lui-même ; au bout de huit jours d'acétification, on rajoute une nouvelle dose de vin et ainsi de suite, jusqu'à ce que le tonneau soit à moitié rempli de vinaigre. On soutire alors au moyen d'un siphon un tiers du contenu de la mère, et l'on recommence les additions de vin par portions de 11 à 12 litres. On arrive ainsi à une marche régulière et continue. On voit souvent, sans cause apparente, telle ou telle mère refuser d'acidifier le vin, ou ne donner lieu qu'à une oxydation très lente et paresseuse ; dans ce cas, l'emploi d'un vin plus fort ou d'une température plus élevée, ramène quelquefois le phénomène à son activité normale. Ces anomalies n'ont trouvé leur explication que dans les travaux de Pasteur. On juge que l'opération dans un tonneau est terminée, lorsqu'un bâton plongé dans le liquide se recouvre d'une mousse épaisse blanche (fleur de vinaigre) ; tant que la mousse est rouge, on continue les additions de vin.

La température la plus favorable est comprise entre 24 et 27°.

Dans cette fabrication spéciale du vinaigre, l'influence des corps poreux pour déterminer l'oxydation ne pouvait être invoquée comme dans l'expérience du platine ou dans la fabrication par la méthode allemande. D'après les connaissances spéciales des vinaigriers, on attribuait l'acidification à l'action d'un dépôt, qui se forme dans les tonneaux, et auquel on donne le nom de mère de vinaigre.

Dans les idées de Liebig qui ont longtemps dominé dans la science, les matières organiques mortes ou vivantes, qui se

trouvent en contact avec l'alcool dans le vin, possèdent la propriété, après avoir absorbé de l'oxygène, d'oxyder à la température ordinaire d'autres substances organiques et inorganiques. Cette propriété existerait chez les substances organiques solides qui sont en état de décomposition ou de putréfaction. Pour appuyer cette manière de voir, Liebig (*Ann. de chim.* (4) XXIII, p. 478) rappelle l'expérience de de Saussure, qui a vu le terreau, mis en présence d'un mélange d'hydrogène et d'oxygène, donner lieu à la formation d'eau et à la disparition de l'hydrogène et d'une quantité équivalente d'oxygène. En quelques mots et pour ne pas entrer dans trop de développements sur une question qui paraît jugée, Liebig explique la production d'acide acétique par un mouvement communiqué par des principes en voie de décomposition, mouvement qui dans le cas actuel provoquerait leur oxydation.

A vrai dire, ses idées manquent de netteté. Tantôt, en effet, il cherche la clef du phénomène dans une action catalytique des corps poreux; tantôt se rapprochant de sa théorie générale des fermentations, il l'attribue à l'influence d'un ferment (matière organique en voie de décomposition).

Tel était l'état de la question, lorsque Pasteur entreprit ses recherches sur les causes de l'acétification spontanée du vin et des liqueurs alcooliques.

L'oxydation de l'alcool est pour lui la conséquence de l'action d'un cryptogame du genre *mycoderma*.

Voici le résumé des expériences sur lesquelles il se fonde.

Si à la surface d'un liquide organique quelconque, renfermant essentiellement des phosphates et des matières organiques azotées, on fait développer une espèce quelconque du genre *mycoderma*, jusqu'à ce que toute la surface du liquide en soit couverte; si ensuite on enlève au moyen d'un siphon et avec précaution le liquide nourricier, sans faire tomber les lambeaux de membranes; enfin si on remplace ce liquide par un volume égal d'eau alcoolisée à 40 p. 100, on voit immédiatement la plante placée dans ces circonstances anormales de nutrition, mettre en réaction l'oxygène de l'air et l'alcool du liquide. L'acétification commence sur-le-champ et se poursuit avec une grande activité. Au bout d'un certain temps le phénomène gêné

par la grande acidité du liquide, se ralentit; mais on lui rend toute son activité en remplaçant le liquide acide par de l'eau alcoolisée. Il arrive cependant un moment où la plante, en partie décomposée elle-même, communique au liquide, grâce aux éléments organiques et minéraux de ses tissus mortifiés, des propriétés nutritives pour les diverses espèces du genre mycoderma. Les phénomènes changent alors de face; l'acide acétique et l'alcool disparaissent avec une grande rapidité et le liquide arrive à un état de neutralité complète; c'est que dès que la plante trouve dans le milieu sous-jacent les principes nutritifs propres à son développement, elle provoque des phénomènes d'oxydation bien plus intenses et oxyde non seulement l'alcool, mais encore l'acide acétique, en le convertissant en eau et en acide carbonique.

Cette combustion complète s'observe toutes les fois que l'on fait développer les mycodermes sur des liquides alcooliques renfermant les aliments propres à la nourriture de la plante, tels que le vin, la bière, les liquides organiques fermentés; à moins toutefois qu'on ne place, volontairement ou accidentellement, le mycoderme dans les conditions d'un développement incomplet ou gêné, c'est-à-dire dans un état pathologique.

En résumé les mycodermes se développant à la surface d'un liquide alcoolique, renfermant des principes nutritifs convenables, brûlent l'alcool et le réduisent au même état que l'oxygène au rouge (combustion complète). Si, au contraire, on diminue l'activité vitale du mycoderme, soit en le privant de ses aliments, soit par tout autre moyen, les phénomènes d'oxydation qu'il pourra provoquer n'iront pas aussi loin, et l'alcool pourra se changer en acide acétique. Les expériences de M. Pasteur démontrent également que l'influence attribuée aux corps poreux organisés ordinaires, dans la fabrication allemande du vinaigre, est le résultat d'une observation incomplète. Si les copeaux de hêtre agissent, ce n'est pas en raison de leur porosité, mais bien parce que leur surface est couverte de pellicules minces de mycoderme; les contacts multipliés avec l'air favorisent le phénomène, mais n'en sont pas les causes déterminantes. Pour le prouver, M. Pasteur fait écouler le long d'une corde de l'alcool étendu d'eau. Les gouttes qui tombent à l'extrémité

de la corde ne renferment pas la plus petite quantité d'acide acétique. L'expérience a duré plus d'un mois, avec une vitesse d'écoulement extrêmement faible, une goutte par deux ou trois minutes. Si l'on répète cette expérience, en ayant la précaution de tremper la corde, au début, dans un liquide à la surface duquel se trouve une pellicule de mycoderme, qui reste en partie sur elle, lorsqu'on la retire, l'alcool qui s'écoule lentement le long de cette corde se chargera d'acide acétique, et l'acétification pourra se prolonger plusieurs semaines.

M. Mayer a fait des expériences analogues qui confirment entièrement les données de Pasteur. Ainsi, du papier à filtrer, bouilli préalablement avec de l'acide chlorhydrique à 5 p. 100, puis avec de la soude caustique à 5 p. 100 et enfin lavé à l'eau distillée, a été couché à la surface d'un liquide alcoolique sans donner lieu, même après un mois, à la formation de la moindre trace d'acide acétique. Le résultat a été tout aussi négatif, en remplissant un entonnoir de fragments de verre et du même papier, et en laissant couler lentement l'alcool (9 p. 100) à travers cette masse filtrante.

M. Pasteur n'est pas entré plus profondément dans la question et n'a pas recherché par quel mécanisme les mycodermes peuvent ainsi provoquer des oxydations plus ou moins énergiques.

Dans un de ses derniers écrits sur cette question (Réponse aux critiques de M. Liebig, *Ann. chim. phys.* (4), t. XXV, p. 148, 1872), il s'exprime ainsi :

« Ce petit végétal microscopique (*mycoderma aceti*) a la faculté de condenser l'oxygène de l'air à la manière du noir de platine ou des globules de sang¹ et de porter cet oxygène sur les matières sous-jacentes. »

D'après ces quelques mots, il semble que M. Pasteur assimile l'action de son ferment organisé, le mycoderma vini, à celle du noir de platine; dans le fond sa théorie de la fermentation acétique différerait peu de celle de Liebig. Le dernier admet que les substances poreuses mortes participent des propriétés du

(1) L'oxygène des globules du sang est fixé à l'hémoglobine, et n'a pas d'action oxydante beaucoup plus énergique que l'oxygène dissous ordinaire.

noir de platine, Pasteur au contraire ne concède cette qualité qu'à des organismes vivants.

Les expériences de Mayer tendent à prouver que l'oxydation par les mycodermes est un phénomène biologique spécial, qui ne peut pas être attribué uniquement à l'état physique de la plante ferment. En effet, il suffit de chauffer un liquide alcoolique, couvert de sa pellicule de mycoderme acétique et en pleine voie d'acidification, pour arrêter toute oxydation ; cependant il est difficile d'admettre que dans ces conditions l'état physique ait été sensiblement modifié.

M. Mayer relève en outre des différences notables entre le mode d'action du platine divisé et celui du mycoderma vini. Pour le premier, une élévation de température au-dessus de 33° favorise l'oxydation, en augmentant la tension de vapeur de l'alcool, tandis que l'activité maximum du mycoderma aceti se place entre 20 et 30° ; son pouvoir oxydant s'annule au-dessous de 10° et au-dessus de 35°. On peut avec le platine oxyder de l'alcool très concentré ; la concentration est même un facteur favorable ; pour l'acétification physiologique, l'alcool employé ne doit guère contenir plus de 10 p. 100 d'hydrate d'éthyle.

La conséquence immédiate et pratique des résultats obtenus par Pasteur est que pour agir efficacement, le mycoderme doit être à la fois en contact avec l'air et avec le milieu alcoolique. Sur ce principe est fondée la nouvelle méthode industrielle d'acétification des liquides fermentés, appliquée aujourd'hui sur une certaine échelle à Orléans. Voici comment on procède.

On commence par semer le mycoderma aceti à la surface d'un liquide aqueux contenant 2 p. 100 d'alcool, 1 p. 100 de vinaigre et des traces de phosphates alcalins et alcalino-terreux. Lorsque la surface est envahie par la membrane l'alcool commence à s'acidifier. Ce phénomène étant en pleine évolution, on ajoute tous les jours au liquide, par petites portions, de l'alcool ou du vin, ou de la bière mélangée d'alcool ; en continuant ainsi jusqu'à ce que l'oxydation se ralentisse ; on laisse alors l'acétification se terminer, et l'on soutire le vinaigre. La membrane est recueillie, lavée et employée pour une nouvelle opération. Il convient de fournir toujours à la plante assez d'alcool pour éviter qu'elle ne porte son activité sur l'acide acé-

tique. Celle-ci ne doit pas non plus séjourner trop longtemps en dehors du liquide; elle perdrait sans cela son activité; enfin il convient de modérer son développement pour empêcher l'oxydation comburante.

Une cuve, de 1 mètre carré de section, et de 50 à 100 litres de capacité, peut fournir par jour 5 à 6 litres de vinaigre. On suit les phases de l'opération au moyen d'un thermomètre divisé en dixièmes de degrés, dont la boule plonge dans le liquide.

Lorsqu'on opère avec de l'alcool étendu, il convient d'ajouter au liquide $\frac{1}{10000}$ d'un mélange de phosphate de magnésie, de phosphates de potasse et d'ammoniaque.

Des dispositions spéciales permettent l'introduction du liquide, sans que l'on soit dans la nécessité de déranger la couche superficielle du mycoderme. Les cuves sont cylindriques ou prismatiques de 1 mètre carré de section et de 20 centimètres de profondeur, fermées par un couvercle muni d'orifices pour l'accès de l'air.

Le mycoderma aceti vivant à la surface de solutions sucrées donne un acide monobasique dont la composition élémentaire correspond à la formule $C^6H^{12}O^7$ et qui est probablement identique avec l'acide gluconique (M. Boutroux):



Dans ce cas il y a transformation du groupe aldéhydique de la dextrose, — COH, en groupe d'acide, — CO²H.

Il nous reste à dire quelques mots des caractères botaniques du mycoderma aceti.

Les membranes continues, ridées ou lisses, que l'on trouve à la surface des liquides en voie de fermentation acétique, sont généralement formées (fig. 22) de cellules très petites, allongées, dont le grand diamètre varie de 1,5 à 3 millièmes de millimètre; ces cellules sont réunies en chaînes ou sous forme de bâtonnets recourbés. La multiplication paraît s'effectuer par la section transversale des cellules ayant atteint leur développement; cette section est précédée d'un étranglement médian, qui a été considéré, par certains auteurs, comme un caractère morphologique de la cellule.

Il résulte de cette description que le mycoderme du vinaigre appartient à la famille des bactéries.

Les conditions générales de nutrition des bactéries acétiques ont été établies par Pasteur, et se rapprochent jusqu'à un certain point de celles de la levure de bière.

C'est ainsi que les sels minéraux, les phosphates alcalins et alcalino-terreux, les matières azotées protéiques ou les sels



Fig. 22. — Mycoderma aceti.

ammoniacaux sont des éléments nécessaires au développement de ces organismes. L'alcool étendu (10 p. 100 au plus) semble, par rapport à eux, tenir lieu de matière hydrocarbonée; il peut être suppléé par l'acide acétique; car, suivant M. Pasteur, l'affaiblissement progressif que subit le vinaigre, lorsqu'on abandonne l'acétification trop longtemps à elle-même, est dû à une combustion subséquente de l'acide acétique.

M. Blondeau (*Compte rend.*, t. LVII, p. 953) a même observé que le sucre peut s'acidifier sans passer par l'état d'alcool, sous l'influence de la mère de vinaigre.

Il convient encore de relever que l'activité du ferment est augmentée par la présence dans le liquide d'une certaine quantité d'acide acétique.

En général, les agents antiseptiques, qui par leur présence entravent et arrêtent le développement de la levure de bière et par conséquent la fermentation alcoolique, agissent dans le même sens par rapport au mycoderma aceti. L'acide sulfureux est surtout actif dans ce sens; et c'est en partie pour éviter l'acétification du vin, que l'on a soin d'ajouter, dans les tonneaux destinés à le recevoir, de l'acide sulfureux ou d'y brûler des mèches soufrées.

D'après les recherches de M. Lafar (*Centralblatt für Bakteriologie*, t. XIII, p. 684), la fermentation acétique comme la fermentation lactique, comme aussi, nous l'avons vu plus haut, les fermentations ammoniacale et alcoolique, n'est pas, ainsi qu'on l'avait cru au début, l'œuvre d'un seul microorganisme.

De nombreux microbes jouissent de propriétés oxydantes vis-à-vis de l'alcool et peuvent convertir ce corps en acide acétique.

Outre des espèces bactériennes qui jouissent de cette propriété, M. Lafar a isolé et cultivé une levure acétique spéciale ; elle a été trouvée dans une bière atteinte de fermentation acide.

Le *mycoderma vini*, dont nous avons déjà parlé plus haut (page 228) se rapproche sous beaucoup de rapports du ferment acétique. Comme lui il se développe à la surface des liquides alcooliques fermentés, sous forme de membranes, de peaux lisses ou ridées ; cependant ces dernières sont beaucoup plus épaisses et plus résistantes. Il agit également comme moyen de transport de l'oxygène de l'air à l'alcool du milieu et aux autres principes combustibles ; mais, sous son influence, la combustion est complète et accompagnée de production d'acide carbonique et d'eau ; c'est à cette action qu'il faut attribuer le rapide affaiblissement des vins couverts de mycoderme. Nous avons vu ailleurs, qu'enfoncé au sein d'un liquide sucré, il peut agir comme la levure de bière et faire fermenter alcooliquement.

Ses principes nutritifs sont les mêmes que ceux de la mère de vinaigre (alcools, sels, composés azotés) ; en outre, il paraît aussi pouvoir utiliser comme aliments certains produits secondaires de fermentation alcoolique, tels que l'acide succinique et la glycérine. Les formes des cellules de ce mycoderme, formes que nous savons être variables, semblent dépendre en grande partie des conditions de nutrition.

Son activité de développement paraît comprise entre 16 et 30° C.

Combustions lentes. — Les mycodermes dont nous venons de parler ne sont pas les seuls ferments organisés capables de provoquer la combustion lente des matériaux carburés.

On sait depuis longtemps, que les matières organiques d'origine végétale et animale, abandonnées au contact de l'air, subissent des transformations progressives et complexes, connues sous les noms de putréfactions, de combustions lentes, d'érémacausie, qui ont pour résultat de les transformer en principes de plus en plus simples, par voie de dédoublement et d'oxydation ; de sorte qu'en fin de compte le carbone est restitué à l'atmosphère sous forme d'acide carbonique, l'hydrogène sous forme d'eau, l'azote comme azote libre ou comme ammo-

niaque. M. Pasteur a démêlé, dans ce fait compliqué de la fermentation putride, deux ordres de phénomènes distincts, bien qu'ils se rattachent l'un et l'autre aux réactions provoquées par des organismes vivants. Le premier comprend les putréfactions qui s'accomplissent sans le concours de l'oxygène de l'air, dont la cause réside dans la présence des vibrions ; nous en avons parlé à la suite de la fermentation butyrique, à laquelle ces phénomènes se trouvent liés.

Le second, la combustion lente, est dû aux bactéries, aux mucors, aux mucédinées, c'est-à-dire à des ferments végétaux qui, comme les *mycoderma vini* et autres, possèdent la remarquable propriété de provoquer l'oxydation d'une foule de principes organiques (sucres, alcools, acides organiques, matières azotées albuminoïdes, etc.), aux dépens de l'oxygène de l'air.

Après avoir prouvé par des expériences précises, sur lesquelles nous reviendrons à propos de la question de l'origine des ferments, que les combustions lentes spontanées des matières animales ou végétales dépendent fatalement du développement d'organismes dans l'intérieur ou à la surface des substances qui s'altèrent, que sans organismes il n'y a pas de combustion ni d'absorption d'oxygène, M. Pasteur trace le tableau suivant de l'altération putride au contact de l'air. (*Comptes rendus*, juin 1863.)

Une matière animale choisie parmi les plus altérables, du sang par exemple, ou de l'urine, se conserve indéfiniment en présence de l'air calciné ou privé de ses germes : dans ces conditions, l'absorption d'oxygène est peu sensible et la putréfaction est nulle, en même temps il ne se produit pas d'infusoires. Si au contraire cette même substance reste exposée à l'air ordinaire, elle s'oxyde, se putréfie et il se développe des infusoires.

« Il est de connaissance vulgaire que la putréfaction met un certain temps à se déclarer, temps variable suivant les circonstances de température, de neutralité, d'acidité ou d'alcalinité du liquide. Dans les circonstances les plus favorables, il faut au minimum environ vingt-quatre heures pour que le phénomène commence à être accusé par des signes extérieurs. Pendant cette première période, un mouvement intestinal s'effectue

dans le liquide, mouvement dont l'effet est de soustraire entièrement l'oxygène de l'air qui est en dissolution et de le remplacer par du gaz acide carbonique. La disparition totale du gaz oxygène, lorsque le milieu est neutre ou légèrement alcalin, est due en général au développement des plus petits infusoires, notamment le *monas crepusculum* et le *bacterium termo*. Un très léger trouble se manifeste, parce que ces petits êtres voyagent dans toutes les directions. Si le vase contenant le liquide putrescible est largement ouvert à l'air, les bactérium ne périssent que dans la masse liquide, après la soustraction de l'oxygène, en continuant au contraire à se propager à l'infini à la surface, parce que celle-ci est en contact avec l'air. Ils y provoquent la formation d'une mince pellicule, qui va en s'épaississant peu à peu, puis tombe au fond du vase pour se reformer, tomber encore et ainsi de suite. Cette pellicule à laquelle s'associent divers mucors et des mucidinées, empêche la dissolution du gaz oxygène dans le liquide et permet par conséquent le développement de vibrions. Pour ces derniers le vase est comme fermé à l'introduction de l'air. »

Le liquide putrescible devient alors le siège de deux genres d'actions chimiques fort distinctes, qui sont en rapport avec les fonctions physiologiques de deux sortes d'êtres qui s'y nourrissent. Les vibrions d'une part, vivant sans la coopération du gaz oxygène de l'air, déterminent dans l'intérieur du liquide des actes de fermentation, c'est-à-dire qu'ils transforment les matières azotées en produits plus simples, mais encore complexes.

Les bactériums (ou les mucors), d'autre part, comburent ces mêmes produits et les ramènent à l'état des plus simples combinaisons ordinaires (l'eau, l'ammoniaque et l'acide carbonique).

Les composés qui résistent le plus longtemps à la combustion lente sont les acides gras fixes, formant l'adipocire des anciens chimistes, la cellulose ou ses dérivés de déshydratation (acides ulmiques, terreau, tourbe).

L'acide oléique au contraire disparaît entièrement.

On connaît encore bien peu dans leur détail ces divers phénomènes de combustion lente.

Un même organisme peut-il provoquer ou non la combustion

de divers principes organiques, éloignés les uns des autres par leur constitution ; l'action de l'oxygène est-elle progressive ou dès le début complète ? etc. Il se pose ainsi une foule de questions secondaires, offrant plus ou moins d'intérêt, mais dont la solution réclame des recherches longues et minutieuses, semblables à celles qui ont porté sur la fermentation alcoolique. Malgré cela, la cause du phénomène est connue et la voie pour de nouvelles investigations est ouverte.

Fermentation nitrique — La transformation, par voie d'oxydation, de l'ammoniaque en nitrites et ensuite en nitrates, observée depuis longtemps dans le sol et les plâtras des localités où il peut se dégager de l'ammoniaque par la décomposition putride des matières animales, transformation qui se produit également dans les terres arables et dans les nitrrières artificielles, avait été pendant longtemps attribuée, comme l'acétification de l'alcool, à l'influence de la porosité. MM. Schløsing et Muntz ont démontré qu'ici encore interviennent des phénomènes biologiques microbiens. En effet, la nitrification (oxydation de l'ammoniaque et des matériaux azotés) cesse complètement sous l'influence des agents qui tuent ou arrêtent momentanément les manifestations vitales des ferments figurés. Telle est, par exemple, la vapeur de chloroforme. Un milieu poreux, tel que le sable ou la terre arable, qui produit dans l'eau azotée, l'eau d'égout, filtrant à travers ce milieu une nitrification très marquée, cesse toute action de ce genre lorsqu'on l'expose aux vapeurs chloroformiques et reprend son pouvoir nitrifiant lorsque ces vapeurs ont été éliminées.

Cette belle expérience, qui permet de conclure à l'intervention d'un organisme vivant, a conduit MM. Schløsing et Muntz à la recherche et à la découverte du microbe de la nitrification.

Il se présente sous forme d'un micrococcus punctiforme, brillant. Il se laisse cultiver sur l'eau d'égout stérilisée ou sur des solutions alcalines étendues renfermant un sel ammoniacal et de petites quantités de sels minéraux et de matières organiques. La température la plus favorable à son développement et à ses manifestations nitrifiantes est située près de 37°. La fermentation nitrique s'arrête vers 55°. Le microbe et ses germes périssent à 90°.

Suivant M. Warrington, la lumière entrainerait la fermentation nitrique comme du reste le développement des bactéries.

Les fermentations par oxydation ne sont en réalité que des manifestations exagérées dans certains cas, d'une fonction qui appartient à toutes les cellules vivantes et susceptibles de vivre en présence de l'oxygène, aptes à respirer, à consommer de l'oxygène en provoquant des combustions dont les produits varient avec la nature du combustible et l'espèce du microbe, les conditions du milieu. La levure de bière en milieu aéré est aussi capable de brûler de l'alcool et se comporte par conséquent à la façon du *mycoderma vini*, mais son activité respiratoire est notablement moins grande.

Il résulte de l'ensemble des faits connus aujourd'hui que les délimitations et les classifications établies au début entre les diverses espèces de fermentations et de ferments sont beaucoup moins absolues qu'on ne se le figurait d'abord.

CHAPITRE XIV

DE L'ORIGINE DES FERMENTS

La question de l'origine des ferments est intimement liée à celle des générations spontanées. En effet, depuis Van Helmont et autres qui, même encore au xvii^e siècle, indiquaient les moyens de faire naître des souris, des grenouilles, des anguilles, etc., les partisans de ce mode de génération ont été refoulés, par les progrès de l'esprit d'examen, des grands animaux ou végétaux sensibles à l'œil nu, aux productions vivantes les plus petites et que nous ne saisissons plus qu'au moyen du microscope. Or c'est parmi ces êtres inférieurs, microscopiques, que se rangent les ferments. Redi, membre de l'Académie del Cimento, fit voir que les vers de la chair en putréfaction, que l'on croyait d'abord d'origine spontanée, ne sont que des larves d'œufs de mouches, et qu'il suffit d'entourer d'une gaze fine la chair en putréfaction, pour empêcher d'une manière absolue la naissance de ces larves; il reconnut le premier que les animaux parasites sont sexués et capables de pondre des œufs.

La découverte du microscope et les nombreuses observations dont elle fut suivie ranimèrent vers la fin du xvii^e et au commencement du xviii^e siècle la doctrine des générations spontanées, qui avait perdu tout crédit dans les questions concernant l'origine des êtres vivants d'un ordre plus élevé. Il s'agissait d'expliquer l'origine de ces productions vivantes, si variées, révélées par le microscope dans les infusions des matières végétales et animales et chez lesquelles on ne savait découvrir aucun symptôme apparent d'une génération sexuelle.

Le sujet fut étudié pour la première fois, d'une manière scientifique, par Needham qui publia en 1745, à Londres, un ouvrage sur cette question. Ce savant fit, par rapport aux infusoires, ce que l'on avait fait pour les organismes plus élevés. Il soustrait, ou plutôt cherche à soustraire, l'infusion végétale ou animale à l'action des germes, semences ou tout autre agent de multiplication pouvant venir du dehors. En même temps il détruit par un agent physique, le calorique, les germes que l'on pourrait supposer préexister dans le liquide. Dans ces conditions, ou il se produira des êtres vivants au sein de l'infusion, ou l'on n'en verra plus apparaître; dans le premier cas, il faudra bien admettre que ces organismes se sont développés dans le milieu qui leur convient, sans l'intervention préalable d'aucun germe; dans le second, la doctrine de la génération spontanée est fausse. En réalité la question ne peut être résolue que par cette méthode, et tous les expérimentateurs qui l'ont abordée depuis Needham jusqu'à nos jours ont dû s'en servir.

La difficulté sérieuse, grave, sur laquelle ont roulé depuis Needham toutes les discussions soulevées entre les hétérogénistes et les panspermistes, est de disposer les expériences de telle sorte que tout soupçon de l'intervention de germes apportés du dehors ou préexistants soit écarté.

Si le résultat est négatif, si, toutes les précautions paraissant convenablement prises pour écarter les causes d'erreur, il n'y a plus formation d'infusoires, il sera difficile d'élever une objection sérieuse contre la conclusion inévitable, pourvu que les opérations, mises en pratique pour éliminer les germes préexistants, ne soient pas de nature à modifier le milieu et à le rendre impropre au développement et à la nutrition des êtres vivants. Si au contraire on arrive à constater encore la naissance d'êtres vivants, on verra toujours renaître le soupçon que l'expérience a été mal conduite, qu'en faisant mieux et avec plus de soins on serait arrivé au résultat inverse. Les hétérogénistes se trouvent donc, vis-à-vis de leurs adversaires, dans une situation moins avantageuse, et malgré les succès qu'ils pourront remporter ils n'entraîneront jamais la conviction.

Nous pensons donc qu'il est inutile de donner ici une description détaillée des recherches minutieuses auxquelles on

s'est livré ; elles veulent être lues dans les mémoires originaux. *Une seule expérience qui prouve, par une réponse négative, que les infusions organiques, préservées des germes du dehors, ne donnent pas naissance à des infusoires, vaut mieux, scientifiquement parlant, que dix expériences tendant à établir le contraire.*

Si nous laissons de côté les détails des expériences fondamentales des hétérogénistes, en parlant des celles dont le résultat est conforme aux idées panspermistes, ce n'est pas dans un esprit de partialité. Nous sommes convaincus que ces dernières seules sont à l'abri de toutes objections, l'habileté relative des opérateurs étant mise à part et n'entrant pour rien dans la balance. Disons cependant que les travaux de M. Pasteur peuvent servir de modèle à tous ceux qui voudront diriger leurs recherches dans cette voie, quelle que soit l'opinion préconçue qui les guide.

Par leur précision, les soins destinés à écarter toute cause d'erreur, elles ne laissent rien à désirer. Comme le résultat obtenu a invariablement conduit M. Pasteur à nier la génération spontanée, ses adversaires doivent prouver avant tout qu'il s'est trompé, en se plaçant dans les mêmes conditions de rigueur expérimentale.

Les expériences de Needham, dont nous avons parlé plus haut, qui conduisirent ce savant à admettre et à soutenir la doctrine des générations spontanées, consistaient essentiellement à placer les substances organiques altérables dans des vaisseaux hermétiquement clos, que l'on soumettait ensuite à l'action d'une température élevée, en vue de détruire les germes préexistants.

L'ouvrage de l'auteur anglais eut un grand retentissement, grâce à l'appui que vint lui prêter Buffon dont il soutenait les vues. Bientôt après commença le grand débat entre Needham et Spallanzani, célèbre physiologiste italien. Ce dernier, dans ses opuscules de physique animale et végétale, traduction de J. Sennebier, 1777, réfuta expérimentalement les conclusions de Needham.

Le débat arriva à rouler principalement sur ce point :

Spallanzani ne se contentait pas de chauffer les vases her-

métiquement clos, contenant les infusions, pendant quelques minutes, *le temps seulement qu'il faut pour faire cuire un œuf de poule et pour détruire les germes*, comme s'exprime Needham, mais il les maintenait durant l'espace d'une heure dans l'eau bouillante. Il n'observait alors plus de production d'infusoires. Or, objecte le savant anglais, « de la façon qu'il a traité et mis à la torture ses dix-neuf infusions végétales il est visible que non seulement il a beaucoup affaibli, ou peut-être totalement anéanti la *force végétative* des substances infusées, mais aussi qu'il a entièrement corrompu par les exhalaisons et par l'odeur du feu, la petite portion d'air qui restait dans la partie vide de ses fioles. Il n'est pas étonnant par conséquent que ses infusions ainsi traitées n'aient donné aucun signe de vie. Il en devait être ainsi. »

Cette idée, que l'action de la température de l'eau bouillante détruit la force végétative des infusions, s'est maintenue jusqu'à nos jours et a servi d'argument aux hétérogénistes; ne pouvant attaquer l'exactitude matérielle des résultats expérimentaux de Pasteur, ils n'acceptaient pas les conclusions qu'il cherchait à en tirer.

Nous trouvons aussi dans le passage cité tout à l'heure la raison d'être des expériences de Schwann et d'Helmholtz sur l'air calciné, de Schroeder et V. Dusch sur l'air tamisé.

L'objection d'une altération possible de l'air confiné dans la fiole, sous l'influence d'une ébullition prolongée, en présence de substances organiques, était sérieuse à l'époque où elle se produisit; elle le devint davantage, lorsque l'on eut reconnu que l'air surmontant les conserves alimentaires, préparées par le procédé Appert, ne contient plus d'oxygène. Il était donc urgent de mettre les infusions en contact avec de l'air normal, après que l'ébullition les avait privées de leur germes préexistants, en évitant néanmoins l'introduction de nouveaux germes apportés par l'air.

A cet effet, le Dr Schwann chauffa les ballons contenant les infusions, jusqu'à ce que la destruction des germes fût assurée; mais son ballon n'était pas fermé; il communiquait librement avec l'air ambiant au moyen d'un tube en verre, recourbé en U et chauffé sur une partie de sa longueur, dans

sa courbure, au moyen d'un bain d'alliage fusible. Dans ces conditions, l'air peut être renouvelé dans les ballons, mais l'atmosphère nouvelle a subi, comme l'infusion, l'action de la chaleur qui détruit les germes.

L'expérience de Schwann fut très nette, en ce qui touche le bouillon de viande et le résultat négatif (développement nul d'infusoires) ne laissait rien à désirer. Il n'en fut pas de même d'essais analogues sur la fermentation alcoolique, qui donnèrent des résultats contradictoires.

Ure et Helmholtz répétèrent et multiplièrent ces expériences avec le même succès.

Pour écarter l'objection d'une altération possible par la chaleur d'un principe mystérieux et non défini, différent des germes, mais dont la présence dans l'air serait nécessaire à la production des infusoires, Schultze (*Ann. des sciences naturelles*, t. VIII, (2) 1837) fit passer l'air renouvelé à travers des réactifs chimiques énergiques (acide sulfurique concentré). Il remplit à moitié un flacon de cristal avec de l'eau distillée contenant diverses substances animales et végétales, puis boucha le vase à l'aide d'un bouchon traversé par deux tubes coudés, et soumit l'appareil ainsi disposé à la température de l'eau bouillante. Enfin, pendant que la vapeur s'échappait encore à travers les tubes dont nous venons de parler, il adapta à chacun d'eux un appareil à boules de Liebig, l'un contenant de l'acide sulfurique concentré et l'autre de la potasse concentrée et caustique. La température élevée avait dû nécessairement détruire tout ce qui était vivant, tous les germes qui pouvaient se trouver dans l'intérieur du vase ou de ses ajutages, et la communication du dehors en dedans était interceptée par l'acide sulfurique d'un côté et la potasse de l'autre. Néanmoins, en aspirant par l'extrémité de l'appareil où se trouvait la potasse, il était facile de renouveler l'air ainsi enfermé et les nouvelles quantités de ce fluide qui s'introduisaient ne pouvaient porter avec elles aucun germe vivant, car elles étaient forcées de passer dans un bain d'acide sulfurique concentré. M. Schultze plaça l'appareil ainsi disposé sur une fenêtre bien éclairée, à côté d'un vase ouvert, dans lequel il avait mis en infusion les mêmes substances organiques, puis il eut soin de renouveler l'air de son appareil

plusieurs fois par jour pendant plus de deux mois, et d'examiner au microscope ce qui se passait dans l'infusion. Le vase ouvert se trouva bientôt rempli de vibrions et de monades, auxquels s'ajoutèrent bientôt des infusoires polygastriques d'un plus grand volume, et même des rotateurs; mais l'observation la plus attentive ne put faire découvrir la moindre trace d'infusoires, de conferves ou de moisissures dans l'infusion de l'appareil.

Les travaux ultérieurs de Schroeder et V. Dusch (1854-1859) tendaient à lever une dernière objection, l'altération possible d'un principe spécial de l'air par un réactif aussi énergique que l'acide sulfurique. Guidés par les expériences de Loewel, qui reconnut que l'air ordinaire était impropre à provoquer la cristallisation des solutions sursaturées de sulfate de soude, lorsqu'il avait été préalablement filtré sur du coton, ils firent communiquer l'un des tubes de l'appareil de Schultze avec un tube large de 3 centimètres et long de 50 à 60 centimètres rempli de coton cardé. L'autre tube était mis en rapport avec un aspirateur.

Une fois le liquide, l'intérieur du ballon et les tubes privés de germes par l'ébullition, on mettait l'appareil en place et on laissait fonctionner l'aspiration nuit et jour.

Les deux savants reconnurent ainsi, que la viande avec addition d'eau, le moût de bière, l'urine, la colle d'amidon et les divers matériaux du lait pris isolément restent intacts dans l'air filtré.

Au contraire, le lait, la viande sans eau, le jaune d'œuf se pourrissaient aussi promptement que dans l'air ordinaire.

Il résulterait donc de ces expériences, qu'il y a des décompositions spontanées de substances organiques n'ayant besoin pour commencer que de la présence du gaz oxygène, tandis que d'autres exigent, outre l'oxygène, la présence de *ces choses inconnues* mêlées à l'air atmosphérique, qui sont détruites par la chaleur ou l'acide sulfurique ou encore retenues par le coton.

Les deux savants ne se prononcent donc pas sur la nature de ces choses et ne disent pas catégoriquement que ce sont des germes, et en réalité rien ne permettait encore de tirer cette conclusion.

Les expériences de M. Pasteur (Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, *Ann. chi. phys.* (3) t. LXIV, p. 27) ont fait faire un pas de plus à la question, en prouvant que ce sont bien réellement des germes de ferments et d'infusoires, que détruit la chaleur ou qu'arrêtent l'acide sulfurique ou le coton dans les expériences citées plus haut.

M. Pasteur pratique dans un châssis de fenêtre, à une distance de plusieurs mètres du sol, une ouverture donnant passage à un tube de verre de un demi-centimètre de diamètre et contenant, sur une longueur de un centimètre, une bourre de coton soluble retenue par une petite spirale en fil de platine.



Fig. 23.



Fig. 24.

Corpuscules organisés de la poussière en mélange avec des particules amorphes.

L'une des extrémités du tube débouche dans la rue, l'autre communique avec un aspirateur continu. Lorsque l'air a passé pendant un temps suffisant, la bourre de coton, plus ou moins salie par les poussières qu'elle a arrêtées, est déposée dans un petit tube avec le mélange alcoolique étheré qui dissout le coton-poudre. On laisse reposer pendant un jour. Toutes les poussières se rassemblent au fond du tube, où il est facile de les laver par décantation, sans aucune perte, si l'on a soin de séparer chaque lavage par un repos de douze à vingt heures. Le dépôt et le liquide qui le baigne sont réunis sur un verre de montre; après évaporation de l'alcool, le résidu est délayé dans de l'eau et examiné au microscope. M. Pasteur a également fait usage d'acide sulfurique ordinaire pour délayer la poussière. Cet agent a pour effet de désagréger les grains d'amidon et de carbonate de chaux, que l'on retrouve toujours en quantités plus ou moins fortes dans les dépôts fixés sur la bourre de coton.

Les figures 23 et 24 représentent des corpuscules organisés associés à des particules amorphes, tels qu'ils s'offrent au microscope, avec un grossissement de 330 diamètres; le liquide délayant était de l'acide sulfurique ordinaire.

La figure 23 s'applique à des poussières recueillies du 25 au 26 juin 1860; la figure 24 à des poussières du brouillard très intense du mois de janvier 1861.

Il ne suffisait pas de reconnaître au microscope des particules organisées mélangées à des substances amorphes, il fallait encore prouver que ces particules constituent réellement des germes féconds, capables d'engendrer les infusoires qui se développent en si grande abondance dans les liquides organiques exposés à l'air.

A cet effet, M. Pasteur dirigea l'expérience de la manière suivante :

Dans un ballon de 250 à 300 centimètres cubes, il introduit 100 à 150 centimètres cubes d'une eau sucrée albumineuse, formée dans les proportions suivantes :

| | |
|--|-----|
| Eau | 100 |
| Sucre | 10 |
| Matières albuminoïdes et minérales provenant de la levure de bière : 0,2 à . . | 0,7 |

Le col effilé du ballon communique avec un tube de platine comme l'indique la figure 25. Dans cette première phase de l'expérience le tube en T à 3 robinets est supprimé et remplacé par un simple joint en caoutchouc. Le tube de platine est chauffé au rouge au moyen de la grille à gaz. On fait bouillir le liquide pendant deux ou trois minutes, puis on le laisse refroidir complètement. Il se remplit d'air ordinaire, à la pression de l'atmosphère, mais dont toutes les parties ont été portées au rouge; puis on ferme à la lampe le col du ballon. Celui-ci, ainsi préparé et détaché, est placé dans une étuve à une température constante, voisine de 30°; il peut s'y conserver indéfiniment sans la moindre altération du liquide qu'il renferme. Celui-ci conserve sa limpidité, son odeur, sa réaction acide faible; c'est tout au plus si l'on observe une très légère absorption d'oxygène. M. Pasteur affirme que jamais il

ne lui est arrivé d'avoir une seule expérience, disposée comme il est dit plus haut, qui lui ait donné un résultat douteux; tandis que l'eau de levure sucrée et bouillie pendant deux ou

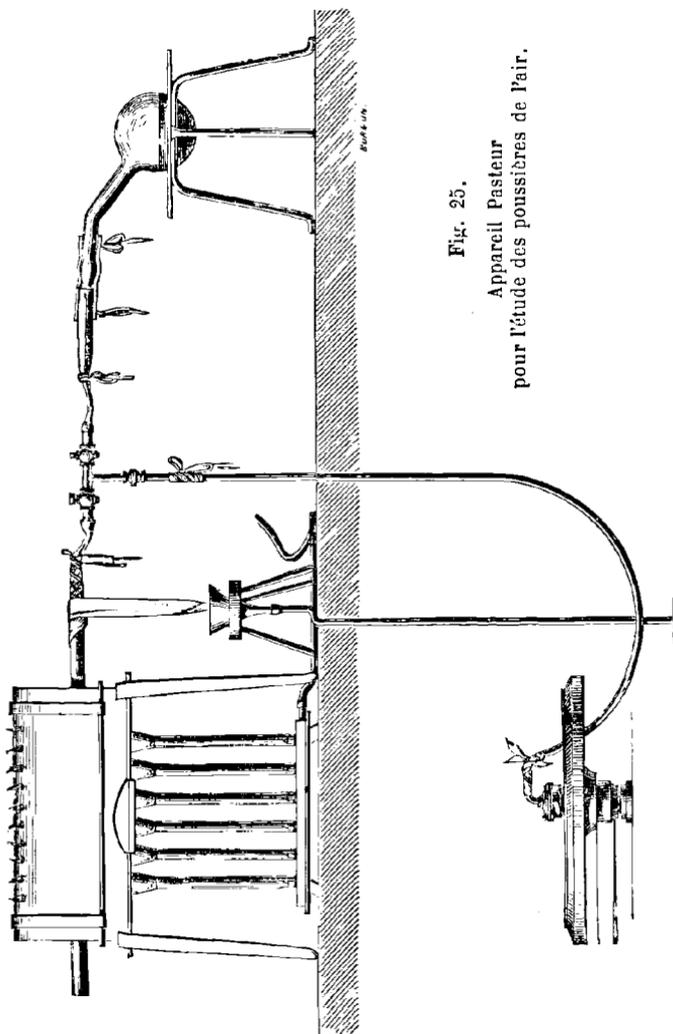


Fig. 25.
Appareil Pasteur
pour l'étude des poussières de l'air.

trois minutes, puis exposée à l'air ordinaire est déjà en voie d'altération manifeste au bout de un jour ou deux et se trouve remplie de bactériums, de vibrions, ou couverte de mucors. Ces

expériences sont directement contraires à celles de MM. Pouchet, Mantigazzo, Joly et Musset.

Il est donc bien acquis, que l'eau de levure sucrée, liqueur excessivement altérable au contact de l'air ordinaire, peut être conservée intacte pendant des années entières, lorsqu'elle est exposée à l'action de l'air calciné, après avoir été soumise à l'ébullition pendant quelques minutes (2 à 3)¹. Ceci posé, M. Pasteur adapte la pointe fermée de son ballon rempli d'eau de levure sucrée bouillie et d'air calciné, conservé depuis un ou deux mois à l'étuve, sans développement d'organismes, au moyen d'un tube en caoutchouc, à un appareil disposé comme celui de la figure 26. La pointe effilée du ballon s'engage dans un tube en verre fort de 10 à 12 millimètres de diamètre intérieur, dans lequel il a placé un bout de tube de petit diamètre ouvert aux deux bouts, libre de glisser dans le gros tube et renfermant une portion d'une des petites bourres de coton chargées de poussières. Le gros tube en verre est relié à un tube de laiton en T muni de robinets, dont l'un communique avec la machine pneumatique, un autre avec le tube de platine rougi et le troisième avec le ballon par l'intermédiaire du gros tube renfermant la petite nacelle porte-bourre. Les joints sont établis entre ces diverses pièces au moyen de caoutchoucs. On commence par faire le vide, après avoir fermé le robinet du côté du tube métallique rougi. En ouvrant ensuite celui-ci, on laisse rentrer lentement de l'air calciné dans les tubes; cette opération (vide et rentrée d'air calciné) est répétée plusieurs fois. On brise alors la pointe du ballon à travers le caoutchouc, on fait couler la petite nacelle à poussières dans le ballon dont on referme le col à la lampe. Comme contre-épreuve et pour répondre à toute objection, on a fait subir à d'autres ballons, préparés comme le précédent, les mêmes manipulations, avec cette différence qu'au lieu de coton chargé de poussière atmosphérique, on y laissait couler une nacelle contenant de l'amiante calcinée (par surcroit de précautions on avait vérifié que

(1) M. Pasteur a fait ressortir une cause d'insuccès qui a induit en erreur plus d'un expérimentateur, en montrant que le mercure d'une cuve est un véritable réceptacle d'organismes vivants, et que, par conséquent, toutes les expériences faites avec la cuve à mercure doivent amener forcément un développement d'infusoires.

l'amiante calcinée et ensuite chargée de poussières atmosphériques, par le même procédé que le coton, donne des résultats identiques).

Or, voici ce que M. Pasteur observa d'une manière constante.

Dans tous les ballons où l'on avait ainsi introduit des poussières récoltées dans l'air : 1° des productions organisées commencent à apparaître dans le liquide après vingt-quatre, trente-six, quarante-huit heures au plus. C'est précisément le temps nécessaire pour que ces mêmes productions apparaissent dans l'eau de levure sucrée exposée au contact de l'atmosphère.

2° Les productions observées sont du même ordre que celles que l'on voit apparaître dans le liquide abandonné librement à l'air (mucors, mucédinées ordinaires, torulacées, bactériums et vibrions de la plus petite espèce, dont le plus gros, le monas lens, a 0^{mm},004 de diamètre).

Chose assez curieuse, M. Pasteur n'a jamais vu apparaître de fermentation alcoolique, bien que la composition du liquide employé ait été très appropriée à ce genre d'altération.

Lorsqu'on remplace l'eau de levure sucrée par de l'urine, en opérant du reste absolument de la même manière, on constate toujours l'absence d'altération tant que l'on n'a pas introduit les poussières atmosphériques, tandis qu'avec leur concours il se développe de nombreux organismes, en tout semblables à ceux qui naissent et se développent dans l'urine conservée à l'air.

Si au contraire on répète la même expérience avec le lait ordinaire, on peut être sûr qu'il se caillera et se putréfiera constamment. On observera la naissance de nombreux vibrions d'une même espèce et de bactériums, et l'oxygène du ballon disparaîtra.

M. Pasteur pense que ce résultat contraire à ceux observés pour d'autres liquides tient uniquement à ce que le lait renferme des germes de vibrions qui résistent à 100°. Pour le prouver, il fait bouillir le lait, non à 100° ou à la pression atmosphérique, mais à 110°, sous une pression plus forte, et il constate que les ballons ainsi préparés et fermés à la lampe peuvent être conservés indéfiniment à l'étuve sans donner lieu

à la moindre production de moisissures ou d'infusoires. Le lait garde sa saveur, son odeur et toutes ses qualités; l'atmosphère du ballon n'est que très peu modifiée dans sa composition. (Après quarante jours on a retrouvé 48,37 volumes d'oxygène p. 100 d'air.)

Cette différence entre le lait et l'urine ou l'eau de levure sucrée doit être attribuée à l'alcalinité du premier milieu, tandis que les deux autres sont acides.

En effet, si l'on neutralise préalablement l'acide de l'eau sucrée de levure, au moyen de carbonate de chaux, on obtient des organismes dans les conditions de l'expérience où il ne se développaient pas.

Ces faits ont amené M. Pasteur à faire des recherches sur l'action qu'exerce la température sur la fécondité des spores des mucédinées et des germes qui existent en suspension dans l'atmosphère. Voici en quelques mots la méthode suivie. Il passe un peu d'amiante dans les petites têtes de la moisissure qu'il veut étudier, puis il place cette amiante couverte de spores dans un tube en U (fig. 26) de plus gros diamètre où le petit tube peut se mouvoir librement; l'une des extrémités du tube en U se relie par un caoutchouc à un tube de métal à robinets en forme de T. L'un des robinets communique à la machine pneumatique, un autre à un tube de platine chauffé au rouge. L'autre extrémité porte un caoutchouc qui reçoit également le ballon où l'on doit introduire les spores; ce ballon est fermé à la lampe, rempli d'air calciné et d'un liquide nourricier préalablement porté à l'ébullition. Enfin, le tube en U plonge dans un bain d'huile, d'eau ordinaire ou d'eau salée, suivant la température que l'on veut atteindre. Entre le tube en U et le tube de platine, il y a un tube desséchant à ponce sulfurique. Lorsque tout l'appareil qui précède le tube de platine a été rempli d'air calciné, et que les spores ont été maintenues à la température voulue, pendant un temps suffisant que l'on peut faire varier, on brise la pointe du ballon par un coup de marteau, sans dénouer les cordonnets du caoutchouc qui réunit le ballon au tube en U, puis, inclinant convenablement ce dernier tube éloigné de son bain, on fait glisser dans le ballon l'amiante et ses spores. On referme le ballon à la lampe,

on le porte à l'étude à 20 ou 30°. L'expérience sur les poussières de l'air se fait de la même manière avec de l'amianté.

En dehors de toute humidité, la fécondité des spores du peni-

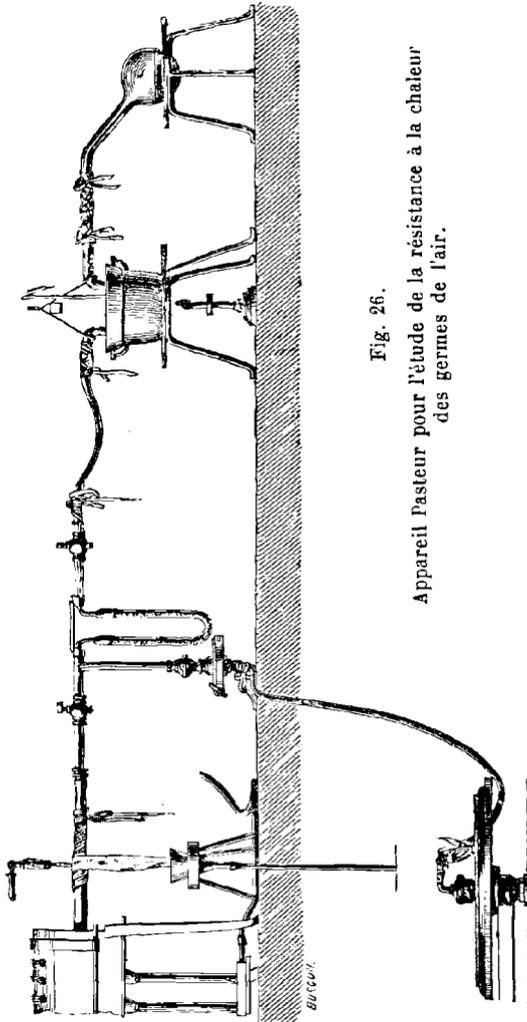


Fig. 26.

Appareil Pasteur pour l'étude de la résistance à la chaleur des germes de l'air.

cillium glacum se conserve jusqu'à 120° et même un peu au-dessus (125°), il en est de même des spores des autres mucédinées vulgaires. A 130° on détruit pour tous la faculté de se

développer et de se multiplier. Ces limites sont les mêmes pour les poussières de l'air.

Dans toutes ces expériences si soignées on a pris les précautions les plus minutieuses pour empêcher l'accès de la plus petite quantité d'air ordinaire. Mais, disent les partisans de l'hétérogénie, si la plus petite portion d'air ordinaire développe des organismes dans une infusion quelconque, il faut de toute nécessité, au cas où ces organismes ne sont pas spontanés, que dans cette portion si petite d'air commun il y ait les germes d'une multitude de productions diverses; et si les choses sont telles, l'air ordinaire doit être encombré de matière organique qui y formerait un épais brouillard.

M. Pasteur a montré qu'il y avait beaucoup d'exagération dans cette opinion généralement admise, que la plus petite quantité d'air suffit pour développer des multitudes d'organismes; qu'au contraire, il n'y a pas dans l'atmosphère continuité de la cause des générations dites spontanées; qu'il est toujours possible de prélever en un lieu déterminé un volume notable mais limité d'air ordinaire, n'ayant subi aucune espèce de modification physique ou chimique, et tout à fait impropre néanmoins à provoquer une altération quelconque dans une liqueur éminemment putrescible. La méthode d'expérience est très simple. Dans un ballon de 250 à 300 c. c. on introduit environ 150 c. c. de liquide altérable; on étire le ballon à la lampe en laissant la pointe ouverte, puis on fait bouillir le liquide jusqu'à ce que la vapeur en s'échappant par l'extrémité ait expulsé tout l'air; à ce moment on ferme à la lampe la pointe, au moyen d'un dard de chalumeau, et on laisse refroidir. Le ballon est alors vide d'air; en cassant la pointe dans un endroit déterminé, l'air rentre brusquement, entraînant dans le ballon les germes qu'il tient en suspension; on referme à la lampe et on conserve à l'étuve à 20 ou 30°. Dans la plupart des cas il se développe des organismes; ces organismes sont même plus variés que si le liquide était librement exposé à l'air, ce que M. Pasteur explique en disant que dans ce cas les germes d'un volume limité d'air, étant en petit nombre, ne sont pas gênés dans leur développement, par des germes plus nombreux et d'une fécondité précoce, capables d'envahir le terrain en ne

laissant place que pour eux. Mais ce qu'il importe surtout de relever dans les résultats obtenus par cette méthode, c'est qu'il arrive fréquemment, plusieurs fois dans chaque série d'essais, que la liqueur reste absolument intacte, quelle que soit la durée de son exposition à l'étuve, comme si elle avait reçu de l'air calciné. Ce phénomène est d'autant plus marqué, et se présente dans des proportions d'autant plus grandes, que les prises d'air des ballons sont effectuées à de plus grandes hauteurs. Ainsi, sur vingt ballons ouverts dans la campagne, huit renfermaient des productions organisées; sur vingt ballons ouverts sur le Jura, cinq seulement en contenaient; et enfin sur vingt ballons ouverts au Montanvert, par un vent assez fort, soufflant des gorges les plus profondes du glacier des Bois, un seul a été altéré.

Nous pouvons encore tirer des observations de cette série d'expériences une autre conclusion. Puisque le liquide altérable mais préalablement bouilli, contenu dans les ballons, se remplit de productions organisées dans un grand nombre de cas, après l'introduction d'un volume restreint d'air, les facultés génésiques des infusions n'ont pas été étouffées par les conditions matérielles des expériences. Du reste, cette objection qui s'est produite dès le début des débats si anciens entre les hétérogénistes et les panspermistes a été définitivement écartée par une expérience de M. Pasteur, consistant à recevoir dans un ballon vide et privé de germes vivants, par l'application momentanée d'une température suffisamment élevée, du sang au moment où il sort de l'organisme et sans que ce liquide éminemment altérable soit mis en contact avec l'air. En laissant ensuite rentrer dans le ballon de l'air privé de germes, par calcination ou simple filtration, et en fermant à la lampe, on voit le sang se conserver indéfiniment intact, bien qu'il n'ait pas subi l'action de la chaleur.

M. Pasteur a également montré que l'air peut être privé de ses germes par son passage à travers un tube capillaire couronné sur lui-même. Il suffit donc, dans la plupart de ces expériences, d'étirer le ballon de manière à former une effilure très longue que l'on recourbe de diverses manières, comme par exemple dans la figure 27. Lorsque après avoir expulsé l'air pri-

mitif et tué les germes préexistants par une ébullition prolongée, on laisse lentement refroidir le ballon, l'air qui rentre ne provoque aucun développement d'infusoires.

Pour terminer l'analyse du beau mémoire de M. Pasteur où l'hétérogénéité est poussée dans ses derniers retranchements, nous ajouterons encore que le savant chimiste a cherché à ôter à ses adversaires un de leurs principaux arguments. Les expériences de générations spontanées ayant toujours porté sur des infusions végétales ou animales, on prétendit (Needham, Buffon, Pouchet) que les organismes ne se produisent qu'à même la nature expirante, et au moment où les éléments des êtres sur lesquels ils s'engendrent, entrent dans de nouvelles combinaisons chimiques et éprouvent tous les phénomènes de fermentation ou de putréfaction.

En d'autres termes, les matières albuminoïdes conserveraient en quelque sorte un reste de vitalité, qui leur permettrait de s'organiser au contact de l'oxygène, lorsque les conditions de température et d'humidité sont favorables.

Partant de l'idée que les matières albuminoïdes ne sont qu'un aliment pour les germes des infusoires, des mucédinées ou des ferments, M. Pasteur a prouvé directement que les substances organiques peuvent être remplacées par des substances purement minérales ou artificielles ou tout au moins des substances où cette prétendue force végétative n'est pas admissible.

Nous avons parlé ailleurs avec détails des expériences de M. Pasteur et de M. Raulin sur la nutrition et le développement des ferments et des mucédinées dans des milieux artificiels composés de sucre candi pur, de tartrate d'ammoniaque et de phosphates.

Le lecteur se rappellera sans doute une observation de M. Pasteur que nous avons signalée en passant sans insister. En introduisant dans l'eau de levure sucrée, préalablement bouillie et conservée dans l'air calciné, des poussières atmosphériques



Fig. 27. — Ballon Pasteur.

prises à diverses époques et dans des endroits différents, il n'a jamais vu se produire de fermentation alcoolique. Cependant le liquide employé est un de ceux qui conviennent le mieux au développement des levures alcooliques. Le fait peut s'expliquer en admettant que l'air ne contient pas de spores ou de germes de saccharomyces ou de ferment apiculé, mais alors comment interpréter l'apparition spontanée si prompte et si constante de la fermentation alcoolique dans le moût de raisin ou de fruits en général ? La cause de cette apparente contradiction est bien simple. Ce n'est pas l'air qui apporte les germes des ferments alcooliques qui se propagent et se multiplient si vite dans le moût de raisin, ou s'il en apporte c'est en si petite quantité qu'ils ne suffiraient pas pour produire la fermentation en si peu de temps. Ces germes se trouvent à la surface même du fruit, sur les grappes qui contiennent le liquide sucré dont ils provoqueront la décomposition dès que par l'expression ils seront mis en contact avec lui.

Pour le prouver, M. Pasteur prépare une série de quarante ballons à cols sinueux du genre de celui que nous avons décrit plus haut (fig. 28), avec cette différence toutefois, que la tubulure du ballon étirée en col de cygne n'est pas seule. Chaque ballon porte une seconde tubulure droite fermée par un tube en caoutchouc muni d'un bouchon de verre. Dans les quarante ballons il introduit du moût de raisin filtré et limpide et qui après son ébullition, comme tous les liquides un peu acides, demeure intact, quoique l'extrémité du col soit ouverte. D'un autre côté, il lave dans quelques centimètres cubes d'eau un fragment d'une grappe de raisin. Au microscope, on constate dans cette eau de lavage l'existence d'une multitude de corpuscules organisés, ressemblant, à s'y méprendre, soit à des spores de moisissures, soit à une levure alcoolique, soit enfin à des *mycoderma vini*. Cela fait, dans dix des quarante ballons, M. Pasteur ne sème rien, dans dix autres, il dépose, à l'aide de la seconde tubulure, quelques gouttes du liquide de lavage des grains de raisin. Dans une troisième série de dix autres ballons, on dépose quelques gouttes du même liquide, préalablement porté à l'ébullition, puis refroidi. Enfin dans les dix ballons restants, on introduit une goutte de jus de raisin pris dans les graines non écrasées.

La première série ne donne aucune production, le moût de raisin reste intact. Dans la deuxième série apparaissent des flocons de mycélium, de la levure alcoolique, et après du *mycoderma vini*; au bout de quarante-huit heures les dix ballons sont en pleine fermentation, si l'on opère à la température de l'air. La troisième série n'a pas donné un seul ballon altéré; le moût est resté limpide. Dans la quatrième, un seul ballon s'est altéré. La conclusion de ces faits est facile à tirer¹. M. Béchamp avait déjà prouvé, par des expériences antérieures, que les grappes de raisin portent à leur surface tout ce qui est nécessaire pour faire fermenter l'eau sucrée, même à l'abri de l'air.

A la question de l'origine des ferments et des générations spontanées s'en joint une autre qui peut être envisagée d'une manière indépendante, quelle que soit l'origine des organismes, qu'elle soit spontanée ou non : un organisme ferment peut-il se transformer en un ferment différent, doué de propriétés actives distinctes, lorsque les conditions de son développement sont modifiées ?

Il est évident que cette question peut être sérieusement posée et discutée; elle se relie à la théorie générale du transformisme qui a été appliquée aux organismes supérieurs; à plus forte raison est-elle applicable aux êtres les plus simples de la création vivante. Les faits observés ne sont pas directement contraires à l'idée d'une transformation des ferments les uns dans les autres; nous avons même eu l'occasion d'en citer quelques-uns qui leur semblent favorables. Cependant ces faits sont encore trop peu nombreux pour se prêter à des développements étendus, quelques-uns sont même contestés. Nous nous contenterons donc de souligner ce côté de l'étude des organismes inférieurs; il a déjà été l'objet de recherches importantes, qui à plus d'un titre méritent d'être poursuivies.

(1) Pasteur. *Compt. rend.*, t. LXXV, p. 781.

FERMENTATIONS

DUES AUX FERMENTS SOLUBLES

OU FERMENTATIONS INDIRECTES

CHAPITRE XV

FERMENTS SOLUBLES. — ZYMASES

A l'exception de l'inversion de la saccharose par la levure et de l'hydratation de l'urée par les ferments ammoniacaux, nous avons trouvé, dans les phénomènes chimiques étudiés jusqu'ici la cause de la réaction liée d'une façon si intime à la présence d'un organisme cellulaire que tous les efforts tentés en vue de séparer cette cause de l'être vivant, ne fût-ce qu'un instant, ont échoué ou tout au moins n'ont donné aucun résultat précis et définitivement adopté.

Les importants et remarquables travaux de Pasteur nous ont appris que la transformation du sucre en alcool, en acides lactique et butyrique, en gomme et en mannite ; celles des matières albuminoïdes en principes putrides très divers, celle de l'alcool en acide acétique dépendent de la présence d'organismes inférieurs et que les germes de ces organismes viennent du dehors. Il n'en est pas moins vrai que nous n'avons encore aucune idée certaine sur le mode d'action des ferments figurés.

Divers savants ont cherché à expliquer le rôle des organismes en admettant que les cellules vivantes élaborent des zymases ou diastases, ce que l'on a appelé ferments solubles ou indirects et que ce sont ces ferments solubles qui déterminent les diverses réactions chimiques observées.

On généralisa ainsi ce qui avait été observé dans certains cas

particuliers (inversion de la saccharose, hydratation de l'urée).

On sait qu'avant de fermenter alcooliquement le sucre de canne subit une hydratation qui le dédouble, comme cela arrive sous l'influence des acides, en deux glucoses inverses ; la glucose ordinaire ou sucre de raisin, dextrose, qui dévie à droite le plan de polarisation et la fructose, levulose. Cette inversion fut d'abord attribuée à l'acidité de la levure. M. Berthelot et après lui M. Béchamp montrèrent que l'agent actif est un principe soluble, neutre, azoté, excrété par la levure que l'on rencontre en plus ou moins grande abondance dans l'eau de lavage filtrée de la levure (zymase de Béchamp ; ferment inversif de Berthelot). Ce principe soluble, auquel on ne peut attribuer aucune organisation, mais qui dérive immédiatement d'un être vivant, possède le pouvoir remarquable d'invertir en quelques instants le sucre de canne.

Lorsque ce fait fut établi pour le ferment inversif, soluble, non organisé, on connaissait déjà et depuis longtemps des composés analogues, également solubles, azotés, non organisés, qui se caractérisaient surtout par les actions spécifiques qu'ils pouvaient exercer chimiquement sur divers principes.

C'est ainsi que l'orge germée moulue, traitée par l'eau, avait fourni à MM. Payen et Persez une substance soluble, capable de saccharifier l'amidon, la *diastase*. Dans les amandes on avait reconnu la présence de l'émulsine qui transforme l'amygdaline en essence d'amandes amères.

Ce qui distingue surtout ces réactions chimiques, provoquées par ces divers principes solubles, non organisés, c'est la grandeur de l'effet comparée à la masse très petite de l'agent actif. Ce même caractère se retrouve dans les fermentations directes, dues à l'intervention immédiate d'organismes vivants.

Nous donnerons le nom de fermentations indirectes aux réactions dont nous venons de parler et dont la cause dérive d'un organisme, mais peut agir en dehors de lui.

Il était naturel de rechercher la raison des fermentations directes dans l'intervention de produits actifs solubles ou non, élaborés par les organismes ferments. On reliait ainsi deux ordres de phénomènes très voisins, qui certainement ne sont pas sans rapports.

Cette théorie, qui ramènerait les fermentations directes ou vraies de M. Pasteur à se confondre quant à leur essence avec les fermentations indirectes ou à ferments solubles non organisés n'a pas trouvé l'appui d'assez de faits caractérisés et bien étudiés, pour s'imposer à l'esprit comme une vérité démontrée; mais elle n'a pas non plus rencontré jusqu'ici de contradiction absolue. Il est du reste facile de voir qu'une pareille explication ne fait que déplacer la difficulté. Si la force décomposante dérive de la cellule, peu importe, à un point de vue général et philosophique, qu'elle s'exerce directement ou par l'intermédiaire d'un agent soluble ou insoluble.

Caractères généraux des ferments solubles. — Les ferments solubles dérivent tous directement d'organismes vivants, au sein desquels ils prennent naissance. Jusqu'à présent, on n'a pu encore communiquer à aucune substance organique artificielle les caractères spécifiques dont nous parlerons tout à l'heure. On est donc fondé à croire, que ce caractère spécifique est une conséquence de l'origine des ferments solubles. Leur composition les rapproche des matières albuminoïdes; en effet ils renferment du carbone, de l'azote de l'hydrogène et de l'oxygène.

On constate des différences notables dans les analyses publiées par divers savants touchant la composition élémentaire des zymases.

Comme le fait remarquer M. O. Loew (*Archiv. f. d. ges. Phys.*, t. XXVII, p. 203 à 214) qui a fait sur cette question des recherches étendues, ces différences sont en grande partie attribuables aux impuretés (minérales ou organiques) qui accompagnent les zymases avec beaucoup de persistance, impuretés qu'elles empruntent au milieu initial lorsqu'on cherche à les précipiter par divers réactifs.

Les analyses de la diastase du malt et de l'invertine de la levure publiées par Barth, celles de Donath et de Zulkowsky pour les mêmes substances sont remarquables par leur faible teneur en azote (5,75 à 9,47 p. 100). Or il est facile de démontrer que les ferments solubles préparés par les méthodes indiquées par ces savants retiennent des substances hydrocarbonées. Ainsi l'invertine analysée par Barth renferme de la matière gommeuse, comme le démontrent les expériences de Kitiani qui

en a retiré des proportions notables de sucre par l'ébullition avec l'acide sulfurique à 5 p. 100.

La présence de la gomme s'oppose à la réaction du biuret (coloration bleu violacé par le sulfate de cuivre en présence d'un alcali).

La diastase du malt analysée par Zulkowsky contient de fortes proportions de dextrine, comme on pouvait le prévoir d'après le procédé de préparation employé et comme le prouve sa saccharification par l'acide sulfurique étendu et bouillant.

Ces impuretés minérales ou de nature organique, hydrocarbonée abaissent fortement la teneur en azote.

Wurtz et Bouchut ont extrait du latex du *Carica papaya* une zymase qui digère activement les matières albuminoïdes, la papaïne.

Le procédé de purification suivi par ces savants est de nature à inspirer plus de confiance que ceux employés avant eux, il en est de même de la méthode analogue suivie plus tard par O. Lœw pour isoler le ferment soluble pancréatique à l'état de pureté.

Les analyses conduisent alors à des nombres assez concordants et très voisins de ceux que donnent les peptones :

| | Papaïne. (Burtz). | Pancréatine. (Loew). | Albumine peptone. (Heuninger). |
|--------------|----------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Carbone. . . | 52,48 | 52,75 | 52,28 |
| Hydrogène. . | 7,24 | 7,52 | 7,03 |
| Azote . . . | 16,59 | 16,55 | 16,38 |

D'après M. Kühne, la tryosine ou ferment albuminoïde du pancréas se dédoublerait par l'ébullition de sa solution aqueuse en 20 p. 100 d'albumine coagulée et 80 p. 100 de peptone. Lœw est d'avis que la séparation de l'albumine coagulée n'est pas la conséquence d'un vrai dédoublement, mais qu'elle est due à l'élimination d'une impureté accompagnant la peptone diastasique.

De l'ensemble de ses importantes recherches, Lœw arriva à conclure :

1° Que dans aucun cas on n'a pu établir que les ferments solubles ne sont réellement pas des matières albuminoïdes ;

2° Que les ferments peptiques et amylolytiques du pancréas, la diastase du malt sont des albuminoïdes voisins des peptones qui se rapprochent de la papaïne de Wurtz.

Ces conclusions qui viennent détruire bien des idées erronées s'accordent parfaitement avec l'idée généralement admise que les zymases sont des dérivés de la décomposition des matières protéiques sous l'influence de l'activité vitale du protoplasma cellulaire.

Caractères physiques et chimiques généraux des ferments solubles. — Nous devons, d'après ce qui vient d'être dit, écarter tout ce que l'on a publié sur ce point avant le travail de Wurtz sur la papaïne et ceux de M. Lœw. Les descriptions antérieures se rapportent, en effet, à des produits très impurs, nous prendrons donc comme type la papaïne, qui est la première zymase obtenue dans un état de pureté satisfaisant.

Séchée dans le vide, elle constitue une poudre blanche très soluble dans l'eau. Les acides chlorhydrique et nitrique donnent des précipités solubles dans un excès de réactif. Les acides picrique et métaphosphorique la précipitent, tandis que l'acide phosphorique normal et l'acide acétique restent sans effet.

Le sublimé corrosif ne précipite qu'à chaud. Le sulfate de cuivre donne un dépôt violet qui bleuit par l'ébullition et se dissout en bleu dans une lessive alcaline caustique.

Le perchlorure de platine, le tanin et les réactifs de Millon précipitent abondamment à chaud ; avec le dernier réactif le précipité prend une coloration rouge.

La papaïne dévie à gauche le plan de la lumière polarisée ; $[\alpha]_j = -53$ à 54° .

Le ferment pancréatique purifié de Lœw offre des caractères semblables.

Préparation des ferments solubles. — Le procédé le plus anciennement connu et employé consistait à précipiter par une quantité suffisante d'alcool fort les liquides animaux ou les infusions végétales faites à température peu élevée. Il se produit alors un dépôt floconneux blanc qui entraîne et contient toute la matière active. Le précipité séché peut être repris par l'eau qui dissout la zymase, après filtration, pour séparer les produits devenus insolubles dans l'eau, on reprecipite par l'alcool.

Il est évident que cette méthode doit être insuffisante ; elle fournit un mélange de produits amorphes, insolubles dans l'eau chargée d'alcool et solubles dans l'eau, mélange contenant le

ferment. C'est tout ce que l'on est en droit d'affirmer. On a cru mieux faire en utilisant la faculté que possède le ferment soluble d'être mécaniquement entraîné par des substances qui se précipitent au sein de la liqueur qui le renferment ; Conheim sépare la ptyaline (diastase salivaire) en acidulant fortement la salive avec de l'acide phosphorique trihydraté ; l'acide phosphorique est ensuite neutralisé avec de l'eau de chaux jusqu'à réaction alcaline. Le précipité de phosphate tricalcique entraîne, en se formant, la ptyaline et de la matière albuminoïde. Le liquide filtré est inactif sur l'amidon. Le dépôt lavé à l'eau cède la ptyaline à ce dissolvant et retient la matière protéique ; il ne reste plus qu'à précipiter par l'alcool la solution pour obtenir un dépôt blanc, léger, floconneux qui, séché dans le vide, se présente sous forme d'une poudre incolore.

La pepsine se retire d'une manière analogue du suc gastrique naturel ou avec le suc gastrique artificiel obtenu par digestion à 35° de la muqueuse stomacale avec de l'eau contenant 5 p. 100 d'acide orthophosphorique ; on précipite l'infusion par de l'eau de chaux.

Le phosphate tricalcique est transformé par addition convenable d'acide phosphorique, en phosphate bicalcique, insoluble et cristallisé, qu'il suffit de laver pour enlever la pepsine adhérente. On peut aussi dissoudre le précipité de phosphate de chaux dans l'acide chlorhydrique étendu ; versez ensuite dans le liquide une solution de cholestérine dans un mélange de 4 p. 100 d'alcool et de 1 p. 100 d'éther ; agiter la cholestérine qui se sépare avec le liquide, la recueillir sur un filtre ; laver à l'eau acidulée avec de l'acide acétique, puis à l'eau pure. La cholestérine humide, à laquelle adhère la pepsine, est traitée par l'éther pur qui la dissout, tandis qu'il reste à la partie inférieure du vase une solution de pepsine pure dans l'eau (Brücke). Cette pepsine ne précipite plus que par le bichlorure de platine, l'acétate neutre et l'acétate basique de plomb. L'acide nitrique, le tanin et le sublimé corrosif sont sans effet. Elle ne donne qu'une très légère coloration avec l'acide nitrique et l'ammoniaque.

Danilewsky se sert du collodion pour précipiter les ferments solubles. Le précipité bien lavé est traité, après dessiccation, par de l'éther alcoolisé et aqueux, qui dissout la cellulose nitrée, en

laissant une solution du principe actif, privé des matières albuminoïdes.

Von Wittich (*Arch. f. d. ges. Physio.*, t. III, p. 339) propose la méthode suivante, applicable à l'extraction des ferments solubles en général. L'organe végétal ou animal qui les contient est rapidement divisé, débarrassé au besoin du sang par un lavage à l'eau et abandonné pendant vingt-quatre heures sous l'alcool, puis séché à l'air, pulvérisé et tamisé.

La poudre est délayée dans de la glycérine. Enfin on précipite la solution glycérique par l'alcool. En répétant cette opération plusieurs fois (solution dans la glycérine et précipitation par l'alcool), on obtient une poudre active privée de matières albuminoïdes.

Toutes ces méthodes n'offrent pas grandes garanties par la raison que beaucoup de produits amorphes contenus dans les sucs d'origine animale ou végétale peuvent être entraînés comme les ferments eux-mêmes.

Nous attachons plus de valeur au procédé de Wurtz utilisé également par Lœw.

On commence par précipiter par une addition convenable d'alcool le liquide contenant le ferment actif. Le précipité est traité par l'alcool concentré puis redissous dans l'eau ; la solution est précipitée par du sous-acétate de plomb qui respecte la papaïne et élimine une matière albuminoïde ; on filtre ; on enlève le plomb par l'hydrogène sulfuré ; on filtre à nouveau, puis on ajoute peu à peu de l'alcool, de manière à former un léger trouble entraînant le reste de sulfure de plomb. L'addition d'un excès d'alcool précipite ensuite la papaïne pure.

Lœw prépare le ferment pancréatique en laissant digérer pendant quarante-huit heures à 14° un kilogramme de pancréas finement haché, puis on mélange la masse à une fois et demie son poids d'alcool à 40 p. 100 et l'on abandonne le tout à lui-même pendant deux jours. La masse demi-fluide est passée à travers un tamis de crin ; on filtre et on précipite par un mélange de deux volumes d'alcool et de un volume d'éther ; le précipité est lavé à l'alcool absolu, exprimé entre des doubles de papier à filtre, redissous dans l'eau.

La liqueur filtrée est de nouveau précipitée par le mélange

d'alcool et d'éther; puis on sèche le dépôt sous une cloche au-dessus de l'acide sulfurique. On redissout le produit dans l'eau; on précipite exactement par le sous-acétate de plomb; après filtration on élimine le plomb par l'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré est reprecipité par l'alcool étheré. Le dépôt lavé à l'alcool absolu est séché dans le vide. On arrive ainsi à une poudre incolore, dont le poids est à peu près les 2 millièmes de celui de la glande employée, très soluble dans l'eau et doué d'une grande activité comme ferment digestif.

Le procédé Lœw est comme on le voit calqué en partie sur celui de Wurtz qui offre ceci de nouveau que les impuretés organiques sont enlevées au moyen du sous-acétate de plomb que l'on considérait autrefois comme un réactif précipitant les ferments solubles.

Action chimique qu'exercent les ferments solubles. — Ce qui prête surtout aux zymases quelle que soit leur nature chimique un intérêt considérable, c'est la puissance de transformation, qu'elles exercent sur une foule de composés organiques et le rôle capital qu'ils jouent dans beaucoup de réactions physiologiques. L'activité d'un ferment indirect dépend de la température, comme celle des ferments organisés. D'une manière générale, on peut dire qu'elle croît avec la température jusqu'à une certaine limite, à partir de laquelle elle subit une dépression brusque jusqu'à zéro. Cette limite varie avec la nature du ferment; elle est toujours placée au-dessous de 100°, et se trouve plus élevée que celle des ferments organisés.

L'action perturbatrice des agents chimiques sur les ferments solubles n'est pas comparable à celle exercée par eux sur les organismes ferments.

Ainsi M. P. Bert a observé que l'oxygène comprimé tue les derniers au bout d'un temps plus ou moins long, tandis que les ferments solubles ne sont pas modifiés dans leur activité. Cette expérience intéressante établit une ligne de démarcation très franche entre les deux espèces de ferments, et pourra servir à les classer, toutes les fois que les indications microscopiques laisseront quelque doute.

M. Boucharlat (*Ann. chim. phys.*, 3, XIV, p. 61), qui a particulièrement étudié l'influence des composés chimiques sur la

diastase, a observé que certaines substances qui s'opposent à la fermentation alcoolique, n'ont pas d'influence sur les effets de la diastase; tels sont : l'acide prussique, les sels mercuriels, l'alcool, l'éther, le chloroforme, certaines essences (girofle, térébenthine, citron, moutarde). Les acides citrique, tartrique, qui ne font qu'entraver légèrement la fermentation alcoolique, annulent complètement l'activité de la diastase.

M. Dumas (*Comp. rendus*, t. LXXV, p. 295) a tout spécialement expérimenté l'action du borax sur cette classe de ferments. Il a reconnu que la solution de borax coagule la levure de bière; le liquide surnageant a perdu la propriété d'intervertir le sucre de canne; elle neutralise également l'action de l'eau de levure sur la saccharose. Si l'on place de l'eau sucrée et de l'eau de levure dans un tube, et de l'eau sucrée avec de l'eau de levure et une solution de borax dans un second tube, le premier offrira bientôt des signes d'inversion, le second n'en manifestera point. Des effets analogues s'observent avec la synaptase ou émulsine, la diastase, la myrosine. Tous ces ferments cessent d'agir sur l'amygdaline, la fécule, l'acide myronique, dès le moment qu'on les met en présence d'une solution de borax. Ce sel paraît donc avoir une action spécifique pour détruire l'activité de tous les ferments solubles. Nous avons vu au contraire que la levure mise en contact pendant trois jours avec une dissolution saturée de borax peut encore provoquer la fermentation alcoolique de la dextrose. Le borax pourrait donc servir comme l'oxygène comprimé, de caractère différentiel entre les ferments solubles et les ferments organisés.

Corps ou composés chimiques sur lesquels les ferments solubles peuvent agir, genres de réactions qu'ils provoquent. — Les ferments organisés portent leur activité sur un grand nombre de composés organiques appartenant à divers groupes.

Les sucres, les acides riches en oxygène, tels que les acides malique, tartrique, citrique, l'acide lactique, l'alcool peuvent être entamés par les ferments vivants organisés. Les réactions que ces ferments leur font subir sont souvent très complexes, et ne peuvent être formulées par des équations simples, du moment que l'on veut tenir compte de tous les termes; enfin, dans la plupart des cas, on n'est pas encore parvenu à réaliser

artificiellement les conditions complexes de la décomposition des matières organiques, sous l'influence des ferments organisés.

Les ferments indirects ou solubles sont susceptibles d'agir également sur diverses classes de composés organiques, mais le genre de réaction est généralement le même. C'est une décomposition plus ou moins simple, accompagnée d'une hydratation. Le sens du dédoublement est toujours conforme à la constitution la plus immédiate du composé, et peut se réaliser, dans la plupart des cas, par des procédés chimiques où l'intervention médiata ou immédiate d'un être vivant ne peut pas être invoquée.

C'est ainsi que le ferment inversif hydrate une molécule de saccharose et la convertit en deux molécules de glycose; les acides étendus se comportent de même.

Certains ferments solubles spéciaux, tels que la synaptase ou émulsine contenue dans les amandes douces ou amères, la myrosine des moutardes blanches et noires agissent sur les glucosides naturels, c'est-à-dire sur ces composés spéciaux que l'on rencontre en si grande abondance dans les végétaux, et que l'on peut considérer comme des éthers composés de glucoses ou d'alcools polyatomiques. Le résultat est un dédoublement par hydratation en glucose et en un autre principe. Les moyens chimiques, tels que l'ébullition avec un acide ou un alcali, conduisent généralement au même but.

Les corps gras (éthers composés de la glycérine) fixent, comme on le sait depuis les beaux travaux de Chevreul, les éléments de l'eau lorsqu'on les traite par les alcalis bouillants ou par les acides, et donnent de la glycérine et un acide gras, dont la somme des poids est égale au poids du corps gras employé plus l'eau fixée dans la réaction.

Or, les travaux de M. C. Bernard ont montré que la glande pancréatique sécrète une substance azotée soluble, capable de produire, comme les alcalis bouillants, la saponification des graisses.

Il est établi que la digestion des matières albuminoïdes et leur conversion en peptones, sous l'influence du suc gastrique et du suc pancréatique, ou plutôt sous l'influence des ferments solubles contenus dans les sécrétions, ne sont que le résultat d'une hydratation et d'une décomposition, dont nous pouvons réaliser les conditions en dehors de la vie.

On peut presque prévoir, qu'en général tout phénomène de dédoublement d'un composé organique en ses parties constituantes les plus proches, n'exigeant qu'une simple fixation d'eau, trouvera dans l'organisme son ferment soluble, c'est-à-dire l'agent capable de provoquer cette décomposition. C'est ainsi que les éthers composés d'alcools mono ou polyatomiques, y compris les glucosides et les corps gras, certains acides complexes tels que les acides hippurique, glycocholique, taurocholique, etc., se scindent en deux ou plusieurs molécules plus simples.

Le même ferment soluble peut-il agir sur divers composés chimiques, en les décomposant dans des directions indiquées par leur constitution même ?

La réponse positive à cette question ne peut faire l'ombre d'un doute. Ainsi nous verrons l'émulsine ou synaptase, contenue dans les amandes, provoquer la décomposition d'une foule de principes cristallisables et définis de l'organisme végétal, tels que l'amygdaline, la salicine, l'arbutine, l'hélicine, la phlorizine, l'esculine, la daphnine.

Il est vrai que ces divers corps appartiennent à la même famille, ont les mêmes fonctions; ce sont tous des glucosides, et l'on ne doit pas être plus étonné, de voir la même force les transformer, que d'observer la saponification des corps gras neutres, sous les mêmes influences.

Dans certains cas, nous voyons un même liquide organique, une même sécrétion, telle que le suc pancréatique, porter son activité sur des principes très divers et n'offrant pas, comme dans l'exemple précédent, une analogie de constitution. Le suc pancréatique transforme, modifie et digère les substances albuminoïdes, saccharifie l'amidon et saponifie les graisses. On peut se demander si ce pouvoir spécifique multiple appartient à un seul et même principe, ou indique la présence dans le suc pancréatique de plusieurs ferments solubles distincts.

Les travaux de Cohnheim et de Danilewsky tendraient à prouver, que les propriétés physiologiques diverses du suc pancréatique sont dues à des principes spéciaux. Ces chimistes ont, en effet, pu isoler par précipitation, au moyen du phosphate de chaux ou de collodion, une substance azotée non albumi-

noïde, qui offre tous les caractères de la diastase salivaire et saccharifie énergiquement l'empois d'amidon, sans digérer les matières protéiques.

Ainsi, lorsqu'on verse la solution alcoolique étherée de collodion dans l'extrait de la glande, obtenu en broyant celle-ci avec du carbonate de magnésie et de l'eau et filtrant ensuite, on précipite avec le collodion le ferment des substances albuminoïdes, tandis que le ferment amylicé reste dans la liqueur, et peut être obtenu par l'évaporation. Le phosphate de chaux précipité au sein d'un extrait aqueux de glande pancréatique (par l'acide phosphorique et l'eau de chaux) entraîne le ferment diastasique; le ferment albuminoïde reste au contraire en solution. Si dans l'expérience faite avec le collodion, on redissout le précipité, lavé à l'eau et séché dans l'éther aqueux, on obtient deux couches; la couche inférieure et aqueuse renferme en solution le ferment albuminoïde. Quant au ferment saponifiant les graisses, il n'a pas encore été obtenu isolé et indépendant des deux autres. Ces résultats réclament pour être admis définitivement de nouvelles vérifications.

Limites d'activité d'un ferment soluble. — Certaines expériences tendent à prouver que les ferments solubles n'ont pas une activité illimitée. On sait qu'avec une dose déterminée de l'un de ces corps, on peut modifier un poids incomparablement plus grand de matière fermentescible; mais le ferment finit-il toujours par user son pouvoir et par s'épuiser? La limite d'activité n'a été déterminée que sur un petit nombre de ces ferments, et les données publiées ne permettent que des conclusions très réservées. La plupart des expériences dirigées dans cette voie ont été faites avec des ferments impurs, contenant encore des matières albuminoïdes.

Ainsi, d'après Payen et Persoz, il suffit d'une partie de diastase, pour liquéfier et saccharifier 2000 parties d'amidon; mais d'une part la diastase préparée par précipitation alcoolique, d'après le procédé de ces savants, est un mélange complexe dans lequel la véritable substance active n'entre peut-être que dans une très faible proportion. Le rapport de $\frac{1}{2000}$ deviendrait alors beaucoup plus petit. D'un autre côté, on a constaté que la

présence d'une certaine quantité de glucose gêne la transformation de la dextrine et qu'il suffit pour voir le phénomène reprendre son cours, soit d'étendre le liquide avec beaucoup d'eau, soit de faire disparaître la glucose, à mesure de sa production, en lui faisant subir une fermentation alcoolique au moyen de la levure.

Suivant M. Berthelot, le ferment inversif de la levure peut intervertir 50 ou 100 fois son poids de sucre. Nous devons faire au sujet de ces nombres les mêmes remarques qu'à propos de la diastase. Rien ne prouve donc encore définitivement que les ferments solubles perdent leur pouvoir spécifique, à mesure qu'ils l'exercent. L'opinion inverse trouve un appui dans les doses infiniment petites de ferment nécessaires pour produire un effet très matériel et très considérable. Il est de plus évident que ces dédoublements se font plutôt avec dégagement qu'avec absorption de chaleur puisque les mêmes dédoublements par hydratation s'obtiennent par l'action de l'acide sulfurique à petite dose, et que la même quantité d'acide peut agir indéfiniment. Ils n'exigent donc pas l'emploi, la consommation de forces vives et le principe de la conservation des forces ne s'oppose pas à l'idée d'une action indéfiniment prolongée.

Cette manière de voir n'exclut du reste pas le fait possible, probable, démontré dans certains cas, d'une altération progressive du ferment, à la suite de laquelle il aurait perdu son pouvoir spécifique; une semblable altération chimique peut accompagner la manifestation du pouvoir spécifique, ou se produire sans elle, d'une manière indépendante et sans en être la conséquence.

Etudes particulières des ferments solubles ou des zymases. — Après ces généralités, nous signalerons ce que chaque ferment indirect présente de spécial. Nous ne reviendrons plus, dans cette étude particulière, sur les caractères physiques, la composition et les propriétés chimiques des zymases, ni sur la manière de les préparer dans un état plus ou moins grand de pureté. Ces diverses questions ont été épuisées dans l'étude générale de ces corps, et nous nous exposerions à des redites inutiles, en reproduisant pour chaque ferment ce qui s'applique à la classe entière.

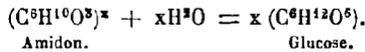
Les points qui fixeront notre attention sont : la réaction chimique, les diverses sources du ferment qui la provoquent ; les conditions spéciales qui la favorisent.

1° *Diastases.*

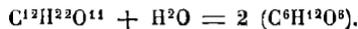
Nous donnerons le nom général de diastases aux ferments susceptibles de saccharifier l'amidon.

Si nous n'envisageons que le terme initial et les termes finals de la réaction, on arrive à cette conclusion que l'amidon fixe, sous l'influence de la diastase, les éléments de l'eau et se convertit en dextrine et en maltose.

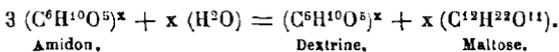
On représentait autrefois l'hydrolyse de la matière amylicée par l'équation :



On a reconnu depuis que les choses ne se passent pas aussi simplement, et que si l'hydrolyse de l'amidon provoquée par l'action de l'acide sulfurique bouillant à 5 p. 100, s'effectue d'après l'équation précédente, en donnant comme produit unique de la dextrose, il n'en est pas de même de celle qui résulte de l'influence de la diastase. Au lieu de glucose, on obtient une disaccharose, la maltose, $\text{C}^{12}\text{H}^{22}\text{O}^{11}$, isomère du sucre de canne, que la diastase ne peut plus dédoubler, mais qui par les acides minéraux, à chaud, se scinde en deux molécules de dextrose.

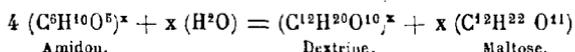


On admet généralement aujourd'hui que la saccharification de l'amidon par la diastase est complète lorsque les deux tiers du carbone de l'amidon ont été éliminés sous forme de maltose. Le phénomène ne représenterait donc pas l'équation



x est le facteur inconnu par lequel il faut multiplier la formule simple $\text{C}^6\text{H}^{10}\text{O}^5$ pour avoir le vrai poids moléculaire de l'amidon. D'après les travaux de Payen et de Schultz et Maccker la saccharification diastasique de l'amidon (empois) et de l'ami-

don soluble s'arrêterait lorsque la moitié du carbone est éliminée sous forme de maltose, on aurait donc plutôt :



M. Payen a montré qu'en faisant intervenir en même temps la levure, on peut arriver à la transformation complète de l'amidon en maltose et finalement en alcool et acide carbonique.

Cette expérience prouve que la présence de la maltose s'oppose à l'action de la diastase sur la dextrine.

Ainsi l'amidon, l'amidon soluble, la dextrine et, d'après les travaux de Cl. Bernard, la matière glycogène des tissus animaux peuvent se saccharifier sous l'influence de la diastase¹.

Les réactions diastatiques jouent un rôle très important dans l'organisme animal, et notamment dans la digestion des aliments féculents. Aussi trouvons-nous le ferment diastatique, dans l'économie animale ainsi que dans les tissus végétaux. Dès ses premiers pas dans le tube digestif, la masse alimentaire est broyée et mélangée avec un liquide, la salive, qui contient,

(1) On obtient une diastase assez active en modifiant le procédé de MM. Payen et Persoz. On délaye 1 p. d'orge germée en poudre dans 2 p. d'eau. Après une heure de macération, on exprime et l'on ajoute au liquide son volume d'alcool à 80 degrés centigrades. On filtre et on rejette le premier précipité assez volumineux. Au liquide filtré on ajoute encore un volume égal d'alcool. Il se forme alors un précipité très faible, qu'on recueille sur un filtre; on sèche le filtre avec le précipité à une douce chaleur. On obtient de cette manière un papier diastasé très actif, qui se conserve parfaitement (Musculus).

O. Lœw prépare un ferment diastatique relativement pur, en employant le procédé suivant :

L'orge germée moulu, ramollie avec un peu d'eau, est digérée pendant deux jours avec de l'alcool à 40 p. 100, en ayant soin d'agiter fréquemment. Après filtration, on précipite la liqueur avec un mélange de deux volumes d'alcool et de un volume d'éther. Le précipité, lavé à l'alcool absolu, est séché dans une cloche au-dessus de l'acide sulfurique puis traité par l'eau; on filtre et on précipite la liqueur par le sous-acétate de plomb. On filtre; le liquide filtré, débarrassé de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré et filtré à nouveau, est précipité par le mélange d'alcool et d'éther. On lave le produit séparé avec de l'alcool absolu et de l'éther, et on sèche.

On obtient ainsi une poudre blanche, douée d'une action diastatique énergique et offrant la composition et les caractères chimiques des peptones (réaction de Millon, coloration rose avec la potasse et le sulfate de cuivre; précipitation par l'acide picrique et le tannin, non coagulation par la chaleur, faible précipité avec le cyanure jaune, en présence de l'acide acétique).

comme l'a montré M. Mialhe (1845), un principe ferment analogue ou plutôt identique avec la diastase de l'orge germée, la *ptyaline*. Presque en même temps, MM. Bouchardat et Sandras démontraient l'existence dans le sucre pancréatique d'un agent analogue. Au point de vue de la saccharification des féculents, le suc pancréatique est infiniment plus énergique que la salive. L'action d'une infusion pancréatique sur l'amidon est excessivement rapide, pour ainsi dire instantanée; c'est, en effet, dans l'intestin grêle que s'accomplit la principale digestion des matières amylacées.

Ce même ferment se rencontre encore dans d'autres parties de l'organisme, partout où l'amidon, animal ou végétal, doit être rendu soluble. Ainsi dans le foie, il existe une sorte d'amidon animal, le glycogène, qui au contact du sang et du ferment est changé en sucre, pour être emporté sous cette forme dans le torrent de la circulation. A la période de la vie animale où ce changement doit s'accomplir, le ferment apparaît et l'amidon accumulé est détruit. M. Cl. Bernard (Digestion comparée chez les animaux et les végétaux, *Revue scient.*, 1873, p. 515) établit à ce sujet un parallèle très frappant entre les phénomènes chimiques de la nutrition chez les animaux et chez les végétaux. « De même dans les graines, le ferment apparaît dès les premiers temps de la germination; dans la pomme de terre, elle a lieu au printemps; alors l'agent fermentifère se montre dans le tubercule, comme il se montrait dans l'orge germée, il liquéfie l'amidon et le met en situation d'être distribué dans les points où il doit entretenir la nutrition, c'est-à-dire le développement et la vie du végétal.

« Chez la plupart des animaux, la phase de production du glycogène et la phase de sa fermentation ne sont pas aussi distinctes que chez les végétaux. Les deux phénomènes sont souvent continus et simultanés. Cependant il y a une exception à faire pour les premiers temps de la vie, surtout chez les animaux à métamorphoses. Par exemple, si nous considérons la larve de la mouche ordinaire, *musca lucilia*, l'asticot, pour l'appeler de son nom vulgaire, nous trouvons qu'elle contient une énorme quantité d'amidon. C'est un véritable sac de glycogène. Pendant ce temps, on n'y trouve pas autre chose que

du glycogène et point de trace de sucre. La raison en est que le ferment glycosique n'existe pas encore. Mais bientôt la chrysalide va succéder à la larve, et alors dans cette nouvelle phase de l'existence où se construit l'animal parfait, la réserve de glycogène devra être utilisée. Le ferment apparaît et l'amidon est liquéfié.

« Quelque chose d'analogue se manifeste chez des êtres bien plus élevés, par exemple chez les mammifères, dans ces temps de la vie embryonnaire où la nutrition est précipitée, où l'activité plastique et formative atteint son plus haut degré. La matière glycogène déposée en divers points du fœtus et de ses enveloppes entre alors en mouvement, elle est dissoute et transformée en sucre ¹.

« La digestion des féculents consiste dans leur transformation en matières solubles et assimilables, solubles afin de pouvoir circuler d'un point à l'autre de l'organisme. La digestion est donc le prologue de l'acte nutritif. Partout où des matières féculentes doivent alimenter un organisme, on retrouvera cette préparation préalable. Or, tous les organismes, dans le règne végétal aussi bien que dans le règne animal, emploient les féculents pour leur entretien, tous, par conséquent, digèrent ces substances dans le sens strict du mot. »

L'agent de ces digestions nutritives est la diastase de l'orge germée, de la salive, du suc pancréatique, etc.

L'action de la diastase sur l'amidon s'exerce à la température ordinaire et atteint son maximum d'effet à 75°. L'ébullition détruit le pouvoir spécifique de cette substance.

Il est presque inutile de rappeler, tellement le fait est connu, que les effets de la diastase sur l'amidon sont imités par l'inter-

(1) Les expériences de Cl. Bernard, Hensen, Magendie et Schiff prouvent que dans le sang vivant il existe un ferment soluble, capable de saccharifier l'amidon et le glycogène. Ce ferment se retrouve également dans le foie très frais.

On peut l'en retirer en faisant une infusion froide d'un foie qui, pour cause de maladie générale, ne produit plus de sucre et ne contient pas de glycogène, et en la précipitant par l'alcool. Le dépôt redissous dans l'eau agit sur l'amidon. Ce ferment spécial existe dans le sang des grenouilles en été et au printemps. En effet, la dextrine injectée dans leurs veines passe dans les urines sous forme de sucre.

En hiver il manque, car la dextrine apparaît dans les urines sans altération.

vention de l'acide sulfurique étendu et bouillant. Il est vrai qu'en fin de compte on obtient de la dextrose ; mais, d'après les expériences les plus récentes, la production de la dextrose serait dans ce cas aussi précédée par celle de la maltose.

L'hydrolyse acide ne diffère donc de l'hydrolyse diastasique que parce qu'elle est susceptible d'aller plus loin.

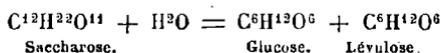
Ferment inversif. — Le sucre de canne ou saccharose $C^{12}H^{22}O^{11}$ se transforme, comme on le sait par les recherches de M. Dubrunfaut (*Ann. de chimie et de phys.* (3), XXI, 169 (1847), *Comp. rend. de l'Ac.*, XXIX, p. 51 (1849) et XLII, 901 (1856), en s'hydratant, sous l'influence des acides étendus minéraux et même organiques, en sucre déviant à gauche le plan de la lumière polarisée, et réduisant énergiquement le réactif cupropotassique de Fehling. La saccharose dévie au contraire à droite le plan de polarisation et n'a pas d'action sur la solution tartropotassique de cuivre. L'inversion se produit à froid, plus rapidement à chaud ; on l'a réalisée par la seule ébullition des solutions aqueuses de sucre de canne, par leur exposition à la lumière ou par l'intervention d'actions mécaniques. Ainsi le seul fait de pulvériser le sucre provoque la formation d'une petite quantité de sucre interverti. Le produit de l'inversion n'est pas un principe unique et simple.

Le même chimiste a prouvé que la saccharose se trouve, après l'inversion, remplacée par deux sucres de formule $C^6H^{12}O^6$, dont l'un dévie à droite le plan de la lumière polarisée, et est identique avec le sucre de raisin ou glucose ordinaire : dont l'autre, au contraire, est cristallisable, dévie à gauche le plan de polarisation ; c'est le sucre des fruits acides, *levulose* ou *fructose*.

Comme à 15° de température le pouvoir rotatoire spécifique de la glucose est égal à + 57°8, tandis que le pouvoir rotatoire spécifique de la lévulose est égal à — 106° et que les deux sucres se trouvent dans le mélange en proportions pondérables égales, on comprend que ce mélange, appelé sucre interverti, ait une action lévogyre due à l'excès de l'un des pouvoirs sur l'autre.

Le sucre interverti a un pouvoir rotatoire gauche de 25°, à 15° de température.

La formation des deux sucres (glucose et lévulose) se formule aisément par l'équation suivante :



Elle est confirmée par le fait, que sous l'influence de la chaleur la saccharose se change en glucose et lévulosane (lévulose moins de l'eau) qui elle-même reproduit la lévulose sous l'influence des acides.

Voici comment M. Dubrunfaut opère la séparation de ces deux corps.

On dissout 10 grammes de sucre interverti dans 100 grammes d'eau¹, on traite le tout par 6 grammes de chaux hydratée. Le mélange d'abord fluide se prend en masse au bout de peu de temps ; c'est le lévulosate de chaux qui se sépare en cristallisant, tandis que le glucosate reste dans les eaux mères. Sans trop tarder, on exprime la masse et l'on décompose séparément par l'acide carbonique la partie solide et la partie liquide, après les avoir dissoutes ou étendues avec une quantité convenable d'eau ; la première fournit une solution de lévulose, la seconde de la glucose. On peut aussi arriver à une séparation, ou tout au moins isoler la lévulose exempte de glucose, en arrêtant une fermentation de sucre de canne à peu près à la moitié de sa marche. La glucose fermentant plus facilement que la lévulose, c'est cette dernière qui se retrouve seule.

Sans insister davantage sur toutes ces preuves d'un véritable dédoublement, qui ne laissent aucun doute sur la nature de la réaction, arrivons au ferment.

Cette inversion, ce dédoublement par hydratation de la saccharose se produit avant toute fermentation alcoolique. Le sucre de canne ne peut être décomposé en alcool et en acide carbonique qu'après avoir été interverti, mais la levure de bière se charge elle-même de cette opération. On avait d'abord attribué le phénomène à l'acidité de la levure, et M. Pasteur pensait qu'il était la conséquence de la présence de l'acide succinique.

(1) D'après des expériences faites à mon laboratoire, la proportion d'eau indiquée par Dubrunfaut est trop forte pour permettre la cristallisation du lévulosate de chaux. On réussit mieux en employant quatre parties d'eau pour une partie de sucre interverti.

M. Berthelot montra le premier, que l'inversion du sucre de canne par la levure est indépendante des conditions d'acidité et de neutralité, qu'elle est due à l'intervention d'un ferment soluble spécial, contenu dans les cellules de levure. Ce principe se retrouve dans l'eau de lavage de la levure, et agit énergiquement sur le sucre, même dans un liquide neutralisé.

Les propriétés de ce ferment soluble, en dehors de son activité propre, le rapprochent de tous les corps de cette classe. J'ai constaté qu'il était facile de le séparer entièrement des matières albuminoïdes qui l'accompagnent, en suivant les méthodes de purification indiquées plus haut¹.

La saccharose, pas plus que la matière amylacée, n'est susceptible d'être absorbée et assimilée sous sa forme initiale, bien qu'elle présente par rapport à celle-ci l'avantage de la solubilité. Comme la fécule, elle doit être digérée, et les produits de cette digestion sont la glucose et la lévulose². M. Cl. Bernard a démontré l'existence dans le suc intestinal d'un ferment inversif soluble, semblable à celui de la levure; il forme un des éléments utiles les plus importants de cette sécrétion. Il suffit, pour le prouver, d'injecter une solution de saccharose pure (ne réduisant pas la liqueur de Fehling) dans une anse intestinale limitée entre deux ligatures, ou de la mettre en contact avec une infusion de membrane muqueuse intestinale, pour voir au bout de très peu de temps le sucre réduire l'oxyde de cuivre. On constate, au moyen du saccharimètre, que la déviation de ce sucre interverti physiologiquement est la même que celle du sucre interverti chimiquement. M. Cl. Bernard a démontré l'existence du ferment inversif chez les chiens, les lapins, les oiseaux, les grenouilles. M. Balbiani en a prouvé l'existence dans le tube digestif des vers à soie.

(1) M. Béchamp a retrouvé le ferment inversif (zymase) dans l'eau de lavage de la levure altérée spontanément par inanition. Dans ces conditions, j'ai reconnu moi-même que l'on obtient un liquide excessivement actif et qui produit l'inversion d'une manière presque instantanée.

(2) Le sucre de canne est, selon l'expression de M. Cl. Bernard, comme une matière inerte ou indifférente qui circulerait impunément dans le sang ou dans la sève, sans que les éléments anatomiques puissent jamais le détourner et se l'approprier. Il cite comme preuve, qu'en injectant dans les veines ou dans le tissu cellulaire d'un animal, du sucre de canne, celui-ci se retrouve poids pour poids dans l'excrétion urinaire, et traverse par conséquent l'économie, sans être modifié ou assimilé.

Rapprochant les faits de la digestion de la saccharose chez les animaux des transformations analogues observées dans l'économie végétale, comme il l'avait déjà fait pour la saccharification de l'amidon, M. Bernard montre qu'en général le ferment inversif se trouve dans tous les points de l'économie vivante et dans toutes les circonstances où la saccharose doit être utilisée pour la nutrition. La canne à sucre qui fructifie, la betterave qui monte en graine transforment par inversion le sucre interposé dans leur tissus. L'agent est toujours exactement le même : un ferment inversif, M. Bernard l'a retiré de la betterave en évolution, comme M. Berthelot l'avait extrait de la levure. La fermentation alcoolique est, dit notre illustre physiologiste, un phénomène corrélatif de la nutrition d'un organisme, la levure de bière, *torula cerevisia*. Or la saccharose est impropre à la nutrition de cet être microscopique, comme elle est impropre à la nutrition des êtres plus élevés. Il est donc nécessaire que la saccharose soit modifiée, transformée en glucose, avant qu'elle puisse servir aux échanges vitaux de l'organe ferment. La cellule de levure, en opérant cette transformation, travaille en vue de son propre développement. Elle digère pour elle-même la saccharose; l'interversion est encore ici un phénomène digestif de la même nature que ceux que nous venons d'examiner. « De même que la fécule, la saccharose, qui existe à l'état de réserve dans les tissus d'un grand nombre de végétaux, est impropre à participer au mouvement nutritif de la plante. Et c'est pour cette raison que ce sucre peut s'amasser et s'accumuler, comme il arrive dans la racine de betterave et dans la tige de canne à sucre. Le sucre y forme une réserve qui attend le moment d'entrer en action. Ce moment vient pour la betterave, lorsqu'elle doit bourgeonner, fleurir et fructifier : alors le sucre diminue progressivement et disparaît peu après du tissu et de la tige de la betterave, en se changeant en glycose. Les feuilles contiennent à ce moment exclusivement de la glycose : la racine se dégarnit et les épargnes de sucres qu'elle renfermait vont se distribuer dans la tige pour servir à la floraison et à la fructification ; mais cela même n'est possible qu'à la condition d'une transformation préalable, qui change la nature chimique et la composition de la

saccharose, et la fait passer à l'état de glycose. C'est là encore une véritable digestion. La betterave doit donc digérer son sucre, comme la levure, comme les animaux. »

Je n'ai pu résister au plaisir de donner la parole à notre grand savant. Rien ne peut, en effet, fournir une idée plus nette de l'importance du sujet que nous traitons en ce moment, que l'ampleur de vues avec laquelle ces phénomènes sont rattachés à l'ensemble du grand acte de la nutrition des êtres vivants. Il ne s'agit donc pas ici de réactions chimiques isolées, intéressantes par l'obscurité qui règne encore sur la cause qui les provoque, mais de transformations qui jouent un rôle capital dans les actes de la vie et de la nutrition, et dont la grande généralité est mise en lumière de la façon la plus complète.

Ferment émulsif et saponifiant. — M. Cl. Bernard a montré que le suc pancréatique, seul parmi tous les liquides sécrétés dans le tube digestif, possède la remarquable propriété d'émulsionner et ensuite de saponifier les matières grasses neutres. Il constitue donc le véritable agent de la digestion des substances grasses ou des glycérides naturelles.

L'émulsion qui précède la saponification est plutôt une transformation physique que chimique. C'est la division mécanique du liquide gras qui se trouve séparé en un nombre infini de petits globules, se maintenant grâce à une constitution moléculaire caractéristique. Au microscope on voit une multitude de granulations nageant dans le liquide et animées du mouvement brownien. L'émulsion est la condition de l'absorption des corps gras.

Parmi les sécrétions organiques du canal digestif le suc pancréatique peut seul fournir avec les huiles une émulsion complète et persistante. M. Bernard attribue ce pouvoir émulsif à un ferment particulier, soluble. Il admet que l'émulsion persistante de la graisse dans le lait est due à la présence du ferment émulsif et que ce liquide nutritif renferme la matière grasse toute préparée pour l'absorption.

L'émulsion par le suc pancréatique ou l'extrait de la glande est instantanée. Vient ensuite un phénomène plus lent : c'est la saponification, c'est-à-dire le dédoublement par hydratation des trimargarine, trioléine, tristéarine, etc., en glycérine et

acide gras. Ce dédoublement ne se produit pas toujours dans l'intestin. L'émulsion pénètre dans les vaisseaux chylifères avec son caractère lactescent et ce n'est que plus loin, dans les divers tissus, que la saponification a lieu. On a pensé que la saponification provoquée par le suc pancréatique était due à l'alcalinité du liquide. M. Bernard lève cette objection en montrant : 1° que d'autres sécrétions tout aussi alcalines sont inactives; 2° que le tissu du pancréas, qui n'a pas de réaction alcaline, produit rapidement des phénomènes du même ordre; 3° enfin par l'ébullition on détruit le pouvoir spécifique du suc sans affaiblir son alcalinité. Le ferment émulsif peut être isolé en mélange avec des matières albuminoïdes et deux autres ferments indirects dont nous avons déjà parlé (diastase pancréatique, ferment digestif des albuminoïdes). Le ferment émulsif possède la propriété de la caséine, de se précipiter à froid par le sulfate de magnésie. Il est coagulé par la chaleur.

Dans les végétaux on retrouve des corps de même ordre. Vient-on à broyer une graine oléagineuse avec de l'eau, on obtient une émulsion dans laquelle on voit bientôt apparaître de la glycérine et des acides gras libres. Pendant la germination, le ferment émulsif et saponifiant, mis avec la graisse en présence de l'eau, lui fait subir une véritable digestion et la rend assimilable.

L'émulsine des amandes possède une propriété analogue; nous verrons plus loin qu'elle agit sur certains glucosides. Cette action multiple tient-elle à un mélange de plusieurs ferments ou à une activité variable du même corps suivant les éléments mis en sa présence? Nous ne pouvons nous prononcer à cet égard. Kölliker et Müller ont montré que le suc pancréatique peut effectuer la décomposition de l'amygdaline. C'est là une indication précieuse.

Peut-être, lorsqu'on aura réussi à isoler pur le ferment émulsif du suc pancréatique, lui trouvera-t-on les mêmes propriétés qu'à l'émulsine ou synastase.

Pour terminer ce qui a trait à la fermentation des glycérides nous n'avons plus qu'à fixer les idées sur le genre de réactions qui s'opèrent, en donnant les équations du dédoublement, telles qu'elles résultent des travaux de M. Berthelot.

sance au début se dédouble par une action plus prolongée du ferment en une matière insoluble qui n'est plus modifiée ultérieurement par le suc gastrique ou la pepsine, matière à laquelle il donne le nom de *parapeptone* et en divers principes solubles appelés peptones a, b, o, y. D'après ces vues, la digestion stomacale serait le résultat d'une décomposition assez complexe des albuminoïdes par voie d'hydrolyse. Les autres matières albuminoïdes se comporteraient, suivant Meissner, d'une façon analogue.

Le suc gastrique peut être remplacé par de la pepsine commerciale de bonne qualité que l'on fait agir sur la fibrine délayée dans l'eau contenant 2 millièmes d'acide chlorhydrique, en maintenant à l'étuve à 35°. La fibrine se gonfle rapidement, se gélatinise et finit par se dissoudre entièrement, à l'exception d'un faible résidu floconneux.

Au bout de quarante-huit heures, la transformation est complète et le liquide ne précipite plus par l'acide azotique ni par le ferrocyanure potassique en liqueur acidulée à l'acide acétique. L'acide chlorhydrique employé est éliminé par un léger excès d'oxyde d'argent. Le liquide ne contient alors plus que les produits de transformation des matières albuminoïdes employées et les sels minéraux qui accompagnaient celles-ci à moins qu'on n'ait préalablement éliminé les sels par voie de dialyse.

On désigne sous le nom de peptone l'ensemble des corps nouveaux formés. En comparant la composition de la peptone à celle de la substance d'origine, on ne trouve que des différences faibles, un peu moins de carbone et d'azote. Ainsi la fibrine et sa peptone donnent à l'analyse élémentaire :

| | Fibrine. | Fibrinpeptone. |
|--------------------|----------|----------------|
| Carbone. | 52,68 | 51,43 à 49,69 |
| Hydrogène. | 6,83 | 7,05 à 6,96 |
| Azote. | 16,91 | 16,56 à 15,14 |
| Soufre | 1,10 | 1,10 |

Ces résultats s'accordent avec l'idée que les peptones sont des dérivés de l'hydratation des matières albuminoïdes, idée confirmée par l'observation faite par Danilewski d'une augmen-

tation de poids (5,7 à 6,7 p. 100) dans la transformation, ainsi que par les travaux de Henninger qui a réussi à convertir les peptones en substances albuminoïdes par l'action d'agents déshydratants.

Les propeptones de divers auteurs allemands ne sont que des termes intermédiaires entre la syntonine et la peptone vraie.

J'ai dirigé quelques expériences en vue de rechercher si la fibrine peptone formée dans les conditions indiquées plus haut, est ou non un principe immédiat unique. La digestion a été effectuée avec de la fibrine de cheval, bien lavée à l'eau et exprimée; elle est traitée encore humide (par portions de 350 grammes représentant 75^{gr}, 5 de produit sec) par 2 litres d'eau distillée additionnée de 12 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur et concentré, à la température de 40°. Le produit se gonfle aussitôt, devient transparent et gélatineux, en absorbant la totalité de l'eau acidulée.

On ajoute ensuite, en remuant, 7^{gr}, 5 de pepsine extractive à 100 p. 100, préalablement dissoute dans 50 centimètres cubes d'eau tiède. En moins d'une minute, la masse gélatineuse se liquéfie complètement.

Le tout est versé dans un flacon et additionné de 10 centimètres cubes d'acide prussique à 20 p. 100, afin d'enrayer les altérations microbiennes et l'on maintient pendant cinq jours à l'étuve à 49°. On obtient ainsi un liquide limpide, presque incolore, au fond duquel s'est réuni un dépôt floconneux, léger, de couleur brunâtre, dont le poids ne dépasse pas 4,5 p. 100 de fibrine sèche.

Ce dépôt est formé de graisse, de nucléine, d'hématine et de matières minérales; nous n'avons pas à en tenir compte.

La solution présente tous les caractères attribués à la peptone. Elle ne précipite ni par l'acide nitrique, ni par l'acide acétique et le cyanure jaune; elle donne la réaction du biuret, précipite par le réactif de Millon, l'acide phosphotungstique, l'acide phosphomolybdique, le tanin, l'iode de potassium ioduré, l'eau de brome, l'acide pierique, l'acétate de plomb ammoniacal.

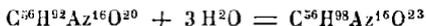
On élimine l'acide chlorhydrique ajouté au début au moyen d'une dose d'oxyde d'argent pur strictement équivalente.

Lorsque sous l'influence de la chaleur d'un bain-marie le chlorure d'argent s'est réuni au fond de la capsule et que le liquide s'est éclairci, on filtre et on lave; le liquide filtré est neutre. On l'amène par évaporation au bain-marie à consistance sirupeuse, puis on évapore à sec dans le vide sec. La masse friable ainsi obtenue est pulvérisée et abandonnée pendant quelques jours dans le vide sec et pesée. Le poids trouvé pour 75^{gr},5 de fibrine de cheval, nombre dont il faut retrancher le poids (3^{gr},5) de résidu insoluble, était de 81^{gr},157. En soustrayant de là 6^{gr},157 (de matière sèche correspondant aux 7^{gr},5 de la pepsine extractive employée, on peut calculer que 100 grammes de fibrine sèche digestible entièrement donnent 103^{gr},97 de peptone soluble.

La fibrine peptone obtenue a donné à l'analyse, déduction faite des matières minérales :

| | |
|--------------------|-------|
| Carbone. | 49,16 |
| Hydrogène. | 7,09 |
| Azote | 16,33 |

D'après cela, l'hydratation de la fibrine peut se représenter par l'équation (non moléculaire).

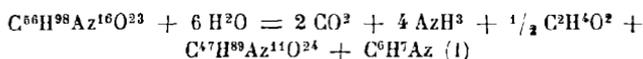


Il résulte de là que la fibrine peptone, prise dans son ensemble, ne diffère de la fibrine initiale que par de l'eau en plus. L'acide carbonique et l'azote ammoniacal que donnent les matières albuminoïdes par hydratation sous l'influence de la baryte, n'apparaissent en aucune façon pendant cette première phase physiologique de transformation. Le groupement uréique que renferme la fibrine subsiste en entier dans la matière après peptonisation.

La peptone chauffée avec la baryte hydratée à 300° perd, comme les albuminoïdes en général, le quart de son azote sous forme d'ammoniaque, en même temps qu'il se sépare de l'acide acétique et une dose d'acide carbonique qui est à l'ammoniaque devenue libre dans le rapport de $CO^2 : 2 AzH^3$. Le résidu fixe organique provenant de l'hydratation barytique de la fibrine peptone a donné, à l'analyse élémentaire, comme

celle provenant de l'albumine, des nombres conduisant à une formule très voisine de l'expression générale $C^a H^{2a} Az^2 O^4$.

L'hydratation de la fibrine peptone peut être formulée par l'expression suivante (algébrique et non moléculaire) :



Résidu fixe de fibrinpeptone.

Le résidu fixe est un mélange de divers composés amidés, pour la plupart cristallisables, de même nature que ceux obtenus avec la fibrine elle-même.

Il reste à voir maintenant si ce que nous avons appelé fibrinpeptone est un principe immédiat défini ou un mélange.

Si, après avoir concentré la solution de peptone au bain-marie à consistance demi-sirupeuse, après élimination préalable de l'acide chlorhydrique, on ajoute des quantités croissantes d'alcool à 94 p. 100, on obtient des précipités fractionnés de plus en plus solubles dans l'alcool aqueux et dont l'ensemble représente environ les $\frac{4}{5}$ de la peptone totale. Le dernier cinquième reste en solution lorsqu'on a ajouté assez d'alcool pour obtenir un mélange contenant 85 à 90 p. 100 d'alcool pur.

Ces divers précipités n'offrent pas exactement la même composition élémentaire. On peut les envisager comme des termes ou des mélanges homologues. Ainsi, le précipité qui se forme au début, après addition au liquide de deux fois son volume d'alcool donne des nombres qui peuvent se traduire par la formule $C^{25} H^{51} Az^8 O^3$, tandis que l'ensemble de la partie précipitée correspond à une formule homologue plus élevée $C^{31} H^{55} Az^8 O^{13}$. Ces résultats montrent déjà que l'on a affaire à un mélange.

Si à une solution de fibrine peptone chlorhydrique on ajoute une solution d'acide phosphotungstique pur, en excès, on ne précipite que la moitié de la masse organique.

Le précipité chauffé au sein de son eau mère se réunit sous forme d'une masse empastique malléable à chaud, cassante à

(1) Le groupement C^6H^7Az correspond aux produits volatils, de nature pyrrolique et pyridique, qui prennent toujours naissance dans ce genre de réaction et qui échappent aux déterminations quantitatives.

En tenant compte du carbone et de l'azote contenus dans les termes dosés de la décomposition, on constate, en effet, une perte de 5 p. 100 de carbone environ et de 1 p. 100 d'azote.

froid. Au moyen de la baryte, on peut éliminer l'acide phosphotungstique sous forme de sel barytique insoluble et obtenir séparément la partie précipitable et la partie non précipitable par le réactif phosphotungstique.

La composition de la partie précipitée peut être très approximativement représentée par la formule $C^{77} H^{144} Az^{22} O^{28}$; celle de la partie non précipitée répond à la formule $C^{80} H^{136} Az^{20} O^{40}$.

La partie précipitable par l'acide phosphotungstique offre entre l'oxygène et l'azote un rapport voisin de 1,27 à 1; entre le carbone et l'hydrogène un rapport voisin de 1 à 1,9; sous l'influence de l'hydrate de baryte à 200°, elle perd $1/3.66$ de son azote sous forme d'ammoniaque et une quantité correspondante d'acide carbonique (1 CO^2 pour 2 AzH^3). Le résidu fixe et amidé de ce traitement barylique est de la forme $p (C^n H^{2n} Az^2 O^4)$, n ayant une valeur très voisine de 9.

Le produit non précipitable par l'acide phosphotungstique offre entre l'oxygène et l'azote le rapport 2 à 1.

Le résidu fixe du traitement barytique à 200° est de la forme $p (C^n H^{2n} Az^2 O^4)$, n étant à peu près égal à 9.

De tout cela on peut conclure que la fibrine peptone doit être envisagée comme un mélange dédoublable par l'acide phosphotungstique en une partie précipitable moins riche qu'elle en oxygène et en une partie non précipitable plus oxygénée, jouant par rapport à la première le rôle d'un alcool.

La fibrine elle-même serait une espèce d'éther composé, saponifiable par l'influence de la pepsine et se scindant en fixant de l'eau en ces deux termes opposés.

L'action digestive qu'exerce le suc pancréatique sur les albuminoïdes est plus énergique et plus efficace que celle du suc gastrique. Elle n'exige pas des conditions aussi limitées. La trypsine ou ferment du pancréas peut agir en liqueur alcaline et en liqueur acide. Les transformations du composé protéique sont aussi poussées plus loin qu'avec la pepsine et l'on voit apparaître des composés amidés (leucine, tyrosine, etc.), qui font défaut dans la digestion gastrique.

Les idées de Cl. Bernard sur l'analogie des fonctions dans les deux règnes ont conduit ce savant à rechercher la digestion protéique dans les végétaux.

Les phénomènes qui se passent dans la levure conservée à jeun (sans sucre) et à l'abri de l'oxygène, phénomène que nous avons étudié en détail plus haut, peuvent être envisagés comme la preuve d'une véritable digestion des matières protéiques formant le protoplasma de la cellule.

Il en est de même des transformations chimiques continues qui se passent dans le protoplasma cellulaire en général.

Nous avons déjà dit que le latex du carica papaya contient en abondance un ferment soluble, la papaïne, étudiée par MM. Wurtz et Bouchut. La papaïne est une zymase peptogène très active, comparable à la pepsine et à la trypsine dont elle partage à la fois les caractères. Elle digère les albuminoïdes en solutions alcalines, acides et neutres, en produisant de véritables peptones. Les antiseptiques actifs sur les ferments figurés, tels que l'acide prussique, le phénol, n'entravent pas son action.

Nous avons cru devoir nous étendre quelque peu sur l'histoire des fermentations indirectes intéressant les grands phénomènes biologiques de la nutrition. Nous serons plus sobres en parlant des autres réactions du même genre, d'autant plus que ce qu'il y a d'essentiel à en dire se trouve mentionné dans les généralités.

Fermentation des glucosides. — Le ferment, qui agit le plus généralement et le plus énergiquement sur ces corps, se trouve dans les amandes douces et amères; c'est la synaptase ou émulsine.

Elle agit le mieux entre 30 et 40°, mais supporte toutefois une élévation de température allant jusqu'à 80°, sans perdre son pouvoir spécifique.

Les acides et les alcalis n'entravent pas, à petites doses, l'action de l'émulsine. Ce n'est qu'après avoir subi une putréfaction assez avancée que l'émulsine perd ses qualités. Son intervention peut être suppléée, jusqu'à un certain point, par celle d'autres principes d'origine animale. Les substances toxiques pour les plantes et pour la levure n'ont pas d'influence sur les réactions provoquées par la synastase.

Tous ces faits ne laissent aucun doute sur la nature de l'émulsine; c'est un ferment soluble de la famille de la diastase.

Il nous suffira de donner une courte énumération des réactions auxquelles elle préside. (Voir pour plus de détails les ouvrages de chimie.)

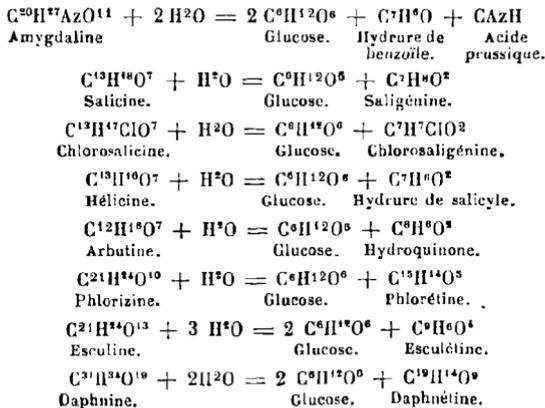
1° Décomposition de l'amygdaline en glucose, acide cyanhydrique et hydrure de benzoïle. Cette réaction explique ce qui se passe lorsqu'on broie des amandes amères avec de l'eau. L'amande amère contient à la fois de l'amygdaline et de l'émulsine. Ces deux corps sont dans des cellules distinctes, et ne peuvent réagir, que lorsqu'une action mécanique et une dissolution les mettent en contact intime.

Cette action peut se produire dans l'organisme ; lorsqu'on injecte, par exemple, dans les veines d'un animal, de l'amygdaline dissoute et de l'émulsine, le sujet meurt avec les symptômes d'un empoisonnement prussique ;

- 2° Décomposition de la salicine en glucose et saligénine ;
- 3° De la chlorosalicine en glucose et chlorosaligénine ;
- 4° De l'hélicine en glucose et hydrure de salicyle ;
- 5° De l'arbutine en glucose et hydroquinone ;
- 6° De la phlorizine en glucose et phlorétine ;
- 7° De l'esculine en glucose et esculétine ;
- 8° De la daphnine en glucose et daphnéline ¹.

Tout récemment on a réalisé la production artificielle de la vanilline, principe odorant de la vanille, en dédoublant par la synaptase un glucoside contenu dans les conifères, la conifé-

(1) Ces dédoublements ont lieu d'après les équations :



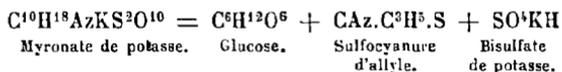
rine, et en oxydant le principe formé dans ce dédoublement.

L'émulsine, comme la plupart des ferments solubles, peut être remplacée, vis-à-vis des glucosides, par des agents purement chimiques. Ainsi par l'ébullition avec les acides étendus on arrive au même résultat, dans la plupart des cas.

Un phénomène chimique très intéressant, du même ordre que celui que nous avons observé dans les amandes amères, se retrouve dans la farine de graine de moutarde délayée dans l'eau. Ce mélange, qui constitue le sinapisme ordinaire, développe, comme on le sait, une odeur forte et un produit de saveur brûlante. Les propriétés du sinapisme sont dues surtout à la présence de l'essence de moutarde ou sulfocyanure d'allyle. Mais cette essence, pas plus que l'essence d'amandes amères, n'existe toute formée dans la graine; elle prend naissance aux dépens d'un composé spécial, contenu dans la moutarde noire, sous l'influence d'un ferment soluble, la myrosine, renfermé dans la moutarde blanche ou noire et en général dans les graines de crucifères.

Le produit initial a pu être isolé sous forme de cristaux; c'est le sel potassique d'un acide complexe, l'acide myronique. Quant au ferment nous n'avons rien à en dire de spécial; on peut l'isoler des graines de crucifères ou de moutarde blanche exemptes de myronate de potasse par les méthodes générales déjà décrites; ses caractères physiques ainsi que sa composition sont ceux de tous les ferments solubles.

Le myronate de potasse $C^{10}H^{18}AzKS^2O^{10}$, dont la présence caractérise la moutarde noire, se décompose sous l'influence de la myrosine en glucose, sulfocyanure d'allyle et bisulfate de potassium, comme le montre l'équation suivante :



On extrait le myronate de potasse de la manière suivante (procédé de M. Bussy modifié par MM. Will et Körner). Un kilogramme de semence de moutarde noire pulvérisée est bouilli avec 1 litre 5 d'alcool à 82 p. 100, jusqu'à distillation de un quart de litre d'alcool. On exprime à chaud et on répète la même opération avec le résidu. Celui-ci est ensuite exprimé, séché

à 100°, pulvérisé et digéré pendant douze heures avec trois parties d'eau froide; on exprime, et on reprend le résidu par deux parties d'eau froide. Les solutions aqueuses sont évaporées, après addition d'un peu de carbonate de baryte, jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est épuisé par l'alcool bouillant à 85° p. 100 (1 litre à 1 litre 5); on filtre, on distille et on abandonne à cristallisation dans des assiettes plates.

Nous citerons encore, sans insister, d'autres fermentations analogues.

1° La racine fraîche de garance contient l'alizarine et les autres matières colorantes, insolubles par elles-mêmes, sous forme de glucosides solubles (rubian, acide rubérythrique). A côté de ces principes, cette même racine contient un ferment soluble (l'érythrozyme), qui ne tarde pas à opérer le dédoublement de ces glucosides, dès que la poudre de garance est délayée avec de l'eau. Sous son influence, les matières colorantes, d'abord dissoutes, se séparent en même temps qu'il se forme du sucre. M. E. Kopp est parvenu à enrayer l'action du ferment, par une addition convenable d'acide sulfureux; il a fondé sur ce fait un procédé très intéressant d'extraction des matières colorantes de la garance.

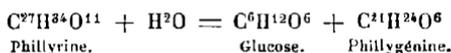
2° Les infusions de graines de nerprun subissent également, lorsqu'on les conserve quelque temps, une fermentation qui dédouble les glucosides colorants solubles contenus dans cette infusion ou dans cette décoction; il se forme de la glucose et un pigment insoluble. L'ébullition avec les acides réalise la même transformation.

3° Les acides biliaires, acides taurocholique et glycocholique, sont susceptibles, comme on le sait depuis les travaux de Strecker, de se dédoubler par hydratation en taurine et acide cholalique ou en glycocolle et acide cholalique. Il suffit, pour atteindre ce résultat, d'une ébullition suffisamment prolongée avec de la baryte. Le même effet de décomposition s'observe lorsque la bile est abandonnée à elle-même, à l'altération spontanée. L'acide taurocholique se transforme plus facilement que son voisin. Cette facile altération, due à l'intervention des ferments, a obscurci pendant longtemps l'histoire chimique de la bile.

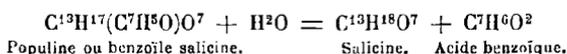
4° La décomposition de l'acide hippurique, dans l'urine des

herbivores, en acide benzoïque et glycoçolle, est un phénomène du même ordre.

5° Il en est ainsi de deux glucosides végétaux : la *phillyrine*, contenue dans l'écorce du *phillyrea latifolia*, et la *populine*, de l'écorce du tremble. Ces substances ne sont pas attaquées par la levure de bière ni par l'émulsine ; mais lorsqu'on les place dans les conditions de la fermentation lactique, elles se décomposent, l'une en glucose et phillygénine,



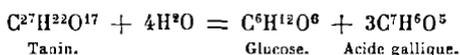
l'autre en glucose, saligénine et acide benzoïque.



La salicine, formée d'abord, se dédouble à son tour en glucose et saligénine.

6° Les infusions de noix de galle, abandonnées à elles-mêmes, fermentent ; le tanin disparaît et se trouve remplacé par les acides gallique, ellagique et de la glucose.

Strecker considérant le tanin comme un glucoside, représentait sa décomposition par l'équation :



Suivant des recherches plus récentes, le tanin serait l'anhydride de l'acide gallique. Dans l'un et l'autre cas il y a hydratation et dédoublement.

7° Suivant M. Fremy, la pectose est accompagnée, dans les tissus végétaux où elle se trouve, d'un ferment tantôt soluble, tantôt insoluble, la pectase, qui possède la propriété de transformer la pectose et la pectine, successivement en acides pectique et métapectique.

La fermentation pectique joue un rôle important dans la conversion des fruits mûrs en fruits blets. Elle trouve aussi son application dans la confection des gelées végétales. En effet, la transformation des suc naturels des fruits en gelées résulte de la métamorphose de la pectine, contenue dans ces suc, en acides pectosique et pectique. Si donc un suc naturel, celui du

groseillier, par exemple, ne contient pas de pectose, il faut y ajouter un autre suc ou une pulpe renfermant la pectose, sous forme soluble ou insoluble, en se rappelant que l'ébullition en coagulant le ferment, le rend inactif. La fermentation pectique s'effectue vers 33° (Fremy, *Ann. chim. phys.* (3), XXIV, p. 1).

Beaucoup d'organismes élémentaires (microbes) élaborent pendant leur développement et leur nutrition physiologique de véritables diastases ou zymases formées aux dépens des matières albuminoïdes du milieu au sein duquel ils vivent.

Quelques-unes de ces diastases constituent pour l'organisme animal de véritables poisons (toxines, toxalbumines, etc.) auxquels il faut attribuer les symptômes (fièvre, élévation de température, etc.), observés dans certaines maladies.

Ce point de vue a déjà fait l'objet de nombreux et d'importants travaux, tant en France (Institut Pasteur), qu'à l'étranger.

Nous n'insisterons pas davantage sur cette question, malgré sa haute importance. Elle est aujourd'hui assez vaste pour faire l'objet d'un ouvrage spécial et en allant au delà de cette simple indication, nous sortirions des limites de ce traité.

CHAPITRE XVI

APPLICATIONS DES TRAVAUX ET DES IDÉES DE PASTEUR

Nous avons déjà vu au sujet de la fermentation acétique, quelles conséquences M. Pasteur a tirées de ses observations, pour régulariser et faciliter la transformation en vinaigre des liquides fermentés.

La fabrication de la bière peut aussi, d'après ce savant, tirer un parti avantageux de l'étude raisonnée des fermentations et des ferments.

Si au moût de bière on ajoute de la levure de bière ordinaire, en grande partie formée de cellules de *saccharomyces cerevisiæ* avec très peu d'organismes étrangers, les conditions étant les plus favorables au développement de la levure, elle se multipliera à peu près seule, en provoquant une fermentation alcoolique franche. Comme la dose de levure initiale se trouve après la fermentation multipliée par 6 ou 7, en supposant que l'extérieur n'ait rien fourni en fait de germes étrangers, on conçoit que la nouvelle levure sera plus pure que la première. En continuant ainsi avec celle-ci de nouvelles fermentations de moûts de bière, on arrivera, par une espèce de sélection, semblable à celle décrite par M. Raulin à propos de *l'aspergillus niger*, à une levure très pure, exempte de tout organisme étranger¹.

(1) A ce point de vue (obtention d'une culture de levure pure), la méthode de M. Hausen est plus sûre. Elle consiste à prendre comme point de départ de la culture une cellule unique, en empêchant d'une façon radicale l'introduction dans le milieu de germes étrangers.

Ce résultat une fois obtenu, il suffira de maintenir l'intégrité, la pureté du ferment, en préservant du contact de l'air, les cuves de fermentation de la bière et en opérant en vase fermé et non dans des cuves ouvertes. Le principe de la nouvelle méthode de M. Pasteur, dans le détail de laquelle nous ne pouvons entrer, repose donc sur l'emploi d'une levure pure et sur une fermentation à l'abri de l'air, pour éviter l'introduction d'organismes étrangers qui, en se développant ultérieurement, provoqueraient des altérations d'un autre ordre (lactique, etc.).

A cet effet, le moût, après cuisson, est dirigé bouillant dans des vases en bois ou en métal, et refroidi dans un courant de gaz carbonique, ou d'air purifié de ferments, puis mis en levain.

La bière, après la première fermentation, est soutirée dans des fûts où elle achève de se faire et de s'éclaircir. Le moût peut être transporté aux plus grandes distances, et la bière a, selon M. Pasteur, des qualités supérieures de goût et de conservation.

Conservation du vin. — M. Pasteur a fait une étude attentive et très développée des altérations diverses que peuvent éprouver les vins, à différentes phases de leur conservation. Ses observations sont consignées dans un très bel ouvrage publié sur ce sujet. Nous ne pouvons ici qu'indiquer les conséquences les plus générales de l'auteur.

Ce savant a été conduit par ses longues et belles recherches à attribuer les altérations des vins au développement de ferments vivants spéciaux.

A chaque ordre d'altération, à chaque maladie correspond un organisme spécial. Les germes de ces ferments se trouvent dans le moût de raisin fermenté et peuvent se développer lorsque les conditions deviennent favorables.

Pour éviter leur développement et permettre au vin de se conserver indéfiniment, sans aucune altération, il suffit d'élever la température momentanément, jusque vers 60° C. Les germes sont tués à cette température relativement basse, à cause de la présence de l'alcool (8 à 10 p. 100).

Le chauffage des vins avait déjà été proposé comme moyen de conservation par M. Vergnette de la Motte, mais c'est à

M. Pasteur que l'on doit l'explication rationnelle de ce procédé. Il a également mieux précisé les conditions de l'opération.

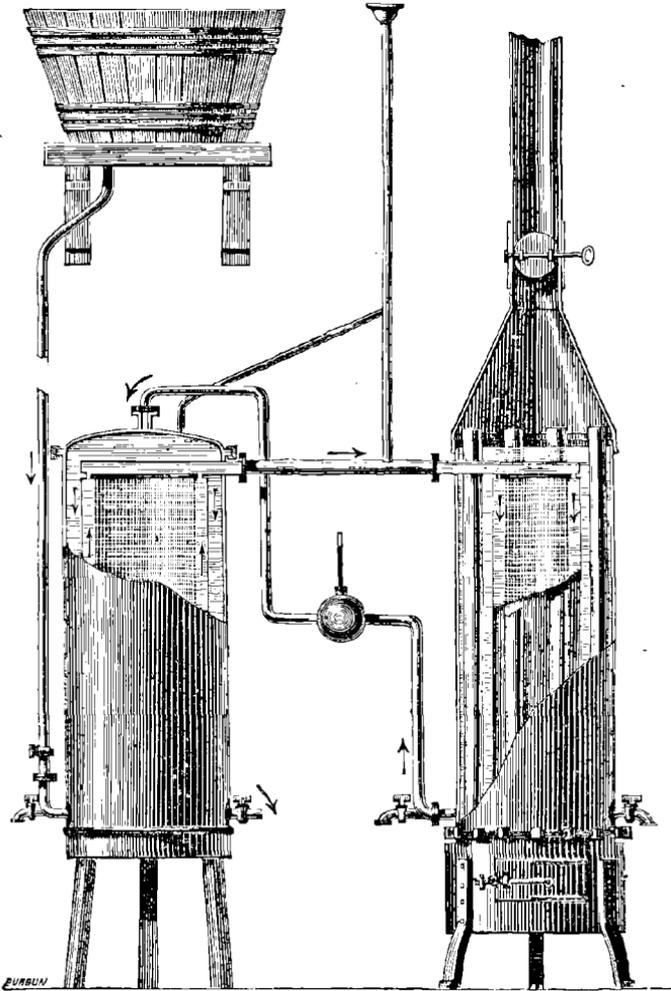


Fig. 23. — Appareil Giret et Vinas pour le chauffage des vins.

Le chauffage peut s'exécuter sur le vin en bouteilles ou sur le vin en fûts.

La figure 23 ci-dessus représente l'appareil de Giret et Vinas

pour le chauffage continu du vin. Il se compose d'un foyer surmonté de tubes droits communiquant avec la cheminée. Un bain-marie entoure complètement les tubes. Le cylindre du bain-marie est fixé au foyer, au moyen de deux rebords, entre lesquels est une bande de toile trempée dans de la colle de farine. Les deux rebords sont pressés par des pinces en fer, de sorte que ce cylindre peut se démonter facilement. Le vin circule dans une caisse formée de deux cylindres concentriques reliés en haut et en bas par deux rondelles annulaires. Le réfrigérant est formé d'un cylindre contenant une caisse intérieure identique à la précédente. Le couvercle du réfrigérant est mobile et fixé par une disposition semblable à celle qui sert à relier le cylindre au foyer.

Les surfaces en contact avec le vin sont étamées. Le bain-marie contient de l'eau, le réfrigérant ne reçoit que du vin, aussi bien dans la caisse qu'autour d'elle.

Les flèches indiquent le sens de la circulation; un thermomètre placé dans la boule du tube qui relie le bain-marie au réfrigérant donne la température maxima. (Voir pour plus de détails à ce sujet, la *Chimie technologique* de Wagner, traduction française.)

Applications des idées de M. Pasteur à la pathologie. — Il y a trente ans j'écrivais ces lignes (*Chimie appliquée à la physiologie animale, à la pathologie et au diagnostic médical*, par P. Schutzenberger, 1864) : « Toutes les maladies contagieuses par inoculation ou par contact plus ou moins direct, épidémiques et endémiques, sont évidemment provoquées par l'introduction dans l'organisme vivant de substances étrangères toxiques, produisant un véritable empoisonnement. Lorsque dans une affection de ce genre, le choléra, la fièvre jaune, la pustule maligne par exemple, les symptômes généraux et l'évolution ont un caractère de constance bien marqué, malgré les différences de races, d'espèces ou d'individualité, on est forcément conduit à admettre la nature spécifique du poison qui donne lieu à telle ou telle série de manifestations pathologiques.

« Ces conclusions tirées de faits nombreux, observés sur toutes les parties du globe, sont si simples et si naturelles que personne ne les conteste; mais lorsqu'il s'agit de préciser la nature

de la substance morbifique, comme l'on entre dans le domaine de l'hypothèse, les opinions les plus variées et les plus contradictoires sont émises et peuvent être soutenues avec des apparences de probabilité plus ou moins grandes.

« Depuis longtemps on a cherché à expliquer les affections infectieuses par des fermentations intra-organiques, déterminées par des corps étrangers que tout portait à faire considérer comme étant de nature organisée; mais à une époque où les idées sur la fermentation proprement dite étaient encore vagues et mal définies, il était difficile de soutenir solidement une semblable doctrine.

« Il nous semble, depuis longtemps, que les travaux de M. Pasteur sur cette question n'ont pas seulement abouti à mieux préciser qu'on ne le pouvait avant lui des faits en partie connus, mais qu'ils sont destinés dans l'avenir à jeter une vive lumière sur l'étiologie et l'histoire pathologique des maladies contagieuses, épidémiques et endémiques. Cependant nous n'aurions pas osé discuter ici une conviction personnelle, partagée du reste par beaucoup de médecins et d'observateurs, mais ne reposant encore que sur des analogies, si une découverte récente, due à l'habile investigation de M. Davaine, n'était venue prêter à cette manière de voir un point d'appui solide, celui d'un fait positif, acquis définitivement à la science, fait qui ne restera certainement pas isolé.

« Nous partons de l'hypothèse que la plupart des maladies infectieuses ont pour cause immédiate la pénétration dans l'organisme et le développement de germes de ferments ou de ferments déjà formés, vivants et de nature végétale ou animale, et nous utiliserons les connaissances acquises, pour appuyer cette opinion d'un certain ensemble de probabilités. Nous reconnaissons néanmoins, dès le début, qu'il faut attendre, pour se prononcer d'une manière définitive, une preuve directe et expérimentale, comme celle qui a été donnée par M. Davaine pour le sang de rate ou la pustule maligne. Nous pensons que les recherches sur les fermentations et les putréfactions nous ont conduits assez loin, pour que des essais sérieux puissent être tentés dans cette direction avec quelque espoir de succès. »

Depuis trente ans que cette page a été écrite la question

qu'elle soulève, très modestement et sans aucune prétention personnelle de notre part, a fait des pas de géant, grâce surtout aux efforts du génie de Pasteur et du zèle intelligent et persévérant de ses élèves.

Les services rendus par le développement des idées de Pasteur, par ce qu'il a fait lui-même et par ce qu'il a rendu possible à d'autres savants sont immenses et le titre de bienfaiteur de l'humanité n'est pas une récompense trop haute. Personne ne songe plus à lui en contester la tranquille possession.

N'est-ce pas lui qui en démontrant que l'infection purulente si fréquente après les opérations chirurgicales un peu sérieuses, que la fièvre puerpérale dont les victimes se comptaient par milliers sont la conséquence du développement d'organismes spéciaux dont les germes viennent du dehors, a montré par cela même aux chirurgiens et aux médecins accoucheurs la possibilité d'éviter les cruels mécomptes où venaient échouer toute leur habileté et tous leurs soins. Débarrassée par les pansements antiseptiques de la crainte de l'infection, la chirurgie a pu devenir de plus en plus hardie, tenter et réussir 9 fois sur 10 des opérations réputées jusqu'alors comme mortelles.

En même temps l'antisepsie comme moyen prophylactique contre les maladies contagieuses et épidémiques a pris sous l'influence de ces idées un développement sérieux. On a trouvé dans les eaux potables ordinaires sous forme de bacille, la cause des fièvres typhoïdes et du typhus; en donnant à la consommation générale des eaux pures, non contaminées on est arrivé à diminuer dans des proportions notables l'importance des affections typhiques.

Les travaux de Pasteur sur la rage, la sérumthérapie qui vient d'avoir un si brillant succès entre les mains de son élève M. Roux, sont des conséquences plus ou moins immédiates des premiers travaux de Pasteur sur les fermentations et l'origine des germes.

Sa victoire définitive sur les partisans des générations spontanées a été une grande conquête et un bienfait pour l'homme.

CHAPITRE XVII

MATIÈRES PROTÉIQUES. — MATIÈRES HYDROCARBONÉES

Les matières protéiques et les substances hydrocarbonées jouent un si grand rôle dans les phénomènes biologiques dans la nutrition et les manifestations spéciales des ferments qu'il nous paraît utile, nécessaire même de fixer les idées sur la constitution chimique de ces corps.

C'est en nous plaçant à ce point de vue général que nous parlerons des matières protéiques et hydrocarbonées. Nous chercherons surtout à mettre en évidence les résultats qui jettent quelque jour sur la constitution et le mode de décomposition de ces corps.

Les matières protéiques diffèrent essentiellement des substances hydrocarbonées par la présence de l'azote dans leurs molécules. Les premières forment la base des tissus de l'organisme animal; elles se rencontrent aussi dans le protoplasma des cellules végétales.

Les matières hydrocarbonées entrent au contraire pour une large part dans la composition des tissus et des organes végétaux; dans l'organisme animal elles servent surtout de combustible et comme source de chaleur.

I. — Matières protéiques.

Les principes azotés qui entrent essentiellement dans la constitution des organes et des liquides de l'organisme animal et dans le protoplasma des cellules végétales se partagent en plusieurs familles.

La première comprend les matières albuminoïdes proprement

dites, c'est-à-dire les composés les plus voisins de l'albumine d'œufs, par leur composition chimique et l'ensemble de leurs caractères.

La seconde comprend les corps qui entrent dans la composition des tissus les moins vivants, c'est-à-dire de ceux où les phénomènes de nutrition et les échanges sont restreints, de ceux qui travaillent le moins. Tels sont les tissus osseux, cartilagineux, élastiques, fibreux, cellulaires, cornés, épidermiques. Ces corps diffèrent des matières albuminoïdes proprement dites par certains caractères et s'en rapprochent par d'autres. Ils sont moins riches en carbone et plus riches en azote.

Les diastases ou ferments solubles ainsi que les peptones représentent des produits de transformation des matières albuminoïdes et de celles de la seconde famille. Elles occupent une place à part.

Substances albuminoïdes proprement dites. — On fait généralement rentrer dans cette famille les termes suivants :

1° Albumine d'œuf; albumine du sérum du sang (sérine); albumine végétale; les albumines sont solubles dans l'eau pure et coagulables par la chaleur;

2° La fibrine du sang; la fibrine musculaire; la fibrine végétale;

3° La caséine; la paraglobuline; la syntonine; la légumine; la caséine végétale.

Toutes ces substances se distinguent les unes des autres par certains caractères de second ordre : solubilités plus ou moins grandes dans l'eau pure, l'eau acidulée, les alcalis étendus, l'acide acétique ou par la faculté de précipiter par tel ou tel réactif. Il est probable que les espèces ainsi établies ne représentent pas encore des produits absolument définis et que beaucoup d'entre elles sont des mélanges de corps très voisins. Ainsi l'albumine du blanc d'œuf longtemps envisagée comme corps défini, n'est en réalité qu'un mélange de plusieurs albumines ayant à peu de choses près la même composition et ne se distinguant que par la grandeur du pouvoir rotatoire et par la température de leur coagulation. Rien ne prouve que la fibrine qui se sépare pendant la coagulation du sang n'est pas un mélange. Ce qui est certain, c'est que suivant leur origine elles ne présentent pas toutes les mêmes caractères de solubilité dans divers réactifs.

Les difficultés que l'on rencontre pour résoudre ces questions dépendent surtout de l'état amorphe des matières albuminoïdes et de leur fixité. On ne peut donc d'aucune manière leur appliquer les deux procédés les plus puissants de purification dont se servent les chimistes : la cristallisation et la distillation.

Il est déjà malaisé de séparer un albuminoïde de corps étrangers de substances organiques appartenant à d'autres familles. Cette difficulté devient presque insurmontable lorsqu'il s'agit de corps aussi voisins que deux albuminoïdes de même espèce.

Au point de vue de la composition centésimale les substances albuminoïdes sont très rapprochées; cependant les analyses ne concordent pas assez pour que l'on puisse conclure à l'identité de composition ou à l'isomérisie. Nous donnons sous forme de tableau le résumé des principaux résultats analytiques.

| | CARBONE | HYDROGÈNE | AZOTE | OXYGÈNE ET SOUFRE | SOUFRE | AUTEURS |
|---|---------|-----------|-------|----------------------|------------|-------------------|
| Albumine d'œuf, non coagulée. . . | 53,3 | 7,1 | 15,8 | 23,6 | 1,8 | Dumas et Cahours. |
| Albumine d'œuf, non coagulée. . . | 54,3 | 7,1 | 15,7 | 22,9 | | Scheerer. |
| Albumine d'œuf, purifiée. | 52,9 | 7,2 | 15,6 | | | Wurtz. |
| Albumine d'œuf, coagulée. | 52,9 | 7,2 | 15,8 | | | Wurtz. |
| Fibrine du sang. . | 52,8 | 7,0 | 16,8 | 23,4 | | Dumas et Cahours. |
| Id. — | 53,7 | 7,1 | 15,8 | 23,4 | | Scheerer. |
| Caséine — | 53,5 | 7,1 | 15,8 | 23,6 | | Dumas et Cahours. |
| Id. — | 54,0 | 7,2 | 15,7 | 23,1 | | Scheerer. |
| Gluten ou fibrine végétale | 53,1 | 6,8 | 15,0 | | | Boussingault. |
| Légumine | 53,7 | 7,2 | 15,7 | 23,4 | | Scheerer. |
| Id. | 50,5 | 6,9 | 18,2 | | | Dumas et Cahours. |
| Matière amyloïde. | 53,6 | 7,0 | 15,0 | | | |
| Syntonine | 54,1 | 7,2 | 16,1 | | 1,3 1,1 | |

D'une part il ne convient pas d'attacher une trop grande importance à des différences faibles, observées dans les résultats analytiques obtenus avec des corps aussi difficiles à purifier, amorphes, contenant souvent des substances minérales; d'un autre côté rien ne nous autorise à admettre l'identité complète de composition.

En effet, ces corps ont bien certainement un poids moléculaire très élevé. Ainsi pour l'albumine, on arrive par deux voies (analyses de la combinaison potassique et de la combinaison platino-cyanhydrique), à peu près au même nombre (1612), pour le poids moléculaire. De sorte que si l'on veut traduire en formule chimique, comme on a l'habitude de le faire, les résultats de l'analyse élémentaire, on est conduit à des expressions très élevées, telles que celle proposée par Lieberkuhn, $C^{72}H^{112}Az^{18}SO^{32}$.

Or il est évident, pour quiconque a l'habitude du calcul des analyses, qu'une différence de un atome de carbone, d'hydrogène ou d'oxygène, dans une formule si élevée, donne des variations rentrant dans les erreurs d'analyse. L'analyse élémentaire, au moins telle que nous savons la faire, est impuissante à résoudre la question d'isomérisie et de non-isomérisie.

Constitution des matières protéiques. — Cette question ne peut être abordée que par l'étude des transformations et des décompositions que ces corps sont aptes à subir sous l'influence de divers agents, c'est-à-dire par voie d'analyse. Sa solution complète exige que cette étude soit poursuivie jusqu'au bout et que rien d'inconnu et d'indéterminé ne reste en arrière.

Parmi les réactions chimiques de divers ordres qui se présentent à l'esprit, les décompositions hydrolytiques ou par hydratation¹ sont celles qui se prêtent le mieux à des conclusions sérieuses. C'est, en effet, par l'hydrolyse que l'on a pu déterminer la vraie nature des corps gras neutres et poser les bases des tentatives synthétiques.

On sait que sous l'influence des ferments solubles, des alcalis et des acides minéraux étendus, c'est-à-dire sous l'influence des

(1) On désigne sous le nom d'hydrolyse les décompositions qui s'effectuent avec le concours des éléments de l'eau. Ainsi, l'hydrolyse d'un composé A. B peut être formulée d'une manière générale par l'équation



Il peut se faire que les deux produits de ce premier dédoublement subissent à leur tour, chacun pour son compte, une nouvelle transformation du même ordre. Posons : B. OH = C et C = D. E. On aura :



On voit ainsi que la réaction hydrolytique peut donner plus de deux termes tout en restant en principe une réaction de dédoublement.

agents ordinaires des réactions par hydratation les substances protéiques se scindent en divers termes plus simples, dont la constitution chimique est ou connue ou plus facile à établir. La nature de ces dérivés fournit d'utiles renseignements sur celle des groupements multiples qui entrent dans la molécule complexe de la substance protéique. Il convient donc de choisir une réaction de ce genre, s'appliquant d'une façon générale à toutes les matières protéiques et dont l'étude peut être poursuivie jusqu'à épuisement de tous les termes formés.

Le phénomène qui nous a paru se prêter le mieux à des recherches de ce genre est l'action prolongée, en vase clos, de l'hydrate de baryte, en présence de l'eau, et à une température de 150 à 200°. En faisant réagir trois parties d'hydrate de baryte pour une partie de substance protéique sèche et en chauffant le mélange avec une quantité convenable d'eau, à 180°, pendant cent heures, on arrive à une transformation complète et achevée. La baryte employée peut être ensuite éliminée en utilisant l'insolubilité de son carbonate ou de son sulfate et l'on reste alors en présence des seuls produits de la décomposition du corps mis en expérience.

Toutes les substances protéiques donnent dans ces conditions après élimination de la baryte employée :

- 1° De l'ammoniaque libre ;
- 2° De l'acide carbonique et de l'acide oxalique qui se séparent sous forme de sels barytiques insolubles ;
- 3° De l'acide acétique ;
- 4° Un mélange de composés amidés solubles dans l'eau. Nous donnerons à ce mélange, dont le poids représente 95 à 98 centièmes du poids de la matière protéique, le nom de résidu fixe amidé.

Les résultats d'une substance à l'autre diffèrent surtout par les proportions relatives de ces termes de décomposition. Avec les matières protéiques animales (albumine, fibrine, caséine, osséine, production épidermique) le rapport entre l'ammoniaque libre et les acides carbonique et oxalique réunis, est tel que pour une molécule d'acide bibasique on trouve deux molécules d'ammoniaque. Avec les matières protéiques végétales (gluten) il y a excès d'ammoniaque. La composition élémen-

taire du mélange amidé ou résidu fixe conduit à une formule très voisine de l'expression générale $C^nH^{2n}AzO^1$, avec un excès d'oxygène de 0,1 à 0,2. D'une substance à l'autre la valeur du facteur n peut varier. Avec l'osséine, par exemple, la valeur de n est notablement inférieure à celle que donne le résidu fixe de l'albumine d'œuf. Mais on voit de suite, qu'en dehors des variations quantitatives et de masses observées pour les produits volatils et secondaires ($AzH^3, CO^2, C^2H^2O^4$) les différences entre les divers groupes de matière protéique s'expliquent par l'homologie; c'est ce qui arrive aussi avec les corps gras.

En d'autres termes, avec les substances protéiques, comme avec les corps gras, les dérivés d'hydratation sont des corps de même espèce, de même nature chimique, quelle que soit la matière protéique envisagée; ils diffèrent les uns des autres par homologie, c'est-à-dire par un certain nombre de fois CH^2 en plus ou en moins.

Ainsi avec l'albumine et les substances albuminoïdes les composés amidés dominants sont : la leucine $C^6H^{13}AzO^2$ et l'acide amidovalérique $C^5H^{11}AzO^2$, tandis qu'avec la gélatine et l'osséine les composés amidés dominants sont : l'alanine $C^3H^7AzO^2$ et le glycocolle $C^2H^5AzO^2$ homologues inférieurs de la leucine et de l'acide amidovalérique. Le résidu fixe ou mélange amidé se compose généralement de deux ordres de composés :

1° Les uns appartiennent à la série des acides gras amidés, répondant à la formule générale :



Ce sont :

| | |
|---|------------------|
| Le glycocolle ou acide amido-acétique . . . | $C^2H^5AzO^2$ |
| L'alanine ou acide amido-propionique . . . | $C^3H^7AzO^2$ |
| L'acide amido-butyrique | $C^4H^9AzO^2$ |
| — amido-valérique (butalanine). | $C^5H^{11}AzO^2$ |
| — amido-caproïque (leucine) | $C^6H^{13}AzO^2$ |

Ils peuvent tous être obtenus en cristaux définis et leur constitution est bien connue.

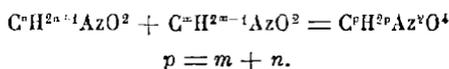
Une même substance protéique fournit généralement deux ou plusieurs de ces acides amidés.

A côté de ces acides amidés nous devons mentionner encore

la tyrosine ou acide amydohydrocoumarique $C^9H^{13}AzO^3$ qui rentre dans la série aromatique et ne forme généralement qu'une faible fraction du résidu fixe (3,5 p. 100 environ).

L'ensemble de ces acides amidés, forme 50 à 60 p. 100 du poids du résidu fixe.

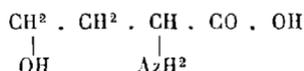
Le reste est constitué par un ou deux produits homologues très solubles dans l'eau et dans l'alcool absolu, difficilement cristallisables et dont la composition répond à la formule générale $C^mH^{2m-1}AzO^2$ n étant égal à 4 et à 5. Ces corps auxquels nous avons donné le nom de leucéines, associés aux acides amidés précédents, rendent compte de la formule $C^pH^{2p}Az^2O^4$ fournie par le mélange total :



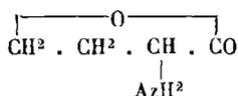
Les leucéines, $C^4H^7AzO^2$, $C^5H^9AzO^2$, peuvent être envisagées comme des anhydrides intérieurs, lactones ou lactames, d'oxy-acides amidés : ainsi,



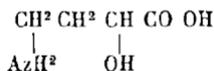
ou



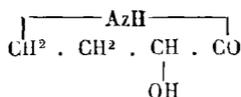
donnerait par déshydratation intérieure la lactone γ :



ou bien



fournirait la lactame.



L'origine de ces deux ordres de composés, leucéines et leucéines, s'explique facilement, si l'on admet que la molécule

protéique se scinde d'abord par hydratation en ammoniacque, acide carbonique, acide oxalique et en termes amidés de la forme $C^pH^{2p}Az^2O^4$ qui à leur tour donneraient par hydratation, en posant $p = m + n$,

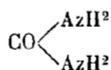


On aurait ensuite par déshydratation intérieure de l'oxyacide amidé.

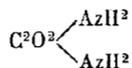


Cette manière de voir est fondée sur ce fait que si au lieu d'opérer l'hydrolyse à 180° on se contente de faire bouillir la matière protéique avec de l'eau de baryte, tant qu'il se dégage de l'ammoniacque, on trouve dans le résidu fixe, au lieu de leucines et de leucéines, des composés plus complexes, de saveur sucrée, répondant à la formule générale $C^qH^{2q}Az^2O^4$, corps que nous avons nommés glucoprotéines.

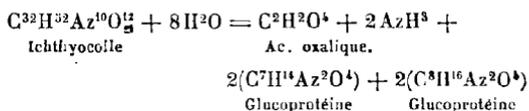
Enfin pour terminer, on peut admettre que les groupements glucoprotéiques sont reliés entre eux par l'intermédiaire d'un groupement uréique ou oxamidique,



ou



L'équation suivante représente assez bien dans ses grandes lignes, qualitativement et quantitativement, la décomposition hydrolytique de l'ichthyocolle, sous l'influence de l'hydrate de baryte à 180° :



Les glucoprotéines se scindent à leur tour en sucre de gélatine (acide amido-acétique) et homologues et en leucéines.

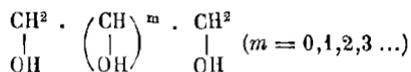
Avec l'albumine, les phénomènes sont un peu plus compliqués, mais de même ordre.

Les ferments de putréfaction agissent, en partie du moins, comme nous l'avons vu, à la manière des alcalis caustiques et provoquent les mêmes phénomènes d'hydrolyse en donnant naissance aux mêmes produits : leucines, leucéines, etc.

II. — Matières sucrées et principes immédiats hydrocarbonés.

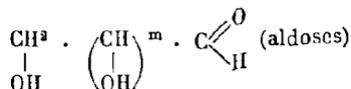
Les matières sucrées qui interviennent si fréquemment dans les phénomènes de nutrition des ferments figurés et qui forment une grande partie des matières fermentescibles ont une constitution bien connue actuellement, établie sur l'analyse et sur la synthèse. On peut les partager en plusieurs groupes :

1° Le premier comprend les alcools polyvalents saturés ayant pour formule générale $C^nH^{2n+2}O^n$. Leur constitution se représente par le schéma :

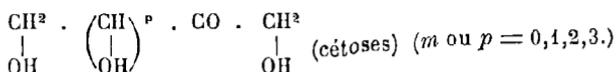


Dans ce groupe viennent se placer le glycol ($m = 0$); la glycérine ($m = 1$); l'érythrite ($m = 2$); certaines substances dérivées des matières gommeuses (xylite, arabite) ($m = 3$); la mannite, la dulcité et la sorbite ($m = 4$); etc. — Ces corps jouissent des propriétés générales des alcools complets polyvalents.

2° Le second groupe est formé par les dérivés aldéhydiques et acétoniques des corps précédents; ils en dérivent par perte de H^2 et peuvent engendrer les alcools polyvalents correspondants par fixation d'hydrogène. Leur composition est représentée par la formule générale $C^nH^{2n}O^n$. Leur constitution peut être représentée par les formules :

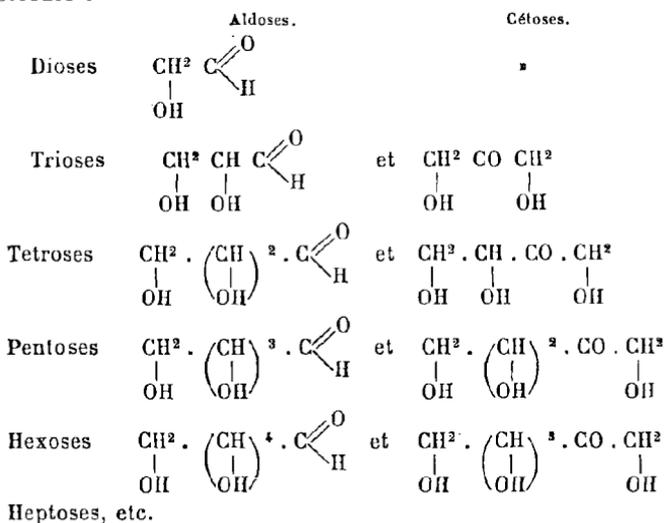


et :

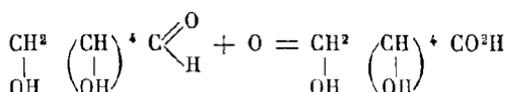


Les aldoses et les cétooses $C^nH^{2n}O^n$ ont reçu des noms qui

rappellent le nombre des atomes de carbone entrant dans leur molécule :

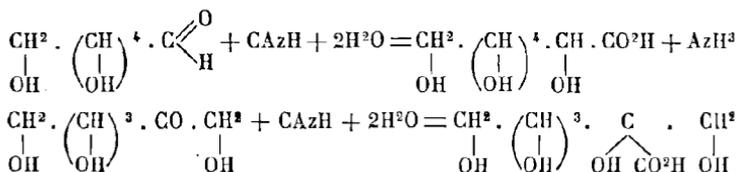


Les aldoses tels que la dextrose (sucre de raisin) se distinguent des cétozes isomères tels que la fructose (levulose) par la propriété de se convertir en acides monobasiques renfermant dans leur molécule le même nombre d'atomes de carbone lorsqu'on les oxyde par le brome aqueux.



Les cétozes subissent une oxydation plus compliquée.

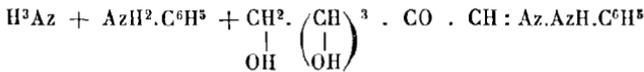
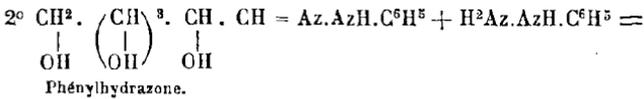
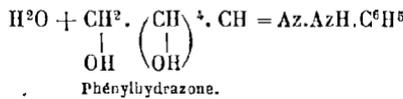
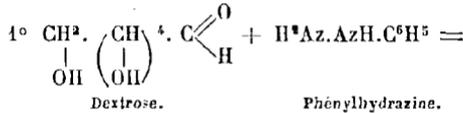
L'acide cyanhydrique et la phénylhydrazine s'unissent aux aldoses et aux cétozes d'après les équations :



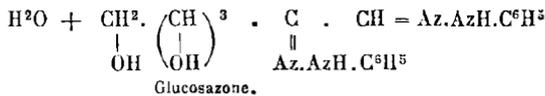
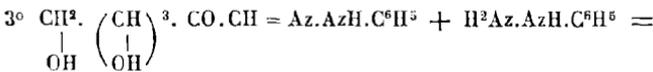
Avec la phénylhydrazine il se forme, aussi bien avec les al-

doses qu'avec les cétozes des combinaisons caractéristiques, peu solubles dans l'eau, de couleur jaune, facilement cristallisables auxquels on donne le nom général d'osazones (glucosazones, galactosazones, etc.).

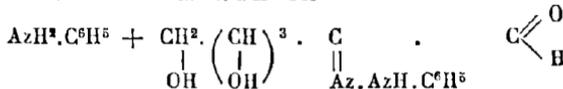
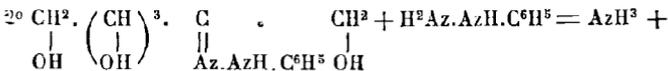
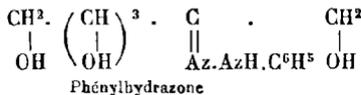
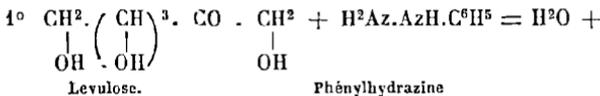
Les réactions qui président à la synthèse de ces corps sont représentées par les équations suivantes :

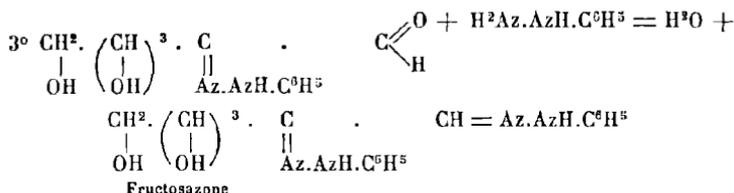


Ammoniaque. Aniline.



Avec la fructose ou cétoze isomère on a la suite des réactions,

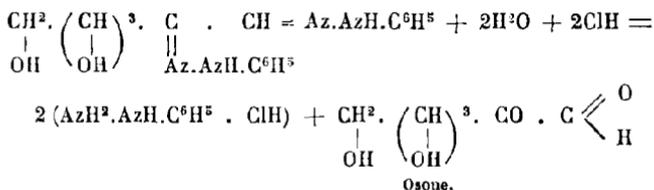




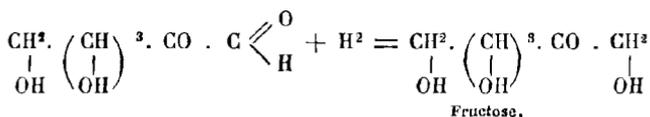
On voit qu'avec l'aldose et la cétose isomères on arrive finalement au même osazone, bien que les termes intermédiaires soient distincts.

Il est possible de dégager de nouveau l'hexose de sa combinaison osazonique.

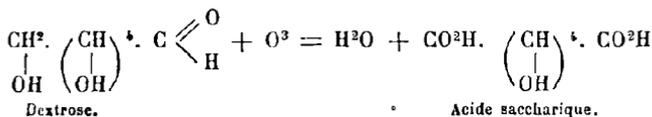
L'osazone traitée par l'acide chlorhydrique concentré perd deux molécules de phénylhydrazine sous forme de chlorhydrate de cette base, en fixant deux molécules d'eau. On a :



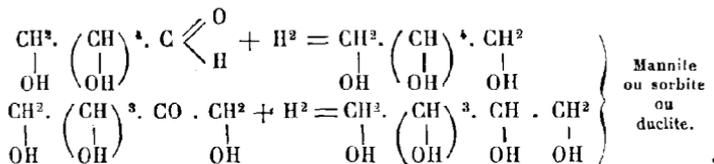
L'osone ainsi formée se change par hydrogénation en cétose :



Par une oxydation suffisamment énergique les aldoses se convertissent en acides bibasiques (ac. saccharique).



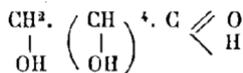
Par réduction les aldoses et les cétoses fixent deux atomes d'hydrogène et se transforment en alcools polyatomiques correspondants.



Toutes les réactions indiquées plus haut s'appliquent aussi bien aux aldoses et cétooses pentoses, heptoses, etc., qu'aux hexoses que nous avons pris comme exemples.

Dans le groupe des hexoses que nous avons particulièrement étudié et dans lequel rentrent les principaux sucres (glucose, levulose ou fructose, galactose, mannose, gulose), on constate de nombreux cas d'isomérisie. Les corps que nous venons de nommer ont tous la même structure chimique et dérivent d'alcools polyvalents également isomères entre eux et de même structure chimique. L'isomérisie dans ces corps dépend non de la constitution chimique, c'est-à-dire de la façon dont les divers groupes élémentaires CH²(OH), CH(OH), COH, CO sont reliés entre eux mais de l'état stéréochimique ou de l'orientation dans l'espace des éléments et des radicaux liés aux divers atomes de carbone.

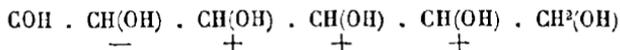
Dans les hexoses il y a quatre atomes de carbone asymétriques ; à chacun d'eux correspondent deux cas d'isomérisie, l'un qui provoque une déviation à droite du plan de la lumière polarisée, l'autre qui donne une déviation à gauche. On arrive ainsi à seize isomères stéréochimiques répondant à la structure de la dextrose.



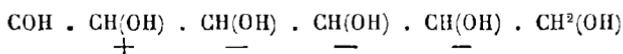
et se rattachant à l'hexane normal CH². (CH²)⁴. CH².

Grâce à une discussion très savante, dans les détails de laquelle nous ne pouvons pas entrer, M. E. Fischer dont le nom est si intimement lié à l'histoire chimique des sucres, est arrivé à la conclusion suivante.

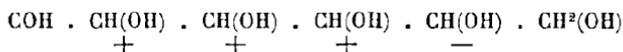
La glucose droite correspond à la combinaison :



La glucose gauche correspond à la combinaison inverse :



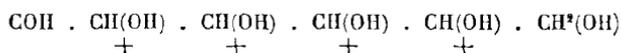
Pour la gulose droite, on a :



et pour la gulose gauche :



Les mannoses droite et gauche seraient :



et :

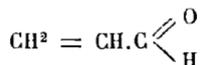


Nous affectons du signe + les atomes de carbone asymétrique qui avec les éléments et radicaux associés forment un tétraèdre droit, et du signe — ceux qui forment un tétraèdre gauche.

A chaque espèce d'hexaldose correspond un isomère inactif que l'on peut envisager comme formé par l'union de l'isomère droit avec l'isomère gauche. Il y a compensation des pouvoirs rotatoires inverses comme dans l'acide racémique.

M. E. Fischer est arrivé à réaliser la synthèse des mannoses, des glucoses et des guloses, ainsi que celle de la lévulose. Nous indiquerons sommairement la marche suivie.

L'acroléine $\text{C}^3\text{H}^4\text{O}$, qui dérive de la glycérine par déshydratation et dont la structure est représentée par la formule :

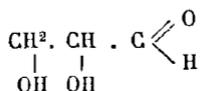


fixe deux atomes de brome en donnant :

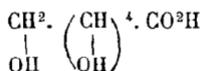


Sous l'influence des alcalis, hydrate de baryte, on remplace

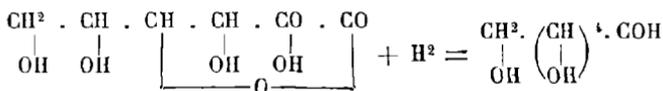
chaque atome de brome par de l'hydroxyle et l'on obtient l'aldose de la glycérine.



Au moment de sa formation celle-ci se condense; deux molécules s'unissent pour donner l'acrose ou mannose inactive $\text{C}^6\text{H}^{12}\text{O}^6$, la mannose inactive se change par oxydation en acide mannonique inactif;



que l'on parvient à dédoubler en acide mannonique droit et en acide mannonique gauche. Chacun de ces deux acides isomères, ou plutôt chacune des lactones correspondantes étant réduite séparément donnera une mannose. (Mannose droite et mannose gauche.)

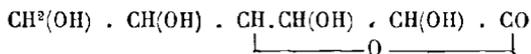


La mannose droite étant transformée en osazone et l'osazone étant traitée comme il est dit plus haut, en vue de séparer la matière sucrée, l'hexose, on arrive à la fructose droite (cétose); avec la mannose gauche, on obtiendra de même la fructose gauche. La combinaison des deux fructoses fournit la fructose inactive.

L'acide mannonique droit chauffé à 140° avec de la quinoléine se transforme en son isomère l'acide gluconique droit :



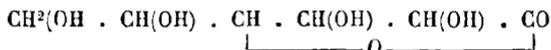
qui réduit sous forme de lactone :



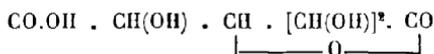
conduit à la glucose droite. Avec l'acide mannonique gauche, on forme par la même méthode l'acide gluconique gauche puis par réduction de sa lactone la glucose gauche.

Les deux glucoses réunies en proportions moléculaires fournissent la glucose inactive.

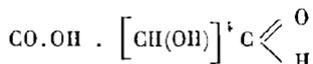
Pour arriver à la glucose droite on part de la glucose droite. Celle-ci est transformée par oxydation, en acide gluconique droit $\text{CH}^2(\text{OH}) \cdot [\text{CH}(\text{OH})]^4 \cdot \text{CO} \cdot \text{OH}$. La lactone de l'acide gluconique droit :



est oxydée à son tour et fournit la lactone de l'acide saccharique droit



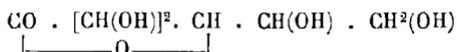
qui par réduction se change en acide glucuronique droit



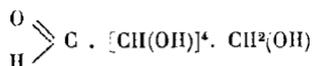
Une réduction plus énergique conduit à l'acide gulonique droit



dont la lactone

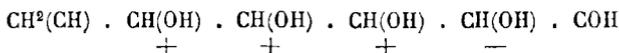


produira par une nouvelle hydrogénation le composé

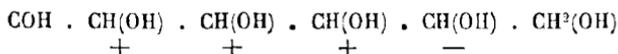


Par cette série de réactions nous avons mis à gauche le groupe aldéhydique COH qui dans la glucose se trouvait à droite. La chose serait indifférente s'il ne fallait pas compter avec les termes intermédiaires.

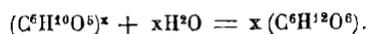
La glucose droite étant :



devient par ce déplacement de droite à gauche :



représentée par la formule $(C^6H^{10}O^5)_x$ dans laquelle la valeur de x qui fixe la grandeur du poids moléculaire est inconnue. Tous ces corps se scindent par hydrolyse en plusieurs molécules d'hexoses.



FIN

TABLE DES MATIÈRES

| | Pages. |
|---|--------|
| INTRODUCTION | 1 |
| FERMENTATIONS DUES AUX ORGANISMES CELLULAIRES OU FERMENTATIONS DIRECTES | |
| CHAPITRE PREMIER. — Historique | 1 |
| CHAPITRE II. — Fermentation alcoolique ou spiritueuse. | 8 |
| CHAPITRE III. — Levures alcooliques | 21 |
| CHAPITRE IV. — Composition de la levure | 51 |
| CHAPITRE V. — Fonctions de la levure | 60 |
| CHAPITRE VI. — Action des divers agents chimiques et physiques sur la marche de la fermentation alcoolique | 136 |
| CHAPITRE VII. — La fermentation alcoolique du sucre peut être pro- voquée par d'autres cellules que celles des levures alcooliques | 144 |
| CHAPITRE VIII. — Ferments bactériens | 160 |
| CHAPITRE IX. — Fermentations visqueuse et lactique | 166 |
| CHAPITRE X. — Fermentations acides | 177 |
| CHAPITRE XI. — Fermentation ammoniacale | 194 |
| CHAPITRE XII. — Putréfaction. — Fermentations putrides. — Ptomaines et leucomaines. | 202 |
| CHAPITRE XIII. — Fermentations par oxydation | 223 |
| CHAPITRE XIV. — De l'origine des ferments | 238 |
| FERMENTATIONS DUES AUX FERMENTS SOLUBLES OU FERMENTATIONS INDIRECTES | |
| CHAPITRE XV. — Ferments solubles. — Zymases | 256 |
| CHAPITRE XVI. — Applications des travaux et des idées de Pasteur | 291 |
| CHAPITRE XVII. — Matières protéiques. — Matières hydrocarbonées | 297 |

ÉVREUX, IMPRIMERIE DE CHARLES HÉRISSEY

PHILOSOPHIE — HISTOIRE
CATALOGUE

DES

Livres de Fonds

| | Pages. | | Pages. |
|--|--------|--|--------|
| BIBLIOTHÈQUE DE PHILOSOPHIE CONTEMPORAINE. | | PUBLICATIONS HISTORIQUES IL- LUSTRÉES..... | 14 |
| Format in-12..... | 2 | RECUEIL DES INSTRUCTIONS DI- PLOMATIQUES..... | 15 |
| Format in-8..... | 4 | INVENTAIRE ANALYTIQUE DES ARCHIVES DU MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉTRANGÈRES..... | 15 |
| COLLECTION HISTORIQUE DES GRANDS PHILOSOPHES..... | 7 | REVUE PHILOSOPHIQUE..... | 16 |
| Philosophie ancienne..... | 7 | REVUE HISTORIQUE..... | 16 |
| Philosophie moderne..... | 7 | ANNALES DE L'ÉCOLE LIBRE DES SCIENCES POLITIQUES..... | 17 |
| Philosophie écossaise..... | 8 | REVUE MENSUELLE DE L'ÉCOLE D'ANTHROPOLOGIE..... | 17 |
| Philosophie allemande..... | 8 | ANNALES DES SCIENCES PSYCHI- QUES..... | 17 |
| Philosophie allemande con- temporaine..... | 9 | BIBLIOTHÈQUE SCIENTIFIQUE IN- TERNATIONALE..... | 18 |
| Philosophie anglaise contem- poraine..... | 9 | Par ordre d'apparition..... | 18 |
| Philosophie italienne contem- poraine..... | 10 | Par ordre de matières..... | 21 |
| OUVRAGES DE PHILOSOPHIE POUR L'ENSEIGNEMENT SECONDAIRE. | 11 | OUVRAGES DIVERS NE SE TROU- VANT PAS DANS LES COLLEC- TIONS PRÉCÉDENTES..... | 24 |
| BIBLIOTHÈQUE D'HISTOIRE CON- TEMPORAINE..... | 12 | BIBLIOTHÈQUE UTILE..... | 31 |
| BIBLIOTHÈQUE INTERNATIONALE D'HISTOIRE MILITAIRE..... | 14 | | |
| BIBLIOTHÈQUE HISTORIQUE ET POLITIQUE..... | 14 | | |

*On peut se procurer tous les ouvrages
qui se trouvent dans ce Catalogue par l'intermédiaire des libraires
de France et de l'Étranger.*

*On peut également les recevoir franco par la poste,
sans augmentation des prix désignés, en joignant à la demande
des TIMBRES-POSTE FRANÇAIS ou un MANDAT sur Paris.*

PARIS

108, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 108

Au coin de la rue Hautefeuille.

FÉVRIER 1895

Suite de la *Bibliothèque de philosophie contemporaine*, format in-12,
à 2 fr. 50 le volume.

- TARDE. * *Les Transformations du Droit*. 2^e édit. 1894.
 THAMIN (R.), prof. à la Faculté des lettres de Lyon. * *Éducation et positivisme*.
 2^e éd. 1895. Ouvrage couronné par l'Académie des sciences morales et politiques.
 THOMAS (P. Félix), prof. au lycée de Versailles. *La suggestion, son rôle dans
 l'éducation intellectuelle*. 1895.
 TISSIÉ. * *Les Rêves*, avec préface du professeur Azam.
 VIANNA DE LIMA. *L'Homme selon le transformisme*.
 WUNDT. *Hypnotisme et suggestion*. Étude critique, traduit par M. Keller.
 ZELLER. Christian Baur et l'École de Tubingue, traduit par M. Ritter.
 ZIEGLER. *La Question sociale est une Question morale*, traduit par M. Palanté.
 2^e éd. 1894.

BIBLIOTHÈQUE DE PHILOSOPHIE CONTEMPORAINE

Volumes in-8.

- Br. à 5 fr., 7 fr. 50 et 10 fr.; Cart. angl., 1 fr. en plus par vol.; Demi-rel. en plus 2 fr. par vol.
- ADAM (Ch.), professeur à la Faculté des lettres de Dijon. *La Philosophie en
 France (première moitié du XIX^e siècle)*. 1 vol. 7 fr. 50
 AGASSIZ. * *De l'Espèce et des Classifications*. 1 vol. 5 fr.
 ARRÊAT. * *Psychologie du peintre*. 1 vol. 5 fr.
 AUBRY (le D^r P.). *La contagion du meurtre*. 1894. 2^e édit., préface de M. le
 docteur CORRE. 5 fr.
 BAIN (Alex.). * *La Logique inductive et déductive*. Traduit de l'anglais par
 M. G. Compayré. 2 vol. 2^e édition. 20 fr.
 — * *Les Sens et l'Intelligence*. 1 vol. Traduit par M. Gazelles. 2^e édit. 10 fr.
 — *Les Émotions et la Volonté*. Trad. par M. Le Moannier. 1 vol. 10 fr.
 BARNI (Jules). * *La Morale dans la démocratie*. 1 vol. 2^e édit. 5 fr.
 BARTHÉLEMY SAINT-HILAIRE, de l'Institut. *La Philosophie dans ses rapports
 avec les sciences et la religion*. 1 vol. 5 fr.
 BERGSON, docteur ès lettres, professeur au lycée Henri IV. *Essai sur les données
 immédiates de la conscience*. 1 vol. 3 fr. 75
 BLONDEL, docteur ès lettres. *L'Action*. Essai d'une critique de la vie et d'une
 science de la pratique. 1 vol. 1893. 7 fr. 50
 BOIRAC (Emile), docteur ès lettres. *L'idée du Phénomène*. 1894. 5 fr.
 BOURDEAU (L.). *Le Problème de la mort, ses solutions imaginaires, d'après
 la science positive*. 1 vol. 1893. 5 fr.
 BOURDON, docteur ès lettres. * *L'expression des émotions et des tendances
 dans le langage*. 1 vol. 1892. 7 fr. 50
 BRUNSCHWIG (E.), agrégé de philosophie. *Spinoza*. 1894. 3 fr. 75
 BUCHNER. *Nature et Science*. 1 vol. 2^e édit. Trad. de l'allemand par M. Lauth. 7 fr. 50
 CARRAU (Ludovic), professeur à la Sorbonne. *La Philosophie religieuse en
 Angleterre, depuis Locke jusqu'à nos jours*. 1 vol. 5 fr.
 CLAY (R.). * *L'Alternative, Contribution à la psychologie*. 2^e édit. 10 fr.
 COLLINS (Howard). *La Philosophie de Herbert Spencer*. 1 vol., avec préface
 de M. Herbert Spencer, traduit par H. de Varigny. 2^e éd. 1895. 10 fr.
 CONTA (B.). *Théorie de l'ondulation universelle*. Traduction du roumain et
 notice biographique par D. ROSETTI TESCANI, préface de Louis BUCHNER.
 1894. 3 fr. 75
 CRÉPIEUX-JAMIN, *L'Écriture et le Caractère*. 3^e édit. 1895. 7 fr. 50
 DELBOS, professeur de philosophie au lycée Michelet. * *Le Problème moral dans la
 philosophie de Spinoza et dans l'histoire du spinozisme*. 1 vol. 1894. 10 fr.
 DEWAULE, docteur ès lettres. * *Condillac et la Psychologie anglaise contempo-
 raine*. 1 vol. 1892. 5 fr.
 DURKHEIM, professeur à la faculté des lettres de Bordeaux. * *De la division du
 travail social*. 1 vol. 1893. 7 fr. 50
 EGGER (V.), professeur à la Faculté des lettres de Nancy. *La Parole intérieure*.
 1 vol. 5 fr.
 FERRERO (G.). *Les lois psychologiques du symbolisme*. 1895. 5 fr.
 FERRI (Louis), professeur à l'Université de Rome. *La Psychologie de l'asso-
 ciation, depuis Hobbes jusqu'à nos jours*. 1 vol. 7 fr. 50
 FLINT, professeur à l'Université d'Edimbourg. *La Philosophie de l'histoire en
 Allemagne*. 1 vol. 7 fr. 50
 FONSEGRIVE, professeur au lycée Buffon. * *Essai sur le libre arbitre*. Ouvrage cou-
 ronné par l'Académie des sciences morales et politiques. 1 vol. 2^e éd. 1895. 10 fr.
 FOUILLÉE (Alf.). * *La Liberté et le Déterminisme*. 1 vol. 2^e édit. 7 fr. 50
 — *Critique des systèmes de morale contemporains*. 1 vol. 2^e éd. 7 fr. 50
 — * *La Morale, l'Art, la Religion, d'après Guyau*. 1 vol. 2^e édit. 3 fr. 75

- Suite de la *Bibliothèque de philosophie contemporaine*, format in-8.

- FOULLÉE (Alf.). *L'Avenir de la Métaphysique fondée sur l'expérience*. 1 vol. 5 fr.
 — * *L'Évolutionnisme des idées-forces*. 1 vol. 7 fr. 50
 — * *La Psychologie des idées-forces*. 2 vol. 1893. 15 fr.
- FRANCK (A.), de l'Institut. *Philosophie du droit civil*. 1 vol. 5 fr.
- GAROFALO, agrégé de l'Université de Naples. *La Criminologie*. 1 vol. 3^e édit. 7 fr. 50.
- GREEF (de), prof. à la nouvelle Université libre de Bruxelles. *Le transformisme social*. Essai sur le progrès et le regre des sociétés. 1895. 7 fr. 50
- GODFERNAUX (A.), docteur ès lettres. *Le sentiment et la pensée et leurs principaux aspects physiologiques*. 1894. 5 fr.
- GURNEY, MYERS et PODMORE. *Les Hallucinations télépathiques*, traduit et abrégé des *« Phantasms of The Living »* par L. MARILLIER, préf. de CH. RICHER. 1 vol. 2^e éd. 7 fr. 50
- GUYAU (M.). * *La Morale anglaise contemporaine*. 1 vol. 4^e édit. 7 fr. 50
 — *Les Problèmes de l'esthétique contemporaine*. 1 vol. 5 fr.
 — *Esquisse d'une morale sans obligation ni sanction*. 1 vol. 2^e édit. 1893. 5 fr.
 — *L'Irréligion de l'avenir*, étude de sociologie. 1 vol. 3^e édit. 7 fr. 50
 — * *L'Art au point de vue sociologique*. 1 vol. 7 fr. 50
 — * *Hérédité et Education*, étude sociologique. 1 vol. 2^e édit. 5 fr.
- HERBERT SPENCER. * *Les Premiers principes*. Traduit par M. Cazelles. 1 vol. 10 fr.
 — *Principes de biologie*. Traduit par M. Cazelles. 2 vol. 20 fr.
 — * *Principes de psychologie*. Trad. par MM. Ribot et Espinas. 2 vol. 20 fr.
 — * *Principes de sociologie*. 4 vol., traduits par MM. Cazelles et Gerschel :
 Tome I. 10 fr. — Tome II. 7 fr. 50. — Tome III. 15 fr. — Tome IV. 3 fr. 75
 — * *Essais sur le progrès*. Traduit par M. A. Burdeau. 1 vol. 5^e édit. 7 fr. 50
 — *Essais de politique*. Traduit par M. A. Burdeau. 1 vol. 3^e édit. 7 fr. 50
 — *Essais scientifiques*. Traduit par M. A. Burdeau. 1 vol. 2^e édit. 7 fr. 50
 — * *De l'Education physique, intellectuelle et morale*. 1 vol. 9^e édit. 5 fr.
 (Voy. p. 2, 18 et 49.)
- HIRTH (G.). * *Physiologie de l'Art*. Trad. et introd. de M. L. ARRÉAT. 1 vol. 5 fr.
- HUXLEY, de la Société royale de Londres. * *Hume, sa vie, sa philosophie*. Traduit de l'anglais et précédé d'une introduction par M. G. COMPARÉ. 1 vol. 5 fr.
- IZOULET (J.). *La Cité moderne, métaphysique de la sociologie*. 1895. 10 fr.
- JANET (Paul), de l'Institut. * *Les Causes finales*. 1 vol. 3^e édit. 10 fr.
 — * *Histoire de la science politique dans ses rapports avec la morale*. 2 forts vol. 3^e édit., revue, remaniée et considérablement augmentée. 20 fr.
 — * *Victor Cousin et son œuvre*. 1 vol. 3^e édition. 7 fr. 50
- JANET (Pierre), professeur au collège Rollin. *L'Automatisme psychologique*, essai sur les formes inférieures de l'activité mentale. 1 vol. 2^e édit. 1894. 7 fr. 50
- JAURÈS (J.). *De la réalité du Monde sensible*. 1 vol. 1892. 7 fr. 50
- LAUGEL (Auguste). *Les Problèmes (Problèmes de la nature, problèmes de la vie, problèmes de l'âme)*. 1 vol. 7 fr. 50
- LAVELEYE (de), correspondant de l'Institut. * *De la Propriété et de ses formes primitives*. 1 vol. 4^e édit. revue et augmentée. 10 fr.
 — * *Le Gouvernement dans la démocratie*. 2 vol. 2^e édit. 15 fr.
- LÉVY-BRUHL. *La Philosophie de Jacobi*. 1894. 5 fr.
- LIARD, directeur de l'enseignement supérieur. *Descartes*. 1 vol. 5 fr.
 — * *La Science positive et la Métaphysique*. 1 vol. 2^e édit. 7 fr. 50
- LOMBROSO. *L'Homme criminel (criminel-né, fou-moral, épileptique)*, précédé d'une préface de M. le docteur LETOURNEAU. 2^e éd. 2 vol. (sous presse).
 — *L'Homme de génie*, traduit sur la 8^e édition italienne par FR. COLONNA D'ISTRIA, et précédé d'une préface de M. CH. RICHER. 1 vol. avec 11 pl. hors texte. 10 fr.
- LOMBROSO et LASCHI. *Le Crime politique et les Révolutions*. 2 vol. avec planches hors texte. 45 fr.
- LYON (Georges), maître de conférences à l'École normale supérieure. * *L'Idéalisme en Angleterre au XVIII^e siècle*. 1 vol. 7 fr. 50
- MARION (H.), professeur à la Sorbonne. * *De la Solidarité morale*. Essai de psychologie appliquée. 1 vol. 3^e édit. 5 fr.
- MARTIN (Fr.), docteur ès lettres. *La perception extérieure et la science positive*, essai de philosophie des sciences. 1894. 5 fr.
- MATTHEW ARNOLD. *La Crise religieuse*. 1 vol. 7 fr. 50
- MAUDSLEY. *La Pathologie de l'esprit*. 1 vol. Trad. de l'ang. par M. Germont. 10 fr.
- MILHAUD (G.), docteur ès lettres. *Essai sur les conditions et les limites de la certitude logique*. 1894. 3 fr. 75
- NAVILLE (E.), correspond. de l'Institut. *La physique moderne*. 1 vol. 2^e édit. 5 fr.
 — *La Logique de l'hypothèse*. 2^e édit. 5 fr.
 — *La définition de la philosophie*. 1891. 5 fr.
- NORDAU (Max). * *Dégénérescence*, traduit de l'allemand par Aug. Dietrich. 3^e éd. 1895. Tome I. 7 fr. 50. Tome II. 10 fr.

Suite de la *Bibliothèque de philosophie contemporaine*, format in-8.

- NOVICOW. * *Les Luttés entre Sociétés humaines et leurs phases successives.* 1 vol. 1893. 10 fr.
- *Les gaspillages des sociétés modernes.* 1894. 5 fr.
- OLDENBERG, professeur à l'Université de Kiel. * *Le Bouddha, sa Vie, sa Doctrine, sa Communauté*, trad. par P. Foucher. Préf. de Lucien Lévy. 1 vol. 1894. 7 fr. 50
- PAULHAN (Fr.). *L'Activité mentale et les Éléments de l'esprit.* 1 vol. 10 fr.
- * *Les Caractères*, 1 vol. 1894. 5 fr.
- PAYOT (J.), agrégé de philosophie. * *L'Éducation de la volonté.* 1 vol. 3^e édit. 1895. 5 fr.
- PÉREZ (Bernard). *Les Trois premières années de l'enfant.* 1 vol. 5^e édit. 5 fr.
- *L'Enfant de trois à sept ans.* 1 vol. 3^e édit. 5 fr.
- *L'Éducation morale dès le berceau.* 1 vol. 2^e édit. 5 fr.
- *L'Art et la Poésie chez l'enfant.* 1 vol. 5 fr.
- *Le Caractère, de l'enfant à l'homme.* 1 vol. 5 fr.
- PICAVET (E.), maître de conférences à l'École des hautes études. * *Les Idéologues*, essai sur l'histoire des idées, des théories scientifiques, philosophiques, religieuses, etc., en France, depuis 1789. 1 vol. (Ouvr. couronné par l'Académie française.) 10 fr.
- PIDERIT. *La Mimique et la Physiognomonie.* Trad. de l'allemand par M. Giroit. 1 vol., avec 95 figures dans le texte. 5 fr.
- PILLON (F.), ancien red. de la *Critique philosophique*. * *L'Année philosophique*, 1^{re}, 2^e, 3^e, 4^e et 5^e années, 1890, 1891, 1892, 1893 et 1894. 5 vol. Chaque vol. séparément. 5 fr.
- PIOGER (J.). *La Vie et la Pensée*, essai de conception expérimentale. 1894. 1 v. 5 fr.
- *La vie sociale, la morale et le progrès.* 1894. 5 fr.
- PREYER, prof. à l'Université de Berlin. *Éléments de physiologie.* 5 fr.
- *L'Âme de l'enfant.* Observations sur le développement psychique des premières années. 1 vol., traduit de l'allemand par M. H. C. de Varigny. 10 fr.
- PROAL. * *Le Crime et la Peine.* 1 vol. 2^e édit. 1894. Ouvrage couronné par l'Académie des sciences morales et politiques. 10 fr.
- *La criminalité politique.* 1895. 5 fr.
- RAUH (F.), professeur à la Faculté des lettres de Toulouse. *Essai sur le fondement métaphysique de la morale.* 1 vol. 5 fr.
- RIBOT (Th.), prof. au Collège de France, dir. de la *Revue philosophique*. *L'Hérité* édit. psychologique. 1 vol. 5^e édit. 7 fr. 50
- * *La Psychologie anglaise contemporaine.* 1 vol. 3^e édit. 7 fr. 50
- * *La Psychologie allemande contemporaine.* 1 vol. 2^e éd. 7 fr. 50 (Voy. p. 3, 16.)
- RICARDOU (A.), docteur ès lettres. *De l'Idéal*, étude philosophique. 1 vol. Ouvrage couronné par l'Académie des sciences morales et politiques. 5 fr.
- RICHET (Ch.), professeur à la Faculté de médecine de Paris. *L'Homme et l'Intelligence.* Fragments de psychologie et de physiologie. 1 vol. 2^e édit. 10 fr.
- ROBERTY (E. de). *L'Ancienne et la Nouvelle philosophie.* 1 vol. 7 fr. 50
- * *La Philosophie du siècle (positivisme, criticisme, évolutionnisme).* 1 vol. 5 fr.
- ROMANES. * *L'Évolution mentale chez l'homme.* 1 vol. 7 fr. 50
- SAGEY (E.). *Les Sciences au XVIII^e siècle.* La Physique de Voltaire. 1 vol. 5 fr.
- SCHOPENHAUER. *Aphorismes sur la sagesse dans la vie.* 3^e édit. Traduit par M. Cantacuzène. 1 vol. 5 fr.
- *De la Quadruple racine du principe de la raison suffisante*, suivi d'une *Histoire de la doctrine de l'idéal et du réel.* Trad. par M. Cantacuzène. 1 vol. 5 fr.
- * *Le Monde comme volonté et comme représentation.* Traduit par M. A. Burdeau. 3 vol. Chacun séparément. 7 fr. 50
- SÉAILLES, maître de conf. à la Sorbonne. *Essai sur le génie dans l'art.* 1 v. 5 fr.
- SERGI, professeur à l'Université de Rome. *La Psychologie physiologique*, traduit de l'italien par M. Mouton. 1 vol. avec figures. 7 fr. 50
- SOLIER (Dr P.). * *Psychologie de l'idiot et de l'imbécile.* 1 vol. 5 fr.
- SOURIAU (Paul), professeur à la Faculté des lettres de Nancy. *L'Esthétique du mouvement.* 1 vol. 5 fr.
- * *La suggestion dans l'art.* 1 vol. 5 fr.
- STUART MILL. * *La Philosophie de Hamilton.* 1 vol. 10 fr.
- * *Mes Mémoires.* Histoire de ma vie et de mes idées. 1 vol. 3^e édit. 5 fr.
- * *Système de logique déductive et inductive.* 3^e édit. 2 vol. 20 fr.
- * *Essais sur la religion.* 2^e édit. 1 vol. 5 fr. (Voy. p. 3.)
- SULLY (James). *Le Pessimisme.* Traduit de l'anglais par MM. Bertrand et Gérard. 1 vol. 2^e édit. 7 fr. 50
- TARDE (G.). *La logique sociale.* 1895. 7 fr. 50
- VACHEROT (El.), de l'Institut. *Essais de philosophie critique.* 1 vol. 7 fr. 50
- *La Religion.* 1 vol. 7 fr. 50
- WUNDT, *Éléments de psychologie physiologique.* 2 vol. avec figures. 20 fr.

COLLECTION HISTORIQUE DES GRANDS PHILOSOPHES

PHILOSOPHIE ANCIENNE

- ARISTOTE (Œuvres d'), traduction de J. BARTHÉLEMY-SAINT-HILAIRE, de l'Institut.
- **Psychologie** (Opuscules), avec notes. 1 vol. in-8. 10 fr.
 - **Rhétorique**, avec notes. 2 vol. in-8. 16 fr.
 - **Politique**. 4 v. in-8. 10 fr.
 - **La Métaphysique d'Aristote**. 3 vol. in-8. 30 fr.
 - **Traité de la production et de la destruction des choses**, avec notes. 1 v. gr. in-8. 10 fr.
 - **De la Logique d'Aristote**, par M. BARTHÉLEMY-SAINT-HILAIRE. 2 vol. in-8. 10 fr.
 - **Table alphabétique des matières de la traduction générale d'Aristote**, par M. BARTHÉLEMY-SAINT-HILAIRE, 2 forts vol. in-8. 1892. 30 fr.
 - **L'Esthétique d'Aristote**, par M. BÉNARD. 1 vol. in-8. 1889. 5 fr.
- SOCRATE. * **La Philosophie de Socrate**, par Alf. FOUILLEE. 2 vol. in-8. 16 fr.
- **Le Procès de Socrate**. Examen des thèses socratiques, par G. SOREL. 1 vol. in-8. 3 fr. 50
- PLATON. **Études sur la Dialectique dans Platon et dans Hegel**, par Paul JANET. 1 vol. in-8. 6 fr.
- **Platon et Aristote**, par VAN DER REST. 1 vol. in-8. 10 fr.
- PLATON. * **Platon, sa philosophie**, précédé d'un aperçu de sa vie et de ses œuvres, par Ch. BÉNARD. 1 vol. in-8. 1893. 10 fr.
- ÉPICURE. * **La Morale d'Épicure et ses rapports avec les doctrines contemporaines**, par M. GUYAU. 1 vol.
- PHILOSOPHIE MODERNE
- LEIBNIZ. * **Œuvres philosophiques**, avec introduction et notes par Paul JANET. 2 vol. in-8. 16 fr.
- **Leibniz et Pierre le Grand**, par FOUCHER DE CAREIL. 1 v. in-8. 2 fr.
 - **Leibniz et les deux Sophie**, par FOUCHER DE CAREIL. In-8. 2 fr.
- DESCARTES, par L. LIARD. 1 v. in-8. 5 fr.
- **Essai sur l'Esthétique de Descartes**, par KRANTZ, doyen de la Faculté des lettres de Nancy. 1 v. in-8. 6 fr.
- SPINOZA. **Benedicti de Spinoza opera**, quotquot reperta sunt, recognoverunt J. Van Vloten et J.-P.-N. Land. 2 forts vol. in-8 sur papier
- lume in-8. 3^e édit. 7 fr. 50
- ÉCOLE D'ALEXANDRIE. * **Histoire de l'École d'Alexandrie**, par M. BARTHÉLEMY-ST-HILAIRE. 1 vol. in-8. 6 fr.
- BÉNARD. **La Philosophie ancienne**, histoire de ses systèmes. 1^{re} partie : *La Philosophie et la Sagesse orientales*. — *La Philosophie grecque avant Socrate*. — *Socrate et les socratiques*. — *Études sur les sophistes grecs*. 1 v. in-8. 9 fr.
- FABRE (Joseph). * **Histoire de la philosophie, antiquité et moyen âge**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- FAVRE (M^{me} Jules), née VELTEN. **La Morale des stoïciens**. 1 volume in-18. 3 fr. 50
- **La Morale de Socrate**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
 - **La Morale d'Aristote**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- OGEREAU. **Essai sur le système philosophique des stoïciens**. 1 vol. in-8. 5 fr.
- RODIER (G.), docteur ès lettres. * **La Physique de Straton de Lampsaque**. 1 vol. in-8. 3 fr.
- TANNERY (Paul), professeur suppléant au Collège de France. **Pour l'histoire de la science hellène (de Thalès à Empédocle)**. 1 v. in-8, 1887. 7 fr. 50
- BROCHARD (V.), professeur à la Sorbonne. * **Les Sceptiques grecs** (couronné pour l'Académie des sciences morales et politiques). 1 vol. in-8. 8 fr.
- MILHAUD (G.). * **Les origines de la science grecque**. 1 vol. in-8, 1893. 5 fr.
- de Hollande. 45 fr.
- **Inventaire des livres formant sa bibliothèque**, publié d'après un document inédit avec des notes biographiques et bibliographiques et une introduction par A.-J. SERVAAS VAN RYOJEN. 1 v. in-4 sur papier de Hollande. 15 fr.
- GEULINCK (Arnoldi). **Opera philosophica recognovit J.-P.-N. Land**, 3 volumes, sur papier de Hollande, gr. in-8. Chaque vol. ... 17 fr. 75
- GASSENDI. **La Philosophie de Gassendi**, par P.-F. THOMAS, docteur ès lettres, professeur au lycée de Versailles. 1 vol. in-8. 1889. 6 fr.

- HERBERT SPENCER. *Essais sur le progrès. 1 vol. in-8. 2^e éd. 7 fr. 50
 — Essais de politique. 1 vol. in-8. 2^e éd. 7 fr. 50
 — Essais scientifiques. 1 volume in-8. 7 fr. 50
 — Les Bases de la morale évolutionniste. 1 v. in-8. 5^e éd. 6 fr.
 — L'individu contre l'État. 1 vol. in-18. 4^e éd. 2 fr. 50
 BAIN. *Des sens et de l'intelligence. 1 vol. in-8. 10 fr.
 — Les Emotions et la Volonté. 1 vol. in-8. 10 fr.
 — *La Logique inductive et déductive. 2 v. in-8. 2^e éd. 20 fr.
 — * L'Esprit et le Corps. 1 vol. in-8, cartonné. 4^e éd. 6 fr.
 — *La Science de l'éducation 1 v. in-8, cartonné. 6^e éd. 6 fr.
 COLLINS (Howard). La Philosophie de Herbert Spencer. 1 vol. in-8. 2^e éd. 10 fr.
 DARWIN. * Descendance et Darwinisme, par Oscar SCHMIDT. 1 vol. in-8, cart. 5^e éd. 6 fr.
 — Le Darwinisme, par E. DE HARTMANN. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 FERRIER. Les Fonctions du Cerveau. 1 vol. in-8. 3 fr.
 CHARLTON BASTIAN. *Le Cerveau, organe de la pensée chez l'homme et les animaux. 2 vol. in-8. 12 fr.
 CARLYLE. L'Idéalisme anglais, étude sur Carlyle, par H. TAINÉ. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 BACHEHOT. * Lois scientifiques du développement des nations.
 PHILOSOPHIE ITALIENNE CONTEMPORAINE
 SICLIANI. La Psychogénèse moderne. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 ESPINAS. * La Philosophie expérimentale en Italie, origines, état actuel. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 MARIANO. La Philosophie contemporaine en Italie, essais de philosophie hégélienne. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 FERRI (Louis). La Philosophie de l'association depuis Hobbes jusqu'à nos jours. In-8. 7 fr. 50
 LEOPARDI. Opuscules et pensées. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 MOSSO. La Peur. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 — La fatigue intellectuelle et physique. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 MARIO PILO. Psychologie du beau et de l'art. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 LOMBRUSO. L'Homme criminel. 2 vol. in-8. Sous presse. 1 vol. in-8, cart. 4^e éd. 6 fr.
 DRAPER. Les Conflits de la science et de la religion. In-8. 7^e éd. 6 fr.
 HOBBS. La Philosophie de Hobbes par G. LYON. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 MATTHEW ARNOLD. La Crise religieuse. 1 vol. in-8. 7 fr. 50
 MAUDSLEY. *Le Crime et la Folie. 1 vol. in-8, cart. 5^e éd. 6 fr.
 MAUDSLEY. La Pathologie de l'esprit. 1 vol. in-8. 10 fr.
 FLINT. * La Philosophie de Histoire en Allemagne. 1 vol in-8. 7 fr. 50
 RIBOT (Th.). La Psychologie anglaise contemporaine. 3^e éd. 1 vol. in-8. 7 fr. 50
 LIARD. * Les Logiciens anglais contemporains. 1 vol. in-18. 2^e éd. 2 fr. 50
 GUYAU. * La Morale anglaise contemporaine. 1 vol. in-8. 4^e éd. 7 fr. 50
 HUXLEY. * Hume, sa vie, sa philosophie. 1 vol. in-8. 5 fr.
 JAMES SULLY. Le Pessimisme. 1 vol. in-8. 2^e éd. 7 fr. 50
 — Les Illusions des sens et de l'esprit. 1 vol. in-8, cart. 6 fr.
 CARRAU (L.). La Philosophie religieuse en Angleterre, depuis Locke jusqu'à nos jours. 1 volume in-8. 5 fr.
 LYON (Georges). L'Idéalisme en Angleterre au XVIII^e siècle. 1 vol. in-8. 5 fr.
 — La Philosophie de Hobbes. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 LOMBRUSO. L'Homme de génie, in-8. 40 fr.
 — L'Anthropologie criminelle, ses récents progrès. 1 volume in-18. 2^e éd. 2 fr. 50
 — Nouvelles observations d'anthropologie criminelle et de psychiatrie. 1 v. in-18. 2 fr. 50
 — Les Applications de l'anthropologie criminelle. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
 LOMBRUSO et LASCHI. Le Crime politique et les révolutions. 2 vol. in-8, avec pl. hors texte. 15 fr.
 MANTEGAZZA. La Physiologie et l'expression des sentiments. 2^e éd. 1 vol. in-8, cart. 6 fr.
 SERGI. La Psychologie physiologique. 1 vol. in-8. 7 fr. 50
 GAROFALO. La Criminologie. 1 volume in-8. 3^e éd. 7 fr. 50

OUVRAGES DE PHILOSOPHIE

PRESCRITS POUR L'ENSEIGNEMENT DES LYCÉES ET DES COLLÈGES

* COURS ÉLÉMENTAIRE DE PHILOSOPHIE

Suivi de Notions d'histoire de la Philosophie
et de Sujets de Dissertations donnés à la Faculté des lettres de Paris

Par **Émile BOIRAC**

Professeur de philosophie au lycée Condorcet.

1 vol. in-8, 8^e édition, 1895. Broché, 6 fr. 50. Cartonné à l'anglaise, 7 fr. 50

* LA DISSERTATION PHILOSOPHIQUE

Choix de sujets — Plans — Développement

PRÉCÉDÉ D'UNE INTRODUCTION SUR LES RÈGLES DE LA DISSERTATION PHILOSOPHIQUE

PAR LE MÊME

1 vol. in-8. 4^e édit. 1894. Broché, 6 fr. 50. Cartonné à l'anglaise, 7 fr. 50.

AUTEURS DEVANT ÊTRE EXPLIQUÉS DANS LA CLASSE DE PHILOSOPHIE

AUTEURS FRANÇAIS

*Ces auteurs français sont expliqués également dans la classe de première (lettres)
de l'enseignement moderne.*

- CONDILLAC.** — *Traité des Sensations*, livre I, avec notes, par Georges LYON, maître de conférences à l'École normale supérieure, docteur ès lettres. 1 vol. in-12..... 1 fr. 40
- DESCARTES.** — *Discours sur la Méthode*, avec notes, introduction et commentaires, par V. BROCHARD, directeur des conférences de philosophie à la Sorbonne. 1 vol. in-12. 4^e édition..... 1 fr. 25
- DESCARTES.** — *Les Principes de la philosophie*, livre I, avec notes, par LE MÊME. 1 vol. in-12, broché..... 1 fr. 25
- LEIBNIZ.** — *La Monadologie*, avec notes, introduction et commentaires, par D. NOLEN, directeur de l'Académie de Besançon. 1 vol. in-12. 2^e édit..... 2 fr.
- LEIBNIZ.** — *Nouveaux essais sur l'entendement humain*. Avant-propos et livre I, avec notes, par Paul JANET, de l'Institut, professeur à la Sorbonne. 1 vol. in-12..... 1 fr.
- MALEBRANCHE.** — *De la Recherche de la vérité*, livre II (*de l'Imagination*), avec notes, par Pierre JANET, ancien élève de l'École normale supérieure, professeur au collège Rollin. 1 vol. in-12..... 1 fr. 80
- PASCAL.** — *De l'Autorité en matière de philosophie.* — *De l'Esprit géométrique.* — *Entretien avec M. de Sacy*, avec notes, par ROBERT, professeur à la Faculté des lettres de Rennes. 1 vol. in-12. 2^e édit..... 1 fr.

AUTEURS LATINS

- CICÉRON.** — *De natura Deorum*, livre II, avec notes, par PIGAVET, agrégé de l'Université, professeur au collège Rollin. 1 vol. in-12..... 2 fr.
- CICÉRON.** — *De officiis*, livre I, avec notes, par E. BOIRAC, professeur agrégé au lycée Condorcet. 1 vol. in-12..... 1 fr. 40
- LUCRÈCE.** — *De natura rerum*, livre V, avec notes, par G. LYON, maître de conférences à l'École normale supérieure. 1 vol. in-12..... 1 fr. 50
- SÉNÈQUE.** — *Lettres à Lucilius* (les 16 premières), avec notes, par DAURIAC, ancien élève de l'École normale supérieure, professeur à la Faculté des lettres de Montpellier. 1 vol. in-12. 1 fr. 25

AUTEURS GRECS

- ARISTOTE.** — *Morale à Nicomaque*, livre X, avec notes, par L. CARRAU, professeur à la Sorbonne. 1 vol. in-12..... 1 fr. 25
- ÉPICTÈTE.** — *Manuel*, avec notes, par MONTARGIS, ancien élève de l'École normale supérieure, professeur de philosophie au lycée de Troyes. 1 vol. in-12..... 1 fr.
- PLATON.** — *La République*, livre VI, avec notes, par ESPINAS, ancien élève de l'École normale supérieure, professeur à la Faculté des lettres de Bordeaux. 1 vol. in-12..... 2 fr.
- XÉNOPHON.** — *Mémorables*, livre I, avec notes, par PENION, ancien élève de l'École normale supérieure, professeur à la Faculté des lettres de Lille. 1 vol. in-12..... 1 fr. 25

ÉLÉMENTS DE PHILOSOPHIE SCIENTIFIQUE ET DE PHILOSOPHIE MORALE

Suivis de sujets de Dissertations

Mathématiques élémentaires et Première (Sciences)

Par P. F. THOMAS, professeur de Philosophie au lycée Hoche
1 vol. in-8. Broché 3 fr. 50 — Cartonné à l'anglaise, 4 fr. 50

BIBLIOTHÈQUE D'HISTOIRE CONTEMPORAINE

Volumes in-12 brochés à 3 fr. 50. — Volumes in-8 brochés de divers prix

Cartonnage anglais, 50 cent. par vol. in-12; 1 fr. par vol. in-8. —

Demi-reliure, 1 fr. 50 par vol. in-12; 2 fr par vol. in-8.

EUROPE

- SYBEL (H. de).** * *Histoire de l'Europe pendant la Révolution française*, traduite de l'allemand par M^{lle} DOSQUET. Ouvrage complet en 6 vol. in-8. 42 fr.
DEBIDOUR, inspecteur général de l'Instruction publique. * *Histoire diplomatique de l'Europe, de 1815 à 1878*. 2 vol. in-8. (Ouvrage couronné par l'Institut.) 18 fr.

FRANCE

- AULARD**, professeur à la Sorbonne. * *Le Culte de la Raison et le Culte de l'Être suprême, étude historique (1793-1794)*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
 — * *Études et leçons sur la Révolution française*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
BLANC (Louis). *Histoire de Dix ans (1830-1840)*. 5 vol. in-8. 25 fr.
 — 25 pl. en taille-douce. Illustrations pour l'*Histoire de Dix ans*. 6 fr.
CARNOT (H.), sénateur. * *La Révolution française, résumé historique*. 1 volume in-12. Nouvelle édit. 3 fr. 50
ÉLIAS REGNAULT. *Histoire de Huit ans (1840-1848)*. 3 vol. in-8. 15 fr.
 — 14 planches en taille-douce. Illustrations pour l'*Histoire de Huit ans*. 4 fr.
GAFFAREL (P.), doyen de la Faculté des lettres de Dijon. * *Les Colonies françaises*. 1 vol. in-8. 5^e édit. 5 fr.
LAUGEL (A.). * *La France politique et sociale*. 1 vol. in-8. 5 fr.
ROCHAU (de). *Histoire de la Restauration*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
TAXILE DELORD. * *Histoire du second Empire (1848-1870)*. 6 v. in-8. 42 fr.
WAHL, inspecteur général de l'Instruction aux colonies. *L'Algérie*. 1 vol. in-8. 2^e édit. (Ouvrage couronné par l'Académie des sciences morales et politiques.) 5 fr.
LANESSAN (de). *L'Expansion coloniale de la France*. Étude économique, politique et géographique sur les établissements français d'outre-mer. 1 fort vol. in-8, avec cartes. 1886. 12 fr.
 — *L'Indo-Chine française*. Étude économique, politique et administrative sur la Cochinchine, le Cambodge, l'Annam et le Tonkin. (Ouvrage couronné par la Société de géographie commerciale de Paris, médaille Duplex.) 1 vol. in-8, avec 5 cartes en couleurs hors texte. 15 fr.
SILVESTRE (J.). *L'Empire d'Annam et les Annamites*, publié sous les auspices de l'administration des colonies. 1 vol. in-12, avec 1 carte de l'Annam. 3 fr. 50

ANGLETERRE

- BAGEHOT (W.)**. * *Lombard-street. Le Marché financier en Angleterre*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
LAUGEL (Aug.). * *Lord Palmerston et lord Russel*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
SIR CORNEWAL LEWIS. * *Histoire gouvernementale de l'Angleterre depuis 1770 jusqu'à 1830*. Traduit de l'anglais. 1 vol. in-8. 7 fr.
REYNALD (H.), doyen de la Faculté des lettres d'Aix. * *Histoire de l'Angleterre depuis la reine Anne jusqu'à nos jours*. 1 volume in-12. 2^e édit. 3 fr. 50
THACKERAY. * *Les Quatre George*. 1 vol. in-12. 3 fr. 50

ALLEMAGNE

- SIMON (Ed.)**. * *L'Allemagne et la Russie au XIX^e siècle*. 1 volume in-12. 3 fr. 50
VERON (Eug.). * *Histoire de la Prusse, depuis la mort de Frédéric II jusqu'à la bataille de Sadowa*. 1 vol. in-12. 6^e édit., augmentée d'un chapitre nouveau contenant le résumé des événements jusqu'à nos jours, par P. BONDOIS, professeur agrégé d'histoire au lycée Buffon. 3 fr. 50
 — * *Histoire de l'Allemagne, depuis la bataille de Sadowa jusqu'à nos jours*. 1 volume in-12. 3^e édition, mise au courant des événements par P. BONDOIS. 3 fr. 50

BOURLOTON (Ed.). * **L'Allemagne contemporaine.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50

AUTRICHE-HONGRIE

ASSELINE (L.). * **Histoire de l'Autriche, depuis la mort de Marie-Thérèse jusqu'à nos jours.** 1 vol. in-12. 3^e édit. 3 fr. 50
SAYOÛS (Ed.), professeur à la Faculté des lettres de Toulouse. **Histoire des Hongrois et de leur littérature politique, de 1790 à 1815.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50

ITALIE

SORIN (Élie). **Histoire de l'Italie, depuis 1815 jusqu'à la mort de Victor-Emmanuel.** 1 vol. in-12. 1888. 3 fr. 50
GAFFAREL (P.), doyen de la Faculté des lettres de Dijon. **Bonaparte et les Républiques italiennes (1796-1799).** 1895. 1 vol. in-8^e. 5 fr.

ESPAGNE

REYNALD (H.). * **Histoire de l'Espagne, depuis la mort de Charles III jusqu'à nos jours.** 1 vol. in-12. 3 fr. 50

RUSSIE

CRÉHANGE (M.), agrégé de l'Université. **Histoire contemporaine de la Russie.** 1 vol. in-12. 3 fr. 50

SUISSE

DAENDLIKER. * **Histoire du peuple suisse.** Trad. de l'allemand par M^{me} Jules FAVRE et précédé d'une Introduction de M. Jules FAVRE. 1 volume in-8. 5 fr.

GRÈCE & TURQUIE

BÉRARD. * **La Turquie et l'Hellénisme contemporain,** 1 v. in-12. 3 fr. 50

AMÉRIQUE

DEBERLE (Alf.). **Histoire de l'Amérique du Sud, depuis sa conquête jusqu'à nos jours.** 1 vol. in-12. 2^e édit. 3 fr. 50
LAUGEL (Aug.). * **Les États-Unis pendant la guerre 1861-1864. Souvenirs personnels.** 1 vol. in-12, cartonné. 4 fr.

BARNI (Jules). * **Histoire des idées morales et politiques en France au dix-huitième siècle.** 2 vol. in-12. Chaque volume. 3 fr. 50
— * **Les Moralistes français au dix-huitième siècle.** 1 vol. in-12 faisant suite aux deux précédents. 3 fr. 50
BEAUSSIRE (Émile), de l'Institut. **La Guerre étrangère et la Guerre civile.** 1 vol. in-12. 3 fr. 50
DESPOIS (Eug.). * **Le Vandalisme révolutionnaire.** Fondations littéraires, scientifiques et artistiques de la Convention. 4^e édition, précédée d'une notice sur l'auteur par M. Charles BICOT. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
CLAMAGERAN (J.), sénateur. * **La France républicaine.** 1 volume in-12. 3 fr. 50
GUÉROULT (Georges). * **Le Centenaire de 1789, évolution politique, philosophique, artistique et scientifique de l'Europe depuis cent ans.** 1 vol. in-12. 1889. 3 fr. 50
LAVELEYE (E. de), correspondant de l'Institut. **Le Socialisme contemporain.** 1 vol. in-12. 9^e édit. augmentée. 3 fr. 50
MARCELLIN PELLET, ancien député. **Variétés révolutionnaires.** 3 vol. in-12, précédés d'une préface de A. RANG. Chaque vol. séparém. 3 fr. 50
SPULLER (E.), sénateur, ministre de l'Instruction publique. * **Figures disparues, portraits contemporains, littéraires et politiques.** 3 vol. in-12. Chacun séparément. 3 fr. 50
— **Histoire parlementaire de la deuxième République.** 1 volume in-12. 2^e édit. 3 fr. 50
— * **Éducation de la démocratie.** 1 vol. in-12. 1892. 3 fr. 50
— **L'Évolution politique et sociale de l'Église.** 1 vol. in-12. 1893. 3 fr. 50
BOURDEAU (J.). * **Le Socialisme allemand et le Nihilisme russe.** 1 vol. in-12. 2^e édit. 1894. 3 fr. 50
DÉPASSE (Hector). **Transformations sociales.** 1891. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
REINACH (J.), député. **Pages républicaines.** 1894. 1 vol. in-12. 3 fr. 50

BIBLIOTHÈQUE INTERNATIONALE D'HISTOIRE MILITAIRE

VOLUMES PETIT IN-8 DE 250 A 400 PAGES

AVEC CROQUIS DANS LE TEXTE

Chaque volume cartonné à l'anglaise..... 5 francs.

VOLUMES PUBLIÉS :

1. — Précis des campagnes de Gustave-Adolphe en Allemagne (1630-1632), précédé d'une Bibliographie générale de l'histoire militaire des temps modernes.
2. — Précis des campagnes de Turenne (1644-1675).
3. — Précis de la campagne de 1805 en Allemagne et en Italie.
4. — Précis de la campagne de 1815 dans les Pays-Bas.
5. — Précis de la campagne de 1859 en Italie.
6. — Précis de la guerre de 1866 en Allemagne et en Italie.
7. — Précis des campagnes de 1796 et 1797 en Italie et en Allemagne.

(Recommandé pour les candidats à l'École spéciale militaire de Saint-Cyr.)

BIBLIOTHÈQUE HISTORIQUE ET POLITIQUE

- DESCHANEL (E.), sénateur, professeur au Collège de France. * **Le Peuple et la Bourgeoisie.** 1 vol. in-8, 2^e édit. 5 fr.
- DU CASSE. **Les Bois frères de Napoléon I^{er}.** 1 vol. in-8. 10 fr.
- LOUIS BLANG. **Discours politiques (1848-1881).** 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- PHILIPPSON. **La Contre-révolution religieuse au XVI^e siècle.** 1 vol. in-8. 40 fr.
- HENRARD (P.). **Henri IV et la princesse de Condé.** 1 vol. in-8. 6 fr.
- NOVICOW. **La Politique internationale.** 1 fort vol. in-8. 7 fr.
- REINACH (Joseph), député. * **La France et l'Italie devant l'histoire (1893).** 1 vol. in-8. 5 fr.
- LORIA (A.). **Les Bases économiques de la constitution sociale.** 1 vol. in-8. 1893. 7 fr. 50

PUBLICATIONS HISTORIQUES ILLUSTRÉES

- HISTOIRE ILLUSTRÉE DU SECOND EMPIRE**, par Taxile DELORD.
6 vol. in-8 colombier avec 500 gravures de FERAT, FR. REGAMEY, etc.
Chaque vol. broché, 8 fr. — Cart. doré, tr. dorées. 11 fr. 50
- HISTOIRE POPULAIRE DE LA FRANCE**, depuis les origines jusqu'en 1815. — Nouvelle édition. — 4 vol. in-8 colombier avec 1323 gravures sur bois dans le texte. Chaque vol. broché, 7 fr. 50. — Cart. toile, tranches dorées. 11 fr.
- HISTOIRE CONTEMPORAINE DE LA FRANCE**, depuis 1815 jusqu'à la fin de la guerre du Mexique. — Nouvelle édition. — 4 vol. in-8 colombier avec 1033 gravures dans le texte. Chaque vol. broché, 7 fr. 50. — Cart. toile, tranches dorées. 11 fr.

De Saint-Louis à Tripoli

Par le Lac Tchad

Par le Commandant MONTEIL

1 beau volume in-8 colombier, précédé d'une préface de M. de Vogüé, de l'Académie française, illustrations de Riou. 1895. 20 fr.

RECUEIL DES INSTRUCTIONS

DONNÉES

AUX AMBASSADEURS ET MINISTRES DE FRANCE

DEPUIS LES TRAITÉS DE WESTPHALIE JUSQU'À LA RÉVOLUTION FRANÇAISE

Publié sous les auspices de la Commission des archives diplomatiques
au Ministère des Affaires étrangères.

Beaux volumes in-8 raisin, imprimés sur papier de Hollande.

- I. — AUTRICHE, avec Introduction et notes, par M. Albert SOREL, de l'Académie française..... 20 fr.
- II. — SUEDE, avec Introduction et notes, par M. A. GEFFROY, membre de l'Institut..... 20 fr.
- III. — PORTUGAL, avec Introduction et notes, par le vicomte DE CAIX DE SAINT-AYMOUR..... 20 fr.
- IV et V. — POLOGNE, avec Introduction et notes, par M. LOUIS FARGES, 2 vol..... 30 fr.
- VI. — ROME, avec Introduction et notes, par M. G. HANOTAUX. 20 fr.
- VII. — BAVIÈRE, PALATINAT ET DEUX-PONTS, avec Introduction et notes, par M. André LEBON..... 25 fr.
- VIII et IX. — RUSSIE, avec Introduction et notes, par M. Alfred RAMBAUD, Professeur à la Sorbonne. 2 vol. Le 1^{er} vol. 20 fr. Le second vol. 25 fr.
- X. — NAPLES ET PARME, avec Introduction et notes par M. Joseph REINACH..... 20 fr.
- XI. — ESPAGNE, avec introduction et notes par MM. MOREL-FATIO et LÉONARDON, 1 vol. in-8..... 20 fr.

INVENTAIRE ANALYTIQUE

DES

ARCHIVES DU MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉTRANGÈRES

PUBLIÉ

Sous les auspices de la Commission des archives diplomatiques

- I. — Correspondance politique de MM. de CASTILLON et de MARILLAC, ambassadeurs de France en Angleterre (1538-1540), par M. JEAN KAULEK, avec la collaboration de MM. Louis Farges et Germain Lefèvre-Pontalis. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort.. 45 fr.
- II. — Papiers de BARTHELEMY, ambassadeur de France en Suisse, de 1792 à 1797 (année 1792), par M. Jean KAULEK. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort..... 45 fr.
- III. — Papiers de BARTHELEMY (janvier-août 1793), par M. Jean KAULEK. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort..... 45 fr.
- IV. — Correspondance politique de ODET DE SELVE, ambassadeur de France en Angleterre (1546-1549), par M. G. LEFÈVRE-PONTALIS. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort..... 45 fr.
- V. — Papiers de BARTHELEMY (septembre 1793 à mars 1794), par M. Jean KAULEK. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort..... 48 fr.
- VI. — Papiers de BARTHELEMY (avril 1794 à février 1795), par M. Jean KAULEK. 1 beau vol. in-8 raisin sur papier fort 20 fr.
- VII. — Papiers de BARTHELEMY (mars 1795 à septembre 1796). *Négociations de la paix de Bâle*, par M. Jean KAULEK. 1 beau volume in-8 raisin sur papier fort..... 20 fr.

Correspondance des Beys d'Alger avec la Cour de France (1759-1833), recueillie par Eug. PLANTET, attaché au Ministère des Affaires étrangères. 2 vol. in-8 raisin avec 2 planches en taille-douce hors texte. 30 fr.

Correspondance des Beys de Tunis et des Consuls de France avec la Cour (1577-1830), recueillie par Eug. PLANTET, publiée sous les auspices du Ministère des Affaires étrangères. TOME I. 1 fort vol. in-8 raisin. 45 fr

TOME II. 1 fort vol. in-8 raisin..... 20 fr.

REVUE PHILOSOPHIQUE

DE LA FRANCE ET DE L'ÉTRANGER

Dirigée par Th. RIBOT

Professeur au Collège de France.

(20^e année, 1895.)

La REVUE PHILOSOPHIQUE paraît tous les mois, par livraisons de 7 feuilles grand in-8, et forme ainsi à la fin de chaque année deux forts volumes d'environ 680 pages chacun.

CHAQUE NUMÉRO DE LA REVUE CONTIENT :

1^o Plusieurs articles de fond; 2^o des analyses et comptes rendus des nouveaux ouvrages philosophiques français et étrangers; 3^o un compte rendu aussi complet que possible des publications périodiques de l'étranger pour tout ce qui concerne la philosophie; 4^o des notes, documents, observations, pouvant servir de matériaux ou donner lieu à des vues nouvelles.

Prix d'abonnement :

Un an, pour Paris, 30 fr. — Pour les départements et l'étranger, 33 fr.

La livraison..... 3 fr.

Les années écoulées se vendent séparément 30 francs, et par livraisons de 3 francs.

Table générale des matières contenues dans les 12 premières années (1876-1887), par M. BÉLUGOU. 1 vol. in-8..... 3 fr.

REVUE HISTORIQUE

Dirigée par G. MONOD

Maître de conférences à l'École normale, directeur à l'École des hautes études.

(20^e année, 1895.)

La REVUE HISTORIQUE paraît tous les deux mois, par livraisons grand in-8 de 15 ou 16 feuilles, et forme à la fin de l'année trois beaux volumes de 500 pages chacun.

CHAQUE LIVRAISON CONTIENT :

I. Plusieurs articles de fond, comprenant chacun, s'il est possible, un travail complet. — II. Des *Mélanges et Variétés*, composés de documents inédits d'une étendue restreinte et de courtes notices sur des points d'histoire curieux ou mal connus. — III. Un *Bulletin historique* de la France et de l'étranger, fournissant des renseignements aussi complets que possible sur tout ce qui touche aux études historiques. — IV. Une *Analyse des publications périodiques* de la France et de l'étranger, au point de vue des études historiques. — V. Des *Comptes rendus critiques* des livres d'histoire nouveaux.

Prix d'abonnement :

Un an, pour Paris, 30 fr. — Pour les départements et l'étranger, 33 fr.

La livraison..... 6 fr.

Les années écoulées se vendent séparément 30 francs, et par fascicules de 6 francs. Les fascicules de la 1^{re} année se vendent 9 francs.

Tables générales des matières contenues dans les dix premières années de la Revue historique.

- | | | |
|--|-------|----|
| I. — Années 1876 à 1880, par M. CHARLES BÉMONT. 1 vol. in-8. | 3 fr. | » |
| Pour les abonnés. | 1 fr. | 50 |
| II. — Années 1881 à 1885, par M. RENÉ COUDERC. 1 vol. in-8. | 3 fr. | » |
| Pour les abonnés. | 1 fr. | 50 |
| III. — Années 1886 à 1890. 1 vol. in-8, 5 fr.; pour les abonnés. | 2 fr. | 50 |

ANNALES DE L'ÉCOLE LIBRE
DES
SCIENCES POLITIQUES
RECUEIL TRIMESTRIEL

Publié avec la collaboration des professeurs et des anciens élèves de l'École.
(Dixième année, 1895)

COMITÉ DE REDACTION :

M. Émile BOUTMY, de l'Institut, directeur de l'École; M. Léon SAY, de l'Académie française, ancien ministre des Finances; M. ALF. DE FOVILLE, chef du bureau de statistique au ministère des Finances, professeur au Conservatoire des arts et métiers; M. R. STOURM, ancien inspecteur des Finances et administrateur des Contributions indirectes; M. Alexandre RIBOT, député; M. Gabriel ALIX; M. E. RENAULT, professeur à la Faculté de droit; M. André LEBON, député; M. Albert SOREL, de l'Académie française; M. A. VANDAL, auditeur de 1^{re} classe au Conseil d'État; A. RAMBAUD, professeur à la Sorbonne; Directeurs des groupes de travail, professeurs à l'École.

Secrétaire de la rédaction : M. Aug. ARNAUNÉ, docteur en droit.

Les sujets traités dans les *Annales* embrassent tout le champ couvert par le programme d'enseignement de l'École : *Economie, politique, finances, statistique, histoire constitutionnelle, droit international, public et privé, droit administratif, législations civile et commerciale privées, histoire législative et parlementaire, histoire diplomatique, géographie économique, ethnographie, etc.*

MODE DE PUBLICATION ET CONDITIONS D'ABONNEMENT

Les *Annales de l'École libre des sciences politiques* paraissent tous les trois mois (15 janvier, 15 avril, 15 juillet et 15 octobre), par fascicules gr. in-8 de 186 pages chacun.

Un an (du 15 janvier) : Paris, 18 fr. ; départements et étranger, 19 fr.

La livraison, 5 francs.

Les trois premières années (1886-1887-1888) se vendent chacune 16 francs, la quatrième année (1889) et les suivantes se vendent chacune 18 francs.

Revue mensuelle de l'École d'Anthropologie de Paris

(5^e année, 1895)

PUBLIÉE PAR LES PROFESSEURS :

MM. A. BORDIER (Géographie médicale), Mathias DUVAL (Anthropogénie et Embryologie), Georges HERVÉ (Anthropologie zoologique), J.-V. LABORDE (Anthropologie biologique), André LEFÈVRE (Ethnographie et Linguistique), Ch. LETOURNEAU (Sociologie), MANOUVRIER (Anthropologie physiologique), MAHOUDEAU (Anthropologie histologique), Adr. de MORTILLET (Ethnographie comparée), Gabr. de MORTILLET (Anthropologie préhistorique), HOVELACQUE, Directeur du comité d'administration de l'École.

Cette revue paraît tous les mois depuis le 15 janvier 1891, chaque numéro formant une brochure in-8 raisin de 32 pages, et contenant une leçon d'un des professeurs de l'École, avec figures intercalées dans le texte et des analyses et comptes rendus des faits, des livres et des revues périodiques qui doivent intéresser les personnes s'occupant d'anthropologie.

ABONNEMENT : France et Étranger, 10 fr. — Le Numéro, 1 fr.

ANNALES DES SCIENCES PSYCHIQUES

Dirigées par le D^r DARIEX

(5^e année, 1895)

Les ANNALES DES SCIENCES PSYCHIQUES ont pour but de rapporter, avec force preuves à l'appui, toutes les observations écriées qui leur seront adressées, relatives aux faits soi-disant occultes 1^o de télépathie, de lucidité, de pressentiment; 2^o de mouvements d'objets, d'apparitions objectives. En dehors de ces chapitres de faits sont publiées des théories se bornant à la discussion des bonnes conditions pour observer et expérimenter; des analyses, bibliographies, critiques, etc.

Les ANNALES DES SCIENCES PSYCHIQUES paraissent tous les deux mois par numéros de quatre feuilles in-8 carré (64 pages), depuis le 15 janvier 1891.

ABONNEMENT : Pour tous pays, 12 fr. — Le Numéro, 2 fr. 50.

BIBLIOTHÈQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE

Publiée sous la direction de M. Émile ALGLAVE

La *Bibliothèque scientifique internationale* est une œuvre dirigée par les auteurs mêmes, en vue des intérêts de la science, pour la populariser sous toutes ses formes, et faire connaître immédiatement dans le monde entier les idées originales, les directions nouvelles, les découvertes importantes qui se font chaque jour dans tous les pays. Chaque savant expose les idées qu'il a introduites dans la science et condense pour ainsi dire ses doctrines les plus originales.

On peut ainsi, sans quitter la France, assister et participer au mouvement des esprits en Angleterre, en Allemagne, en Amérique, en Italie, tout aussi bien que les savants mêmes de chacun de ces pays.

La *Bibliothèque scientifique internationale* ne comprend pas seulement des ouvrages consacrés aux sciences physiques et naturelles; elle aborde aussi les sciences morales, comme la philosophie, l'histoire, la politique et l'économie sociale, la haute législation, etc.; mais les livres traitant des sujets de ce genre se rattachent encore aux sciences naturelles, en leur empruntant les méthodes d'observation et d'expérience qui les ont rendues si fécondes depuis deux siècles.

Cette collection paraît à la fois en français, en anglais, en allemand et en italien : à Paris, chez Félix Alcan; à Londres, chez C. Kegan, Paul et Co; à New-York, chez Appleton; à Leipzig, chez Brockhaus; à Milan, chez Dumolard frères.

LISTE DES OUVRAGES PAR ORDRE D'APPARITION

81 VOLUMES IN-8, CARTONNÉS A L'ANGLAISE. CHAQUE VOLUME : 6 FRANCS.

1. J. TYNDALL. * *Les Glaciers et les Transformations de l'eau*, avec figures. 1 vol. in-8. 6^e édition. 6 fr.
2. BAGEHOT. * *Lois scientifiques du développement des nations dans leurs rapports avec les principes de la sélection naturelle et de l'hérédité*. 1 vol. in-8. 5^e édition. 6 fr.
3. MAREY. * *La Machine animale, locomotion terrestre et aérienne*, avec de nombreuses fig. 1 vol. in-8. 5^e édit. augmentée. 6 fr.
4. BAIN. * *L'Esprit et le Corps*. 1 vol. in-8. 5^e édition. 6 fr.
5. PETTIGREW. * *La Locomotion chez les animaux, marche, natation*. 1 vol. in-8, avec figures. 2^e édit. 6 fr.
6. HERBERT SPENCER. * *La Science sociale*. 1 v. in-8. 11^e édit. 6 fr.
7. SCHMIDT (O.). * *La Descendance de l'homme et le Darwinisme*. 1 vol. in-8, avec fig. 6^e édition. 6 fr.
8. MAUDSLEY. * *Le Crime et la Folie*. 1 vol. in-8. 6^e édit. 6 fr.
9. VAN BENEDEK. * *Les Commensaux et les Parasites dans le règne animal*. 1 vol. in-8, avec figures. 3^e édit. 6 fr.
10. BALFOUR STEWART. *La Conservation de l'énergie*, suivi d'une Étude sur la *nature de la force*, par M. P. de SAINT-ROBERT, avec figures. 1 vol. in-8. 5^e édition. 6 fr.
11. DRAPER. *Les Conflits de la science et de la religion*. 1 vol. in-8. 8^e édition. 6 fr.
12. L. DUMONT. * *Théorie scientifique de la sensibilité*. 1 vol. in-8. 4^e édition. 6 fr.
13. SCHUTZENBERGER. *Les Fermentations*. 1 vol. in-8. avec fig. 5^e édit. 6 fr.
14. WHITNEY. * *La Vie du langage*. 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.

15. COOKE et BERKELEY. * *Les Champignons*. 1 vol. in-8, avec figures. 4^e édition. 6 fr.
16. BERNSTEIN. * *Les Sens*. 1 vol. in-8, avec 91 fig. 5^e édit. 6 fr.
17. BERTHELOT. * *La Synthèse chimique*. 1 vol. in-8, 6^e édit. 6 fr.
18. VOGEL. * *La Photographie et la Chimie de la lumière*, avec 95 figures. 1 vol. in-8. 4^e édition. *Épuisé*.
19. LUYB. * *Le Cerveau et ses fonctions*, avec figures. 1 vol. in-8. 7^e édition. 6 fr.
20. STANLEY JEVONS. * *La Monnaie et le Mécanisme de l'échange*. 1 vol. in-8. 5^e édition. 6 fr.
21. FUCHS. * *Les Volcans et les Tremblements de terre*. 1 vol. in-8, avec figures et une carte en couleur. 5^e édition. 6 fr.
22. GÉNÉRAL BRIALMONT. * *Les Camps retranchés et leur rôle dans la défense des États*, avec fig. dans le texte et 2 planches hors texte. 4^e édit. *Sous presse*.
23. DE QUATREFAGES. * *L'Espèce humaine*. 1 v. in-8. 11^e édit. 6 fr.
24. BLASERNA et HELMHOLTZ. * *Le Son et la Musique*. 1 vol. in-8, avec figures. 5^e édition. 6 fr.
25. ROSENTHAL. * *Les Nerfs et les Muscles*. 1 vol. in-8, avec 75 figures. 3^e édition. *Épuisé*.
26. BRÜCKE et HELMHOLTZ. * *Principes scientifiques des beaux-arts*. 1 vol. in-8, avec 39 figures. 4^e édition. 6 fr.
27. WURTZ. * *La Théorie atomique*. 1 vol. in-8. 6^e édition. 6 fr.
- 28-29. SECCHI (le père). * *Les Étoiles*. 2 vol. in-8, avec 63 figures dans le texte et 17 pl. en noir et en couleur hors texte. 2^e édit. 12 fr.
30. JOLY. * *L'Homme avant les métaux*. 1 vol. in-8, avec figures. 4^e édition. 6 fr.
31. A. BAIN. * *La Science de l'éducation*. 1 vol. in-8. 8^e édit. 6 fr.
- 32-33. THURSTON (R.). * *Histoire de la machine à vapeur*, précédée d'une Introduction par M. HIRSCH. 2 vol. in-8, avec 140 figures dans le texte et 16 planches hors texte. 3^e édition. 12 fr.
34. HARTMANN (R.). * *Les Peuples de l'Afrique*. 1 vol. in-8, avec figures. 2^e édition. 6 fr.
35. HERBERT SPENCER. * *Les Bases de la morale évolutionniste*. 1 vol. in-8. 4^e édition. 6 fr.
36. HUXLEY. * *L'Écrevisse*, introduction à l'étude de la zoologie. 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
37. DE ROBERTY. * *De la Sociologie*. 1 vol. in-8. 3^e édition. 6 fr.
38. ROOD. *Théorie scientifique des couleurs*. 1 vol. in-8, avec figures et une planche en couleur hors texte. 6 fr.
39. DE SAPORTA et MARION. *L'Évolution du règne végétal (les Cryptogames)*. 1 vol. in-8 avec figures. 6 fr.
- 40-41. CHARLTON BASTIAN. * *Le Cerveau, organe de la pensée chez l'homme et chez les animaux*. 2 vol. in-8, avec figures. 2^e éd. 12 fr.
42. JAMES SULLY. *Les Illusions des sens et de l'esprit*. 1 vol. in-8, avec figures. 2^e édit. 6 fr.
43. YOUNG. * *Le Soleil*. 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
44. DE CANDOLLE. * *L'Origine des plantes cultivées*. 3^e édition. 1 vol. in-8. 6 fr.
- 45-46. SIR JOHN LUBBOCK. * *Fourmis, abeilles et guêpes*. Études expérimentales sur l'organisation et les mœurs des sociétés d'insectes hyménoptères. 2 vol. in-8, avec 65 figures dans le texte et 13 planches hors texte, dont 5 coloriées. 12 fr.
47. PERRIER (Edm.). *La Philosophie zoologique avant Darwin*. 1 vol. in-8. 2^e édition. 6 fr.
48. STALLO. * *La Matière et la Physique moderne*. 1 vol. in-8, 2^e éd., précédé de l'Introduction par Ch. FRIEDEL. 6 fr.

49. MANTEGAZZA. **La Physionomie et l'Expression des sentiments.** 1 vol. in-8, 2^e édit., avec huit planches hors texte. 6 fr.
50. DE MEYER. **Les Organes de la parole et leur emploi pour la formation des sons du langage.** 1 vol. in-8, avec 54 figures, précédé d'une Introd. par M. O. CLAVEAU. 6 fr.
51. DE LANESSAN. ***Introduction à l'Étude de la botanique (le Sapin).** 1 vol. in-8, 2^e édit., avec 143 figures dans le texte. 6 fr.
- 52-53. DE SAPORTA et MARION. ***L'Évolution du règne végétal (les Phanérogames).** 2 vol. in-8, avec 136 figures. 12 fr.
54. TROUSSART. **Les Microbes, les Ferments et les Moisissures.** 1 vol. in-8, 2^e édit., avec 107 figures dans le texte. 6 fr.
55. HARTMANN (R.). ***Les Singes anthropoïdes, et leur organisation comparée à celle de l'homme.** 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
56. SCHMIDT (O.). **Les Mammifères dans leurs rapports avec leurs ancêtres géologiques.** 1 vol. in-8 avec 51 figures. 6 fr.
57. BINET et FÈRE. **Le Magnétisme animal.** 1 vol. in-8, 3^e éd. 6 fr.
- 58-59. ROMANES. **L'Intelligence des animaux.** 2 v. in-8, 2^e édit. 12 fr.
60. F. LAGRANGE. ***Physiologie des exercices du corps.** 1 vol. in-8, 6^e édition. 6 fr.
61. DREYFUS. ***Évolution des mondes et des sociétés.** 1 vol. in-8, 3^e édit. 6 fr.
62. DAUBRÉE. ***Les Régions invisibles du globe et des espaces célestes.** 1 vol. in-8 avec 85 fig. dans le texte. 2^e éd. 6 fr.
- 63-64. SIR JOHN LUBBOCK. ***L'Homme préhistorique.** 2 vol. in-8, avec 228 figures dans le texte. 3^e édit. 12 fr.
65. RICHTER (Ch.). **La Chaleur animale.** 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
66. FALSAN (A.). ***La Période glaciaire principalement en France et en Suisse.** 1 vol. in-8, avec 105 figures et 2 cartes. 6 fr.
67. BEAUNIS (H.). **Les Sensations Internes.** 1 vol. in-8. 6 fr.
68. CARTAILHAC (E.). **La France préhistorique, d'après les sépultures et les monuments.** 1 vol. in-8, avec 162 figures. 2^e éd. 6 fr.
69. BERTHELOT. ***La Révolution chimique, Lavoisier.** 1 vol. in-8. 6 fr.
70. SIR JOHN LUBBOCK. ***Les Sens et l'instinct chez les animaux, principalement chez les insectes.** 1 vol. in-8, avec 150 figures. 6 fr.
71. STARCKE. ***La Famille primitive.** 1 vol. in-8. 6 fr.
72. ARLOING. ***Les Virus.** 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
73. TOPINARD. ***L'Homme dans la Nature.** 1 vol. in-8, avec fig. 6 fr.
74. BINET (Aif.). ***Les Altérations de la personnalité.** 1 vol. in-8 avec figures. 6 fr.
75. DE QUATREFAGES (A.). ***Darwin et ses précurseurs français.** 1 vol. in-8, 2^e édition refondue. 6 fr.
76. LEFÈVRE (A.). ***Les Races et les langues.** 1 vol. in-8. 6 fr.
- 77-78. DE QUATREFAGES. ***Les Emules de Darwin.** 2 vol. in-8 avec préfaces de MM. E. PERRIER et HAMY. 12 fr.
79. BRUNACHE (P.). **Le Centre de l'Afrique. Autour du Tchad.** 1894. 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
80. ANGOT (A.). **Les Aurores polaires.** 1 vol. in-8, avec figures. 6 fr.
81. JACCARD. **Le pétrole, le bitume et l'asphalte au point de vue géologique.** 1 vol. in 8 avec figures. 6 fr.

OUVRAGES SOUS PRESSE :

- MEUNIER (Stan.). **La Géologie comparée.** 1 vol. in-8, avec figures.
- DUMESNIL. **L'hygiène de la maison.** 1 vol. in-8, avec figures.
- ROCHÉ. **La Culture des mers.**
- CORNIL ET VIDAL. **La microbiologie.** 1 vol. in-8, avec figures.
- GUIGNET. **Poterles, verres et émaux.** 1 vol. in-8, avec figures.

LISTE PAR ORDRE DE MATIÈRES

DES 82 VOLUMES PUBLIÉS

DE LA BIBLIOTHÈQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE

Chaque volume in-8, cartonné à l'anglaise. . . . 6 francs.

SCIENCES SOCIALES

- * **Introduction à la science sociale**, par HERBERT SPENCER. 1 vol. in-8. 10^e édit. 6 fr.
- * **Les Bases de la morale évolutionniste**, par HERBERT SPENCER. 1 vol. in-8. 4^e édit. 6 fr.
- Les Conflits de la science et de la religion**, par DRAPER, professeur à l'Université de New-York. 1 vol. in-8. 8^e édit. 6 fr.
- Le Crime et la Folie**, par H. MAUDSLEY, professeur de médecine légale à l'Université de Londres. 1 vol. in-8. 5^e édit. 6 fr.
- * **La Monnaie et le Mécanisme de l'échange**, par W. STANLEY JEVONS, professeur à l'Université de Londres. 1 vol. in-8. 5^e édit. 6 fr.
- * **La Sociologie**, par DE ROBERTY. 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.
- * **La Science de l'éducation**, par Alex. BAIN, professeur à l'Université d'Aberdeen (Écosse). 1 vol. in-8. 7^e édit. 6 fr.
- * **Lois scientifiques du développement des nations dans leurs rapports avec les principes de l'hérédité et de la sélection naturelle**, par W. BACZNOT. 1 vol. in-8. 5^e édit. 6 fr.
- * **La Vie du langage**, par D. WHITNEY, professeur de philologie comparée à Yale-College de Boston (États-Unis). 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.
- * **La Famille primitive**, par J. STARCKE, professeur à l'Université de Copenhague. 1 vol. in-8. 6 fr.

PHYSIOLOGIE

- Les Illusions des sens et de l'esprit**, par James SULLY. 1 vol. in-8. 2^e édit. 6 fr.
- * **La Locomotion chez les animaux (marche, natation et vol)**, suivie d'une étude sur *l'Histoire de la navigation aérienne*, par J.-B. PETTIEREKW, professeur au Collège royal de chirurgie d'Edimbourg (Écosse). 1 vol. in-8, avec 140 figures dans le texte. 2^e édit. 6 fr.
- * **La Machine animale**, par E.-J. MAREY, membre de l'Institut, prof. au Collège de France. 1 vol. in-8, avec 117 figures. 4^e édit. 6 fr.
- * **Les Sens**, par BERNSTEIN, professeur de physiologie à l'Université de Halle (Prusse). 1 vol. in-8, avec 91 figures dans le texte. 4^e édit. 6 fr.
- Les Organes de la parole**, par H. DE MEYER, professeur à l'Université de Zurich, traduit de l'allemand et précédé d'une introduction sur *l'Enseignement de la parole aux sourds-muets*, par O. CLAVEAU, inspecteur général des établissements de bienfaisance. 1 vol. in-8, avec 51 grav. 6 fr.
- La Physionomie et l'Expression des sentiments**, par P. MANTEGAZZA, professeur au Muséum d'histoire naturelle de Florence. 1 vol. in-8, avec figures et 8 planches hors texte. 6 fr.
- * **Physiologie des exercices du corps**, par le docteur F. LAGRANGE. 1 vol. in-8. 6^e édit. Ouvrage couronné par l'Institut. 6 fr.
- La Chaleur animale**, par CH. RICHTER, professeur de physiologie à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. in-8, avec figures dans le texte. 6 fr.
- Les Sensations internes**, par H. BEAUNIS, directeur du laboratoire de psychologie physiologique à la Sorbonne. 1 vol. in-8. 6 fr.
- * **Les Virus**, par M. ARLOING, professeur à la Faculté de médecine de Lyon, directeur de l'école vétérinaire. 1 vol. in-8, avec fig. 6 fr.

PHILOSOPHIE SCIENTIFIQUE

- * **Le Cerveau et ses fonctions**, par J. LOTS, membre de l'Académie de médecine, médecin de la Charité. 1 vol. in-8, avec fig. 7^e édit. 6 fr.
- * **Le Cerveau et la Pensée chez l'homme et les animaux**, par CHARLTON BASTIAN, professeur à l'Université de Londres. 2 vol. in-8 avec 184 fig. dans le texte. 2^e édit. 12 fr.
- * **Le Crime et la Folie**, par H. MAUDSLEY, professeur à l'Université de Londres. 1 vol. in-8. 6^e édit. 6 fr.
- * **L'Esprit et le Corps, considérés au point de vue de leurs relations, suivi d'études sur les Erreurs généralement répandues au sujet de l'esprit**, par Alex. BAIN, prof. à l'Université d'Aberdeen (Écosse). 1 v. in-8. 4^e éd. 6 fr.

- * **Théorie scientifique de la sensibilité : le Plaisir et la Peine**, par LÉON DUMONT. 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.
- La Matière et la Physique moderne**, par STALLO, précédé d'une préface par M. Ch. FRIEDEL, de l'Institut. 1 vol. in-8. 2^e édit. 6 fr.
- Le Magnétisme animal**, par Alf. BINET et Ch. FÉRÉ. 1 vol. in-8, avec figures dans le texte. 3^e édit. 6 fr.
- L'Intelligence des animaux**, par ROMANES. 2 v. in-8. 2^e édit. précédée d'une préface de M. E. PERRIER, prof. au Muséum d'histoire naturelle. 12 fr.
- * **L'Évolution des mondes et des sociétés**, par C. DREYFUS. 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.
- * **Les Altérations de la personnalité**, par Alf. BINET, directeur adjoint du laboratoire de psychologie à la Sorbonne (Hautes études). 1 vol. in-8, avec gravures. 6 fr.

ANTHROPOLOGIE

- * **L'Espèce humaine**, par A. DE QUATREFAGES, de l'Institut, professeur au Muséum d'histoire naturelle de Paris. 1 vol. in-8. 10^e édit. 6 fr.
- Ch. Darwin et ses précurseurs français**, par A. DE QUATREFAGES. 1 vol. in-8. 2^e édition. 6 fr.
- Les Émules de Darwin**, par A. DE QUATREFAGES, avec une préface de M. EDM. PERRIER, de l'Institut, et une notice sur la vie et les travaux de l'auteur par E.-T. HAMY, de l'Institut. 2 vol. in-8. 12 fr.
- * **L'Homme avant les métaux**, par N. JOLY, correspondant de l'Institut. 1 vol. in-8, avec 150 gravures. 4^e édit. 6 fr.
- * **Les Peuples de l'Afrique**, par R. HARTMANN, professeur à l'Université de Berlin. 1 vol. in-8, avec 93 figures dans le texte. 2^e édit. 6 fr.
- Les Singes anthropoïdes et leur organisation comparée à celle de l'homme**, par R. HARTMANN, professeur à l'Université de Berlin. 1 vol. in-8, avec 63 figures gravées sur bois. 6 fr.
- * **L'Homme préhistorique**, par SIR JOHN LUBBOCK, membre de la Société royale de Londres. 2 vol. in-8, avec 228 gravures dans le texte. 3^e édit. 12 fr.
- La France préhistorique**, par E. CARTAILHAC. 1 vol. in-8, avec 150 gravures dans le texte. 2^e édit. 6 fr.
- * **L'Homme dans la Nature**, par TOPINARD, ancien secrétaire général de la Société d'Anthropologie de Paris. 1 vol. in-8, avec 101 gravures. 6 fr.
- * **Les Races et les Langues**, par André LEFÈVRE, professeur à l'École d'Anthropologie de Paris. 1 vol. in-8. 6 fr.
- Le centre de l'Afrique. Autour du Tchad**, par P. BRUNACHE, administrateur à Ain-Fezza. 1 vol. in-8 avec gravures. 6 fr.

ZOOLOGIE

- La Descendance de l'homme et le Darwinisme**, par O. SCHMIDT, professeur à l'Université de Strasbourg. 1 vol. in-8, avec figures. 6^e édit. 6 fr.
- Les Mammifères dans leurs rapports avec leurs ancêtres géologiques**, par O. SCHMIDT. 1 vol. in-8, avec 51 figures dans le texte. 6 fr.
- * **Fourmis, Abeilles et Guêpes**, par sir JOHN LUBBOCK, membre de la Société royale de Londres. 2 vol. in-8, avec figures dans le texte, et 13 planches hors texte dont 5 coloriées. 12 fr.
- * **Les Sens et l'instinct chez les animaux**, et principalement chez les insectes, par Sir JOHN LUBBOCK. 1 vol. in-8 avec grav. 6 fr.
- * **L'Écrevisse**, introduction à l'étude de la zoologie, par Th.-H. HUXLEY, membre de la Société royale de Londres et de l'Institut de France, professeur d'histoire naturelle à l'École royale des mines de Londres. 1 vol. in-8, avec 82 figures dans le texte. 6 fr.
- * **Les Commensaux et les Parasites dans le règne animal**, par P.-J. VAN BENEDEN, professeur à l'Université de Louvain (Belgique). 1 vol. in-8, avec 82 figures dans le texte. 3^e édit. 6 fr.
- La Philosophie zoologique avant Darwin**, par EDMOND PERRIER, de l'Institut, professeur au Muséum d'histoire naturelle de Paris. 1 vol. in-8. 2^e édit. 6 fr.
- Darwin et ses précurseurs français**, par A. de QUATREFAGES, de l'Institut. 1 vol. in-8. 2^e édit. 6 fr.

BOTANIQUE — GÉOLOGIE

- * **Les Champignons**, par COOKÈ et BERKELEY. 1 v. in-8, avec 110 fig. 4^e édit. 6 fr.
- * **L'Évolution du règne végétal**, par C. de SAPORTA, correspondant de l'Institut, et MARION, correspondant de l'Institut, professeur à la Faculté des sciences de Marseille :
- 1. **Les Cryptogames**. 1 vol. in-8, avec 85 figures dans le texte. 6 fr.

- * II. *Les Phanérogames*. 2 vol. in-8, avec 136 fig. dans le texte. 12 fr.
- * *Les Volcans et les Tremblements de terre*, par FUCHS, professeur à l'Université de Heidelberg. 1 vol. in-8, avec 36 figures et une carte en couleur. 5^e édition. 6 fr.
- * *La Période glaciaire*, principalement en France et en Suisse, par A. FALSAN, 1 vol. in-8, avec 105 gravures et 2 cartes hors texte. 6 fr.
- * *Les Régions invisibles du globe et des espaces célestes*, par A. DAUBREE, de l'Institut, professeur au Muséum d'histoire naturelle. 1 vol. in-8, 2^e édit., avec 89 gravures dans le texte. 6 fr.
- Le Pétrole, l'Asphalte et le Bitume, par M. JACCARD, professeur à l'Académie de Neuchâtel (Suisse). 1 vol. in-8 avec figures. 6 fr.
- * *L'Origine des plantes cultivées*, par A. DE CANDOLLE, correspondant de l'Institut. 1 vol. in-8. 3^e édit. 6 fr.
- * *Introduction à l'étude de la botanique (Le Sapin)*, par J. DE LANESSAN, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. in-8. 2^e édit., avec figures dans le texte. 6 fr.
- * *Microbes, Ferments et Moisissures*, par le docteur L. TROUËSSART. 1 vol. in-8, avec 108 figures dans le texte. 2^e éd. 6 fr.

CHIMIE

- Les Fermentations*, par P. SCHOTZENBERGER, membre de l'Académie de médecine, prof. de chimie au Collège de France. 1 v. in-8, avec fig. 5^e édit. 6 fr.
- * *La Synthèse chimique*, par M. BERTHELOT, secrétaire perpétuel de l'Académie des sciences, professeur de chimie organique au Collège de France. 1 vol. in-8. 6^e édit. 6 fr.
- * *La Théorie atomique*, par Ad. WURTZ, membre de l'Institut, professeur à la Faculté des sciences et à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. in-8. 6^e édit., précédée d'une introduction sur *la Vie et les Travaux de l'auteur*, par M. Ch. FRIEDEL, de l'Institut. 6 fr.
- * *La Révolution chimique (Lavoisier)*, par M. BERTHELOT. 1 vol. in-8. 6 fr.

ASTRONOMIE — MÉCANIQUE

- * *Histoire de la Machine à vapeur, de la Locomotive et des Bateaux à vapeur*, par R. THURSTON, professeur de mécanique à l'Institut technique de Hoboken, près de New-York, revue, annotée et augmentée d'une Introduction par M. HIRSCH, professeur de machines à vapeur à l'École des ponts et chaussées de Paris. 2 vol. in-8, avec 160 figures dans le texte et 16 planches tirées à part. 3^e édit. 12 fr.
- * *Les Étoiles*, notions d'astronomie sidérale, par le P. A. SECCHI, Directeur de l'Observatoire du Collège Romain. 2 vol. in-8, avec 68 figures dans le texte et 16 planches en noir et en couleurs. 2^e édit. 12 fr.
- * *Le Soleil*, par C.-A. YOUNG, professeur d'astronomie au Collège de New-Jersey. 1 vol. in-8, avec 87 figures. 6 fr.
- Les Aurores polaires*, par A. ANGOT, membre du Bureau central météorologique de France. 1 vol. in-8 avec figures. 6 fr.

PHYSIQUE

- La Conservation de l'énergie*, par BALFOUR STEWART, professeur de physique au collège Owens de Manchester (Angleterre), 1 vol. in-8 avec figures. 4^e édit. 6 fr.
- * *Les Glaciers et les Transformations de l'eau*, par J. TYNDALL, suivi d'une étude sur le même sujet, par HELMHOLTZ, professeur à l'Université de Berlin. 1 vol. in-8, avec figures dans le texte et 8 planches tirées à part. 5^e édit. 6 fr.
- * *La Matière et la Physique moderne*, par STALLO, précédé d'une préface par Ch. FRIEDEL, membre de l'Institut. 1 vol. in-8. 2^e édit. 6 fr.

THÉORIE DES BEAUX-ARTS

- * *Le Son et la Musique*, par P. BLASERNA, prof. à l'Université de Rome, suivi des *Causes physiologiques de l'harmonie musicale*, par H. HELMHOLTZ, prof. à l'Université de Berlin. 1 vol. in-8, avec 41 fig. 4^e édit. 6 fr.
- * *Principes scientifiques des Beaux-Arts*, par E. BRÜCKE, professeur à l'Université de Vienne, suivi de *l'Optique et les Arts*, par HELMHOLTZ, prof. à l'Université de Berlin. 1 vol. in-8, avec fig. 4^e édit. 6 fr.
- * *Théorie scientifique des couleurs et leurs applications aux arts et à l'industrie*, par O. N. ROOD, professeur à Columbia-College de New-York. 1 vol. in-8, avec 130 figures et une planche en couleurs. 6 fr.

PUBLICATIONS

HISTORIQUES, PHILOSOPHIQUES ET SCIENTIFIQUES

qui ne se trouvent pas dans les collections précédentes.

- ~~~~~
- Actes du 1^{er} Congrès international d'anthropologie criminelle de Rome.** Biologie et sociologie. 1887. 1 vol. gr. in-8. 15 fr.
- AGUILERA.** L'idée de droit en Allemagne depuis Kant jusqu'à nos jours. 1 vol. in-8. 1892. 5 fr.
- ALAUX.** Esquisse d'une philosophie de l'être. In-8. 4 fr.
- **Les Problèmes religieux au XIX^e siècle.** 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- **Philosophie morale et politique,** in-8. 1893. 7 fr. 50 (Voy. p. 2.)
- ALGLAVE.** Des Juridictions civiles chez les Romains. 1 vol. in-8. 2 fr. 50
- ALTMAYER (J.-J.).** Les Précurseurs de la réforme aux Pays-Bas. 2 forts volumes in-8. 42 fr.
- ARNAUDÉ (A.).** La monnaie, le crédit et le change. 1894. 1 vol. in-8. 7 fr.
- ARRÉAT.** Une Éducation intellectuelle. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
- **Journal d'un philosophe.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50 (Voy. p. 2 et 4.)
- Autonomie et fédération.** 1 vol. in-18. 4 fr.
- AZAM.** Entre la raison et la folie. Les Toqués. Gr. in-8. 1894. 4 fr.
- **Hypnotisme et double conscience,** avec préfaces et lettres de MM. PAUL BERT, CHARGOT et RIBOT. 1 vol. in-8. 1893. 9 fr.
- BAETS (Abbé M. de).** Les Bases de la morale et du droit. In-8. 6 fr.
- BAUFOR STEWART et TAIT.** L'Univers invisible. 1 vol. in-8. 7 fr.
- BARBÉ (É.).** Le nabab René Madec. Histoire diplomatique des projets de la France sur le Bengale et le Pendjab (1772-1808). 1894. 1 vol. in-8. 5 fr.
- BARNI.** Les Martyrs de la libre pensée. 1 vol. in-18. 2^e édit. 3 fr. 50 (Voy. p. 4; KANT, p. 8; p. 13 et 31.)
- BARTHÉLEMY SAINT-HILAIRE.** (Voy. pages 2, 4 et 7, ARISTOTE.)
- BAUTAIN (Abbé).** La Philosophie morale. 2 vol. in-8. 42 fr.
- BEAUNIS (H.).** Impressions de campagne (1870-1871). In-18. 3 fr. 50
- BÉNARD (Ch.).** Philosophie dans l'éducation classique. In-8. 6 fr. (Voy. p. 7, ARISTOTE; p. 8, SCHELLING et HEGEL.)
- BERTAULD.** De la Méthode. Méthode spinoziste et méthode hégélienne. 2^e édition. 1891. 1 vol in-18. 3 fr. 50
- **Méthode spiritualiste.** Étude critique des preuves de l'existence de Dieu. 2^e édition. 2 vol. in-18. 7 fr.
- **Esprit et liberté.** 1 vol. in-18. 1892. 3 fr. 50
- BLANQUI.** Critique sociale. 2 vol. in-18. 7 fr.
- BOILLEY (P.).** La Législation internationale du travail. In-12. 3 fr.
- BONJEAN (A.).** L'Hypnotisme, ses rapports avec le droit, la thérapeutique, la suggestion mentale. 1 vol. in-18. 1890. 3 fr.
- BOUCHARDAT.** Le Travail, son influence sur la santé. In-18. 2 fr. 50
- BOUCHER (A.).** Darwinisme et socialisme. 1890. In-8. 4 fr. 25
- BOURBON DEL MONTE.** L'Homme et les animaux. 1 vol. in-8. 5 fr.
- BOURDEAU (Louis).** Théorie des sciences. 2 vol. in-8. 20 fr.
- **Les Forces de l'industrie.** 1 vol. in-8. 5 fr.
- **La Conquête du monde animal.** In-8. 5 fr.
- **La Conquête du monde végétal.** 1893. In-8. 5 fr.
- **L'Histoire et les historiens.** 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- **Histoire de l'alimentation.** 1894. 1 vol. in-8. 5 fr. (Voy. p. 4.)
- BOURDET (Eug.).** Principes d'éducation positive. In-18. 3 fr. 50
- **Vocabulaire de la philosophie positive.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50

- BOURLOTON (Edg.) et ROBERT (Edmond). **La Commune et ses idées à travers l'histoire.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50 (Voy. p. 13.)
- BUCHNER. **Essai biographique sur Léon Dumont.** In-18. 2 fr.
- Bulletins de la Société de psychologie physiologique.** 1^{re} année. 1885. 1 broch. in-8, 1 fr. 50. — 2^e année, 1886, 1 broch. in-8, 3 fr. — 3^e année, 1887, 1 fr. 50. — 4^e année, 1888, 1 fr. 50; — 5^e année, 1889, 1 fr. 50; — 6^e année, 1890. 1 fr. 50
- CARDON (G.). **Les Fondateurs de l'Université de Douai.** In-8. 10 fr.
- CELLARIER (F.). **Études sur la raison.** 1 vol. in-12. 3 fr.
- **Rapports du relatif et de l'absolu.** 1 vol. in-18. 4 fr.
- CLAMAGERAN. * **L'Algérie.** 3^e édit. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **La Réaction économique et la démocratie.** 1 v. in-8. 1891, 1 fr. 25 (Voy. p. 13.)
- CLAVEL (D^r). **La Morale positive.** 1 vol. in-8. 3 fr.
- **Critique et conséquences des principes de 1789.** In-18. 3 fr.
- **Les Principes au XIX^e siècle.** In-18. 4 fr.
- COMBARIER (J.). **Les rapports de la musique et de la poésie considérés au point de vue de l'expression.** 1893. 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- CONTA. **Théorie du fatalisme.** 1 vol. in-18. 4 fr.
- **Introduction à la métaphysique.** 1 vol. in-18. 3 fr.
- COQUEREL fils (Athanas). **Libres études.** 1 vol. in-8. 5 fr.
- CORTAMBERT (Louis). **La Religion du progrès.** In-18. 3 fr. 50
- COSTE (Ad.). **Hygiène sociale contre le paupérisme.** In-8. 6 fr.
- **Les Questions sociales contemporaines** (avec la collaboration de MM. A. BURDEAU et ARRÉAT). 1 fort vol. in-8. 10 fr.
- **Nouvel exposé d'économie politique et de physiologie sociale.** In-18. 3 fr. 50 (Voy. p. 2 et 32.)
- DAURIAC. **Sens commun et raison pratique.** 1 br. in-8. 1 fr. 50
- **Croyance et réalité.** 1 vol. in-18. 1889. 3 fr. 50
- **Le Réalisme de Reid.** In-8. 1 fr.
- **Introduction à la psychologie du musicien.** 1891. 1 br. in-8. 1 fr.
- DAVY. **Les Conventiionnels de l'Eure.** 2 forts vol. in-8. 18 fr.
- DELBOEUF. **Examen critique de la loi psychophysique.** In-18. 3 fr. 50
- **Le Sommeil et les rêves.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **De l'Étendue de l'action curative de l'hypnotisme. L'hypnotisme appliqué aux altérations de l'organe visuel.** In-8. 1 fr. 50
- **Le Magnétisme animal, visite à l'École de Nancy.** In-8. 2 fr. 50
- **Magnétiseurs et médecins.** 1 vol. in-8. 1890. 2 fr.
- **Les Fêtes de Montpellier.** In-8. 1891. 2 fr.
- **Megamicros.** 1 br. in-8. 1893. 1 fr. 50 (Voy. p. 2.)
- DELMAS. **Libres pensées** (littérature et morale). 1 vol. in-8. 2 fr. 50
- DENEUS (Cl.). **De la réserve héréditaire des enfants** (art. 913 du Code civil). Étude historique, philosophique et économique. 1893. 1 vol. in-8. 5 fr.
- DESCHAMPS. **La Philosophie de l'écriture.** 1 vol. in-8. 1892. 3 fr.
- DESDOUITS. **La philosophie de l'inconscient.** 1893. 1 vol. in-8. 3 fr.
- DIDE. * **Jules Barni, sa vie, son œuvre.** 1 v. in-18, 1891. 2 fr. 50
- DOLLFUS (Ch.). **Lettres philosophiques.** In-18. 3 fr.
- **Considérations sur l'histoire.** In-8. 7 fr. 50
- **L'Âme dans les phénomènes de conscience.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- DUBOST (Antonin). **Des conditions de gouvernement en France.** 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- DUBUC (P.). * **Essai sur la méthode en métaphysique.** 1 vol. in-8. 5 fr.
- DUFAY. **Études sur la destinée.** 1 vol. in-18. 3 fr.
- DUNAN. **Sur les formes a priori de la sensibilité.** 1 vol. in-8. 5 fr.

- DUNAN. **Les Arguments de Zénon d'Élée contre le mouvement.**
1 br. in-8. 1 fr. 50
- DURAND-DÉSORMEAUX. **Réflexions et Pensées.** In-8. 2 fr. 50
- **Études philosophiques, l'action, la connaissance.** 2 vol. in-8. 15 fr.
- DU TASTA. **Le Capitalisme Vallé.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- DUVAL-JOUVE. **Traité de logique.** 1 vol. in-8. 6 fr.
- DUVERGIER DE HAURANNE (M^{me} E.). **Histoire populaire de la Révolution française.** 1 vol. in-18. 3^e édit. 3 fr. 50
- Éléments de science sociale.** 1 vol. in-18. 4^e édit. 3 fr. 50
- ESCANDE. **Hoche en Irlande (1795-1798).** 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- FABRE (Joseph). **Histoire de la philosophie.** Première partie : Antiquité et Moyen âge. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
- FAU. **Anatomie des formes du corps humain, à l'usage des peintres et des sculpteurs.** 1 atlas de 25 planches avec texte. 2^e édition. Prix, figures noires, 15 fr. ; fig. coloriées. 30 fr.
- FAUCONNIER. **Protection et libre-échange.** In-8. 2 fr. — **La Morale et la religion dans l'enseignement.** 75 c. — **L'Or et l'Argent.** In-8. 2 fr. 50
- FEDERICI. **Les Lois du progrès.** 2 vol. in-8. Chacun. 6 fr.
- FERRIERE (Em.). **Les Apôtres, essai d'histoire religieuse.** 1 vol. in-12. 4 fr. 50
- **L'Âme est la fonction du cerveau.** 2 volumes in-18. 7 fr.
- **Le Paganisme des Hébreux jusqu'à la captivité de Babylone.** 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **La Matière et l'énergie.** 1 vol. in-18. 4 fr. 50
- **L'Âme et la vie.** 1 vol. in-18. 4 fr. 50
- **Les Erreurs scientifiques de la Bible.** 1 vol. in-18. 1891. 3 fr. 50
- **Les Mythes de la Bible.** 1 vol. in-18. 1893. 3 fr. 50 (Voy. p. 32.)
- FERRON (de). **Institutions municipales et provinciales dans les différents États de l'Europe. Comparaison. Réformes.** 1 vol. in-8. 8 fr.
- **Théorie du progrès.** 2 vol. in-18. 7 fr.
- **De la Division du pouvoir législatif en deux Chambres.** In-8. 8 fr.
- FLOURNOY. **Des phénomènes de synopsie.** In-8. 1893. 6 fr.
- FOX (W.-J.). **Des Idées religieuses.** In-8. 3 fr.
- GAYTE (Claude). **Essai sur la croyance.** 1 vol. in-8. 3 fr.
- GOBLET D'ALVIELLA. **L'Idée de Dieu, d'après l'anthr. et l'histoire.** In-8. 6 fr.
- GOURD. **Le Phénomène.** 1 vol. in-8. 7 fr. 50
- GRASSERIE (R. de la). **De la classification objective et subjective des arts, de la littérature et des sciences.** 1 vol. in-8. 5 fr.
- **Des moyens pratiques pour parvenir à la suppression de la paix armée et de la guerre.** 1 vol. in-8. 1894. 2 fr.
- GREEF (Guillaume de). **Introduction à la Sociologie.** 2 vol. in-8. Chacun. 6 fr. (Voy. p. 2.)
- GRESLAND. **Le Génie de l'homme, libre philosophie.** Gr. in-8. 7 fr.
- GRIMAUD (Ed.). * **Lavotsier (1748-1794), d'après sa correspondance et divers documents inédits.** 1 vol. gr. in-8 avec gravures. 1888. 15 fr.
- GRIVEAU (M.). **Les Éléments du beau.** Préface de M. SULLY-PRUDHOMME. In-18, avec 60 fig. 1893. 4 fr. 50
- GUILLAUME (de Moisse). **Traité des sensations.** 2 vol. in-8. 12 fr.
- GUILLY. **La Nature et la Morale.** 1 vol. in-18. 2^e édit. 2 fr. 50
- GUYAU. **Vers d'un philosophe.** In-18. 3 fr. 50 (Voy. p. 2, 5, 7 et 10.)
- HAYEM (Armand). **L'Être social.** 1 vol. in-18. 2^e édit. 2 fr. 50
- HENRY (Ch.). **Lois générales des réactions psycho-motrices.** In-8. 2 fr.
- **Cercle chromatique, avec introduction sur la théorie générale de la dynamogénie, grand in-folio cartonné.** 40 fr.
- HENRY (Ch.). **Rapporteur esthétique avec notice sur ses applications à l'art industriel, à l'histoire de l'art, à la méthode graphique.** 20 fr.

- HERZEN. *Récits et Nouvelles*. In-18. 3 fr. 50 — *De l'autre rive*. In-18. 3 fr. 50. — *Lettres de France et d'Italie*. In-18. 3 fr. 50
- HIRTH (G.). *La Vue plastique, fonction de l'écorce cérébrale*. In-8. Trad. de l'allemand par L. ARRÉAT, avec grav. et 34 pl. 8 fr. (Voy. p. 5.)
- *Les localisations cérébrales en psychologie. Pourquoi sommes-nous distraits?* 1 vol. in-8. 1895. 2 fr.
- HUXLEY.* *La Physiographie*, introduction à l'étude de la nature, traduit et adapté par M. G. LAMY. 1 vol. in-8. 2^e éd., avec fig. 8 fr. (Voy. p. 5 et 32.)
- ISSAURAT. *Moments perdus de Pierre-Jean*. 1 vol. in-18. 3 fr.
- *Les Alarmes d'un père de famille*. In-8. 1 fr.
- JANET (Paul). *Le Médiateur plastique de Cudworth*. 1 vol. in-8. 4 fr. (Voy. p. 3, 5, 7, 8, 9 et 11.)
- JEANMAIRE. *La Personnalité dans la psychologie moderne*. In-8. 5 fr.
- JOIRE. *La Population, richesse nationale; le Travail, richesse du peuple*. 1 vol. in-8. 5 fr.
- JOYAU. *De l'invention dans les arts et dans les sciences*. 1 v. in-8. 5 fr.
- *Essai sur la liberté morale*. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- *La Théorie de la grâce et la liberté morale de l'homme*. 1 vol. in-8. 2 fr. 50
- JOZON (Paul). *De l'Écriture phonétique*. In-18. 3 fr. 50
- KINGSFORD (A.) et MAITLAND (E.). *La Voie parfaite ou le Christ ésotérique, précédé d'une préface d'Edouard SCHURE*. 1 vol. in-8. 1892. 6 fr.
- KLEFFLER (H.). *Science et conscience ou théorie de la force progressive*. 1894. 2 vol. in-8. Chacun. 4 fr.
- KOVALEVSKY. *L'Ivrognerie, ses causes, son traitement*. 1 v. in-18. 1 fr. 50
- LABORDE. *Les Hommes et les Actes de l'insurrection de Paris devant la psychologie morbide*. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
- LACGROND. *L'Univers, la force et la vie*. 1 vol. in-8. 2 fr. 50
- LA LANDELLE (de). *Alphabet phonétique*. In-18. 2 fr. 50
- LANGLOIS. *L'Homme et la Révolution*. 2 vol. in-18. 7 fr.
- LAUSSEDAT. *La Suisse. Études méd. et sociales*. In-18. 3 fr. 50
- LAVELEYE (Em. de). *De l'avent des peuples catholiques*. In-8. 25 c.
- *Lettres sur l'Italie (1878-1879)*. In-18. 3 fr. 50
- *L'Afrique centrale*. 1 vol. in-12. 3 fr.
- *La Péninsule des Balkans*. 2^e édit. 2 vol. in-12. 1888. 10 fr.
- *La Monnaie et le bimétallisme international*. 1 vol. in-18. 2^e édition. 1891. 3 fr. 50
- *Essais et Études*. Première série (1861-1875). 1 vol. in-8. 1894. 7 fr. 50 (Voy. p. 5 et 13.)
- LEDRU-ROLLIN. *Discours politiques et écrits divers*. 2 vol. in-8. 12 fr.
- LECOYT. *Le Suicide*. 1 vol. in-8. 8 fr.
- LETAINTURIER (J.). *Le socialisme devant le bon sens*. 1894. 1 vol. in-18. 4 fr. 50
- LOURDEAU. *Le Sénat et la Magistrature*. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- MAGY. *De la Science et de la nature*. 1 vol. in-8. 6 fr.
- MANACÉINE (Marie de). *L'anarchie passive et le comte Léon Tolstoï*. 1 vol. in-18. 2 fr.
- MAINDRON (Ernest).* *L'Académie des sciences (Histoire de l'Académie; fondation de l'Institut national; Bonaparte, membre de l'Institut)*. 1 beau vol. in-8 cavalier, avec 53 gravures dans le texte, portraits, plans, etc. 8 planches hors texte et 2 autographes. 12 fr.
- MALON (Benoit). *Le Socialisme intégral*. Première partie : *Histoire des théories et tendances générales*. 1 vol. grand in-8, avec portrait de l'auteur. 2^e éd. 1892. 6 fr. — Deuxième partie : *Des réformes possibles et des moyens pratiques*. 1 vol. grand in-8. 1892. 6 fr.
- *Précis théorique, historique et pratique de socialisme (lundi socialistes)*. 1 vol. in-12. 1892. 3 fr. 50
- Manuel d'hygiène athlétique* (publ. de la Soc. des Sports athl.). 1895. 1 vol. in-32. 0 fr. 50
- MARAI. *Garibaldi et l'armée des Vespes*. In-18. 1 fr. 50

- MARSAUCHE (L.). La Confédération helvétique d'après la constitution**, préface de M. Frédéric Passy. 1 vol. in-18. 1891. 3 fr. 50
- MASSERON (I.). Danger et nécessité du socialisme**. In-18. 3 fr. 50
- MATHIEU (H.). Un peu de philosophie naturaliste**. In-18. 2 fr. 50
- MENIÈRE. Cicéron médecin**. 1 vol. in-18. 4 fr. 50
- **Les Consultations de M^{me} de Sévigné**. 1 vol. in-8. 3 fr.
- MICHAUT (N.). De l'Imagination**. 1 vol. in-8. 5 fr.
- MILSAND. Les Études classiques**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **Le Code et la Liberté**. In-8. 2 fr. (Voy. p. 3.)
- MORIN (Miron). Essais de critique religieuse**. 1 fort vol. in-8. 5 fr.
- MORIN (Frédéric). Politique et philosophie**. 1 v. in-18. 3 fr. 50 (V. p. 32.)
- NAUDIER (Fernand). Le socialisme et la révolution sociale**. 1894. 4 vol. in-18. 3 fr. 50
- NETTER (A.) La Parole intérieure et l'âme**. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
- NIVELET. Loisirs de la vieillesse**. 1 vol. in-12. 3 fr.
- **Gall et sa doctrine**. 1 vol. in-8. 1890. 5 fr.
- **Miscellanées littéraires et scientifiques**. 1 vol. in-18. 1893. 2 fr.
- NIZET. L'Hypnotisme**, étude critique. 1 vol. in-12. 1892. 2 fr. 50
- NOEL (E.). Mémoires d'un imbécile**, préface de Littré. In-18. 3^e éd. 3 fr. 50
- NOTOVITCH. La Liberté de la volonté**. In-18. 3 fr. 50
- NOVICOW. * La Politique internationale**. 1 vol. in-8. 7 fr. (Voy. p. 5.)
- NYS (Ernest). Les Théories politiques et le droit international**. 4 vol. in-8. 1891. 4 fr.
- OLECHNOWICZ. Histoire de la civilisation de l'humanité**, d'après la méthode brahmanique. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
- PARIS (le colonel). Le Feu à Paris et en Amérique**. 1 v. in-18. 3 fr. 50
- PARIS (comte de). Les Associations ouvrières en Angleterre** (Traditions). 1 vol. in 18. 7^e éd. 1 fr. — Édition sur papier fort. 2 fr. 50
- PAULHAN (Fr.). Le Nouveau mysticisme**. 1 vol. in-18. 1891. 2 fr. 50 (Voy. p. 3, 5 et 32.)
- PELLETAN (Eugène). La Naissance d'une ville** (Royan). In-18. 1 fr. 40
- * **Jarousseau, le pasteur du désert**. 1 vol. in-18. 2 fr.
- * **Un Roi philosophe**, Frédéric le Grand. In-18. 3 fr. 50
- **Droits de l'homme**. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
- **Profession de foi du XIX^e siècle**. In-12. 3 fr. 50
- PELLIS (F.). La Philosophie de la mécanique**. 1 vol. in-8. 1888. 2 fr. 50
- PÉNY (le major). La France par rapport à l'Allemagne**. Étude de géographie militaire. 1 vol. in-8. 2^e éd. 6 fr.
- PÉRÈS (Jean). Du Libre arbitre**. Grand in-8. 1891. 1 fr.
- PEREZ (Bernard). Thierry Tiedmann. — Mes deux chats**. In-12. 2 fr.
- **Jacotot et sa Méthode d'émancipation Intellect**. In-18. 3 fr.
- **Dictionnaire abrégé de philosophie**, à l'usage des classes. 1893. 1 vol. in-12. 4 fr. 50
- PERGAMENI (H.). Histoire de la littérature française**. In-8. 9 fr.
- PETROZ (P.). L'Art et la Critique en France depuis 1822**. In-18. 3 fr. 50
- **Un Critique d'art au XIX^e siècle**. In-18. 1 fr. 50
- **Esquisse d'une histoire de la peinture au Musée du Louvre**. 1 vol. in-8. 1890. 5 fr.
- PHILBERT (Louis). Le Rire**. In-8. (Cour. par l'Académie française.) 7 fr. 50
- PIAT (Abbé C.). L'Intellect actif ou Du rôle de l'activité mentale dans la formation des idées**. 1 vol. in-8. 4 fr.
- PICARD (Ch.). Sémites et Aryens** (1893). In-18. 1 fr. 50
- PICAVET (F.). L'Histoire de la philosophie**, ce qu'elle a été, ce qu'elle peut être. In-8. 2 fr.
- **La Mettrie et la critique allemande**. 1889. In-8. 1 fr. (Voy. p. 6, 8 et 11.)
- POEY. Le Positivisme**. 1 fort vol. in-12. 4 fr. 50
- **M. Littré et Auguste Comte**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50

- PORT (Célestin), de l'Institut. **La Légende de Cathelineau**, avec nombreux documents inédits ou inconnus. 1 fort vol. in-8. 1893. 5 fr.
- POULLET. **La Campagne de l'Est (1870-1871)**. In-8, avec cartes. 7 fr.
- Pour et contre l'enseignement philosophique**, par MM. VANDEREM (Fernand), RIBOT (Th.), BOUTROUX (F.), MARION (H.), JANET (P.) et FOULLÉE (A.) de l'Institut; MONOD (G.), LYON (Georges), MARILLIER (L.), CLAMADIEU (abbé), BOURDEAU (J.), LACAZE (G.), TAINE (H.), de l'Académie française. 1894. 1 vol. in-18. 2 fr.
- PUJO (Maurice). **Le règne de la grâce. L'idéalisme intégral**. 1894. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- QUINET (Edgar). **Œuvres complètes**. 30 volumes in-18. Chaque volume, 3 fr. 50. Chaque ouvrage se vend séparément :
- *1. Génie des religions. 6^e édition.
 - *2. Les Jésuites. — L'Ultramontanisme. 11^e édition.
 - *3. Le Christianisme et la Révolution française. 6^e édition.
 - *4-5. Les Révolutions d'Italie. 5^e édition. 2 vol.
 - *6. Marnix de Sainte-Aldegonde. — Philosophie de l'Histoire de France. 4^e édition.
 - *7. Les Roumains. — Allemagne et Italie. 3^e édition.
 - 8. Premiers travaux : Introduction à la Philosophie de l'histoire. — Essai sur Herder. — Examen de la Vie de Jésus. — Origine des dieux. — L'Église de Brou. 3^e édition.
 - 9. La Grèce moderne. — Histoire de la poésie. 3^e édition.
 - *10. Mes Vacances en Espagne. 5^e édition.
 - *11. Ahasverus. — Tablettes du Juif errant. 5^e édition.
 - *12. Prométhée. — Les Esclaves. 4^e édition.
 - *13. Napoléon (poème). (*Épuisé.*)
 - *14. L'Enseignement du peuple. — Œuvres politiques avant l'exil. 8^e édition.
 - *15. Histoire de mes idées (Autobiographie). 4^e édition.
 - *16-17. Merlin l'Enchanteur. 2^e édition. 2 vol.
 - *18-19-20. La Révolution. 10^e édition. 3 vol.
 - *21. Campagne de 1815. 7^e édition.
 - 22-23. La Création. 3^e édition. 2 vol.
 - 24. Le Livre de l'exilé. — La Révolution religieuse au XIX^e siècle. — Œuvres politiques pendant l'exil. 2^e édition.
 - 25. Le Siège de Paris. — Œuvres politiques après l'exil. 2^e édition.
 - 26. La République. Conditions de régénération de la France. 2^e édit.
 - *27. L'Esprit nouveau. 5^e édition.
 - 28. Le Génie grec. 1^{re} édition.
 - *29-30. Correspondance. Lettres à sa mère. 1^{re} édition. 2 vol.
- RÉGAMEY (Guillaume). **Anatomie des formes du cheval**, 6 pl. en chromolithographie, publiées par FÉLIX RÉGAMEY, avec texte par le D^r KUHFF. 2 fr. 50
- RENOUVIER (Ch.). * **Les Principes de la nature**. 2^e édition, revue, corrigée et augmentée des *Essais de critique générale* (3^e essai). 2 vol. in-12. 8 fr.
- RIBERT (Léonce). * **Esprit de la Constitution** du 25 février 1875. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- RIBOT (Paul). **Spiritualisme et Matérialisme**. 2^e éd. 1 vol. in-8. 6 fr.
- ROSNY (Ch. de). **La Méthode consocietelle**. 1 vol. in-8. 4 fr.
- SALMON (Ph.). **Age de la pierre**. Division industr. de la période paléolith. quatern. et de la période néolith. In-8 avec 36 pl. 1892. 3 fr.
- SANDERVAL (O. de). **De l'Absolu**. La loi de vie. 1 vol. in-8. 2^e éd. 5 fr.
- **Kabel. Le Soudan français**. In-8 avec gravures et cartes. 8 fr.
- SECRÉTAN (Ch.). **Études sociales**. 1889. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **Les Droits de l'humanité**. 1 vol. in-18. 1891. 3 fr. 50
- **La Croissance et la civilisation**. 1 vol. in-18. 2^e édit. 1891. 3 fr. 50
- **Mon Utopie**. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- **Le Principe de la morale**. 1 vol. in-8. 2^e éd. 7 fr. 50
- SERGUEYEFF. **Physiologie de la veille et du sommeil**. 2 volumes grand in-8. 1890. 20 fr.

- SIÈREBOIS. Psychologie réaliste.** 1876. 1 vol. in-18. 2 fr. 50
- SILVA WHITE (Arthur). Le développement de l'Afrique.** 1894. 1 fort vol. in-8 avec 15 cartes en couleurs hors texte, traduit de l'anglais par E. VERRIER et M^{lle} LINDSAY. 10 fr.
- SOREL (Albert) Le Traité de Paris du 20 novembre 1815.** In-8. 4 fr. 50
- SOUFFRET (F.). De la Disparité physique et mentale des races humaines et de ses principes.** 1 vol. gr. in-8. 5 fr.
- SPIR (A.). Esquisses de philosophie critique.** 1 vol. in-18. 2 fr. 50
- STRADA (J.). Le lot de l'histoire.** 1 vol. in-8. 1894. 5 fr.
- STRAUS. Les Origines de la forme républicaine du gouvernement dans les États-Unis d'Amérique.** 1 vol. in-18. 4 fr. 50
- STUART MILL (J.). La République de 1848 et ses détracteurs.** Préface de M. SADI CARNOT. In-18. 2^e éd. 1 fr. (Voy. p. 3 et 6.)
- TARDE. Les Lois de l'imitation. Étude sociologique.** 1 vol. in-8. 1890. 6 fr. (Voy. p. 3 et 6.)
- TENOT (Eugène). Paris et ses fortifications (1870-1880).** 1 vol. in-8. 5 fr.
- **Les Frontières de la France (1870-82-92).** In-8. 2^e éd. 9 fr.
- TERQUEM (A.). Science romaine à l'époque d'Auguste.** in-8. 3 fr.
- THOMAS (G.). Michel-Ange poète et l'expression de l'amour platonique dans la poésie italienne du Moyen Âge et de la Renaissance.** 1 vol. in-8. 1891. 3 fr.
- THULLIÉ. La Folie et la Loi.** 2^e édit. 1 vol. in-8. 3 fr. 50
- **La Manie raisonnante du docteur Campagne.** In-8. 2 fr.
- TIBERGHIEU. Les Commandements de l'humanité.** 1 vol. in-18. 3 fr.
- **Enseignement et philosophie.** 1 vol. in-18. 4 fr.
- **Introduction à la philosophie.** 1 vol. in-18. 6 fr.
- **La Science de l'âme.** 1 vol. in-12. 3^e édit. 6 fr.
- **Éléments de morale universelle.** In-12. 2 fr.
- TISSANDIER. Études de théodicée.** 1 vol. in-8. 4 fr.
- TISSOT. Principes de morale.** 1 vol. in-8. 6 fr. (Voy. KANT, p. 7.)
- TRATCHEVSKY (E.). France et Allemagne.** 1 vol. in-8. 3 fr.
- VACHEROT. La Science et la Métaphysique.** 3 vol. in-18. 10 fr. 50
- Voy. p. 4 et 6.
- VALLIER. De l'Intention morale.** 1 vol. in-8. 3 fr. 50
- VAN ENDE (U.). Histoire naturelle de la croyance.** In-8. 5 fr.
- VIGOUREUX (Ch.). L'Avenir de l'Europe au double point de vue de la politique de sentiment et de la politique d'intérêt.** 1892. 1 vol. in-18. 3 fr. 50
- VILLIAUMÉ. La Politique moderne.** 1 vol. in-8. 6 fr.
- VOITURON. Le Libéralisme et les Idées religieuses.** In-12. 4 fr.
- WEIL (Denis). Le Droit d'association et le Droit de réunion devant les chambres et les tribunaux.** 1893. 1 vol. in-12. 3 fr. 50
- **Les Élections législatives. Histoire de la législation et des mœurs.** 1 vol. in-18. 1895. 3 fr. 50
- WUARIN (L.). Le Contribuable.** 1 vol. in-16. 3 fr. 50
- WULF (M. de). Histoire de la philosophie scolastique dans les Pays-Bas et la principauté de Liège jusqu'à la Révolution française.** 1895. In-8. 5 fr.
- YUNG (Eugène). Henri IV écrivain.** 1 vol. in-8. 5 fr.
- ZIESING (Th.). Érasme ou Salignac. Étude sur la lettre de François Rabelais.** 1 vol. gr. in-8. 4 fr.
- ZOLLA (D.). Les questions agricoles d'hier et d'aujourd'hui.** 1894. In-18. 3 fr. 50

BIBLIOTHÈQUE UTILE

113 VOLUMES PARUS.

Le volume de 192 pages, broché, 60 centimes.

Cartonné à l'anglais ou en cartonnage toile dorée, 1 fr.

La plupart des titres de cette collection ont été adoptés par le Ministère de l'Instruction publique pour les Bibliothèques des Lycées et Collèges de garçons et de jeunes filles, celles des Ecoles normales, les Bibliothèques populaires et scolaires. Ils embrassent l'histoire, le droit, les sciences, l'économie politique, la philosophie, les arts, etc. Aussi cette collection, par son esprit vulgarisateur, son format commode et son prix modeste, justifie-t-elle son titre et rend-elle de grands services aux élèves des divers établissements et à l'Instruction populaire.

Les titres adoptés par la Commission consultative des Bibliothèques des Lycées sont marqués d'un astérisque.

HISTOIRE DE FRANCE

- * Les Mérovingiens, par BUCHEZ.
- * Les Carolingiens, par BUCHEZ.
- Les Luttes religieuses des premiers siècles, par J. BASTIDE. 4^e édit.
- Les Guerres de la Réforme, par J. BASTIDE. 4^e édit.
- La France au moyen âge, par F. MORIN.
- Jeanne d'Arc, par Fréd. LOCK.
- Décadence de la monarchie française, par Eug. PELLETAN. 4^e édit.
- * La Révolution française, par H. CARNOT (2 volumes).
- La Défense nationale en 1792, par P. GAFFAREL.
- Napoléon I^{er}, par Jules BARNI.

PAYS ÉTRANGERS

- L'Espagne et le Portugal, par E. RAYMOND. 2^e édition.
- Histoire de l'Empire ottoman, par L. COLLAS. 2^e édition.
- * Les Révolutions d'Angleterre, par Eug. DESPOIS. 3^e édition.
- Histoire de la maison d'Autriche, par Ch. ROLLAND. 2^e édition.

HISTOIRE ANCIENNE

- * La Grèce ancienne, par L. COMBES. 2^e édition.
- L'Asie occidentale et l'Égypte, par A. OTT. 2^e édition.
- L'Inde et la Chine, par A. OTT.

GÉOGRAPHIE

- * Torrents, fleuves et canaux de la France, par H. BLERZY.
- Les Colonies anglaises, par H. BLERZY.
- Les Îles du Pacifique, par le capitaine de vaisseau JODAN (avec 1 carte).
- * Les Peuples de l'Afrique et de l'Amérique, par GIRARD DE RIALLE.
- Les Peuples de l'Asie et de l'Europe, par GIRARD DE RIALLE.
- L'Indo-Chine française, par FAQUE.

COSMOGRAPHIE

- Les Entretiens de Fontenelle sur la pluralité des mondes, mis au courant de la science, par BOILLOT.
- * Le Soleil et les Étoiles, par le P. SECCHI, BRIOT, WOLF et DELAUNAY. 2^e édition (avec figures).

- * Histoire de la Restauration, par Fréd. LOCK. 3^e édit.
- * Histoire de Louis-Philippe, par Edgar ZEVORT. 2^e édit.
- Mœurs et Institutions de la France, par P. BONDOIS. 2 volumes.
- Léon Gambetta, par J. RINACHE.
- * Histoire de l'armée française, par L. BÈRE.
- * Histoire de la marine française, par Alfr. DONEAUD. 2^e édit.
- Histoire de la conquête de l'Algérie, par QUESNEL.
- * Les Origines de la guerre de 1870, par Ch. de LARIVIÈRE.

- L'Europe contemporaine (1789-1879), par P. BONDOIS.
- * Histoire contemporaine de la Prusse, par Alfr. DONEAUD.
- Histoire contemporaine de l'Italie, par Félix HENNEGUY.
- Histoire contemporaine de l'Angleterre, par A. REGNARD.

- Histoire romaine, par CREIGHTON.
- L'Antiquité romaine, par WILKINS (avec gravures).
- L'Antiquité grecque, par MAHAFFY (avec gravures).

- * Géographie physique, par GEIKIE. — 2^e édit.
- Continents et Océans, par GROVE (avec figures).
- * Les Frontières de la France, par P. GAFFAREL.
- L'Afrique française, par A. JOYEUX, avec une préface de M. DE LANESSAN.
- Madagascar, par A. MILHAUD.
- Les grands ports de commerce, par D. BELLET.

- Les Phénomènes célestes, par ZÜRCHER et MARGOLÉ.
- A travers le ciel, par AMIGUES.
- Origines et Fin des mondes, par Ch. RICHARD. 3^e édition.
- * Notions d'astronomie, par L. CAYALAN. 4^e édition (avec figures).

SCIENCES APPLIQUÉES

Le Génie de la science et de l'industrie, par B. GASTINEAU.

* **Causeries sur la mécanique**, par BROTHIER. 2^e édit.

Médecine populaire, par TURCK.

La Médecine des accidents, par BROQUÈRE.

Les Maladies épidémiques (Hygiène et Prévention), par L. MOXIN.

Hygiène générale, par L. CRUVEILHIER. 6^e édit.

Petit Dictionnaire des falsifications, par DUFOUR.

Les Mines de la France et de ses colonies, par P. MAIGNE.

SCIENCES PHYSIQUES ET NATURELLES

Télescope et Microscope, par ZURCHER et MARGOLLÉ.

* **Les Phénomènes de l'atmosphère**, par ZURCHER. 4^e édit.

* **Histoire de l'air**, par ALBERT-LÉVY.

Histoire de la terre, par BROTHIER.

Principaux faits de la chimie, par SAMSON. 5^e édit.

* **Les Phénomènes de la mer**, par E. MARGOLLÉ. 5^e édit.

* **L'Homme préhistorique**, par ZABOROWSKI. 2^e édit.

Les mondes disparus, du même.

Les Grands Singes, du même.

Histoire de l'eau, par BOUANT.

Introduction à l'étude des sciences physiques, par MORAND. 5^e édit.

PHILOSOPHIE

La Vie éternelle, par ENFANTIN. 2^e éd.

Voltaire et Rousseau, par E. NOËL. 3^e éd.

Histoire populaire de la philosophie, par L. BROTHIER. 3^e édit.

* **La Philosophie zoologique**, par Victor MEUNIER. 2^e édit.

ENSEIGNEMENT. — ÉCONOMIE DOMESTIQUE

De l'Éducation, par H. SPENCER.

La Statistique humaine de la France, par Jacques BERTILLON.

Le Journal, par HATIN.

De l'Enseignement professionnel, par CORBON. 3^e édit.

Les Délassements du travail, par Maurice CRISTAL. 2^e édit.

Le Budget du foyer, par H. LENEVEUX.

Paris municipal, par H. LENEVEUX.

Histoire du travail manuel en France, par H. LENEVEUX.

L'Art et les Artistes en France, par Laurent PICHAU, sénateur. 4^e édit.

Premiers principes des beaux-arts, par J. COLLIER (avec gravures).

DROIT

* **La Loi civile en France**, par MORIN. 3^e édit.

Les Matières premières et leur emploi, par H. GENEVOIX.

Les Procédés industriels, du même.

* **La Photographie**, par H. GOSSIN.

La Machine à vapeur, du même (avec fig.)

La Navigation aérienne, par G. DALLET (avec figures).

L'Agriculture française, par A. LARBALÉTRIER (avec figures).

* **Les Chemins de fer**, par C. MAYER (avec figures).

Les grands ports maritimes de commerce, par D. BELLET (avec figures).

La Culture des plantes d'appartements, par A. LARBALÉTRIER (avec figures).

Le Darwinisme, par E. FERRIÈRE.

* **Géologie**, par GEIKIE (avec figures).

Les Migrations des animaux et le Pigeon voyageur, par ZABOROWSKI.

Premières Notions sur les sciences, par Th. HUXLEY.

La Chasse et la Pêche des animaux marins, par JOUAN.

Zoologie générale, par H. BEAUREGARD (avec figures).

Botanique générale, par E. GÉRARDIN (avec figures).

La vie dans les mers, par H. COUPIN (avec gravures).

La vie dans les mers, par H. COUPIN.

* **L'Origine du langage**, par ZABOROWSKI.

* **Physiologie de l'esprit**, par PAULHAN (avec figures).

L'Homme est-il libre? par RENARD.

La Philosophie positive, par le docteur ROBINET. 2^e édit.

* **Économie politique**, par STANLEY JEVONS. 3^e édit.

Le Patriotisme à l'école, par JOURDY, lieutenant-colonel d'artillerie.

Histoire du libre-échange en Angleterre, par MONGREDIEN.

Économie rurale et agricole, par PETIT.

* **La Richesse et le Bonheur**, par Ad. COSTE.

Alcoolisme ou épargne, le dilemme social, par Ad. COSTE.

Les plantes d'appartement, de fenêtres et de balcons, soins à leur donner, par A. LARBALÉTRIER.

La Justice criminelle en France, par G. JOURDAN. 3^e édit.

