

N^o D'ORDRE

272.

H. F. u. f. 167. (9, 3)

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR

OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES,

PAR M. E. DUCLAUX,

ANCIEN ÉLÈVE DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE, AGRÉGÉ DES SCIENCES,
PRÉPARATEUR DE CHIMIE A L'ÉCOLE NORMALE.



1^{re} THÈSE. — ÉTUDES RELATIVES A L'ABSORPTION DE L'AMMONIAQUE ET A LA PRODUCTION D'ACIDES GRAS VOLATILS PENDANT LA FERMENTATION ALCOOLIQUE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DE PHYSIQUE DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *9 août* 1865, devant la Commission
d'Examen.

MM. DELAFOSSE, *Président.*

JAMIN,

H. SAINTE-CLAIRE DEVILLE,

} *Examineurs.*

PARIS,

GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-LIBRAIRE

DE L'ÉCOLE IMPÉRIALE POLYTECHNIQUE, DU BUREAU DES LONGITUDES,

SUCCESSEUR DE MALLET-BACHELIER,

Quai des Augustins, 55.

1865



ACADÉMIE DE PARIS.

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS.

DOYEN. MILNE EDWARDS, Professeur. Zoologie, Anatomie,
Physiologie.

PROFESSEURS HONORAIRES { PONCELET.
LEFÉBURE DE FOURCY.

PROFESSEURS { DUMAS..... Chimie.
DELAFOSSÉ..... Minéralogie.
BALARD..... Chimie.
CHASLES..... Géométrie supérieure.
LE VERRIER..... Astronomie.
DUHAMEL..... Algèbre supérieure.
LAMÉ..... Calcul des probabilités, Phy-
sique mathématique.
DELAUNAY..... Mécanique physique.
C. BERNARD..... Physiologie générale.
P. DESAINS..... Physique.
LIOUVILLE..... Mécanique rationnelle.
HÉBERT..... Géologie.
PUISEUX..... Astronomie.
DUCHARTRE..... Botanique.
JAMIN..... Physique.
SERRET..... Calcul différentiel et intégral.
PAUL GERVAIS..... Anatomie, Physiologie compa-
rée, Zoologie.

AGRÉGÉS { BERTRAND..... } Sciences mathématiques.
J. VIEILLE..... }
PELIGOT..... Sciences physiques.

SECRÉTAIRE E. PREZ-REYNIER.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE.

A MONSIEUR PASTEUR.

HOMMAGE DE RECONNAISSANCE ET DE RESPECTUEUX DÉVOUEMENT.

E. DUCLAUX.

PREMIÈRE THÈSE.

ÉTUDES RELATIVES A L'ABSORPTION DE L'AMMONIAQUE

ET A LA

PRODUCTION D'ACIDES GRAS VOLATILS

PENDANT LA FERMENTATION ALCOLIQUE.

ABSORPTION DE L'AMMONIAQUE.

Je me propose, dans ce premier travail, de compléter l'histoire du rôle que jouent les matières azotées dans la fermentation alcoolique. Cette question est déjà ancienne. A peine Lavoisier eut-il fixé, dans une vue de génie, le sens général du phénomène de la fermentation, qu'on fut conduit à en approfondir les détails, et à se demander ce que c'était qu'un ferment. Fabroni (1) répondit le premier à cette question, en assimilant vaguement la levûre de bière au gluten. Plus tard, en l'an VIII, l'Institut proposa 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 ? Thenard essaya d'y répondre. Il confirma les idées de Fabroni, et observa des faits intéressants. D'après lui, la levûre fraîche est azotée. Seulement, l'azote disparaît peu à peu, à mesure que la fermentation se continue ; et si on épuise cette levûre sur un excès de sucre, on trouve que 2 parties de levûre azotée laissent comme résidu 1 partie de matière blanche ayant les propriétés de la cellulose et ne renfermant plus d'azote (2).

(1) Résumé du travail de Fabroni, par Fourcroy, *Annales de Chimie et de Physique*, t. XXXI; 1799.

(2) *Annales de Chimie et de Physique*, t. XLVI, p. 313; 1803.

Ce dernier fait est inexact : l'erreur tenait aux procédés peu précis employés alors pour mettre l'azote en évidence. Quoi qu'il en soit, cette disparition était singulière, et resta comme un fait inexplicable dans le travail de Thenard.

Les travaux destinés à écarter cette difficulté ne firent pas défaut. Döbereiner (1) annonça, quelques années après, que le résidu soluble du liquide fermenté renfermait l'azote du ferment à l'état d'ammoniaque. C'était encore une erreur d'expérience : l'ammoniaque observée provenait de la réaction des alcalis, employés pour la découvrir, sur les matières albuminoïdes très-altérables de la liqueur. Mais cette action était alors mal connue, et tous les chimistes acceptèrent les résultats de Döbereiner.

Bientôt après, naquit une théorie qui rendait pour ainsi dire nécessaire cette transformation de l'azote de la levûre en ammoniaque. Si en effet, comme le dit Liebig, la levûre qui produit une fermentation est une matière en voie de putréfaction, dont tous les éléments doivent tendre à se résoudre en leurs groupements les plus simples, l'azote de la levûre ne peut donner autre chose que de l'ammoniaque, dont les résultats de Döbereiner venaient fort à propos démontrer la présence. Ils furent corroborés par un travail de Mulder (2), qui montra que la levûre était formée de deux choses : une enveloppe extérieure, analogue à la cellulose, et une matière intérieure analogue au gluten. Cette dernière était la seule qui, après avoir subi l'action de l'air, fût capable de provoquer le dédoublement du sucre ; elle se détruisait alors, en laissant comme résidu l'enveloppe de cellulose. Un travail subséquent de Schmidt (3) montra que cette destruction avait pour effet de donner de l'ammoniaque, qu'il retrouvait dans le liquide fermenté au moyen du phosphate de magnésie.

Ce dernier résultat, obtenu en dehors de toute production artificielle d'ammoniaque au moyen des alcalis, est difficilement explicable. Mais en l'acceptant comme vrai, il était très-favorable à la théorie de Liebig. Aussi passa-t-il dans la science, et partout on admit la transformation des matières azotées de la levûre en ammoniaque.

Dans ses belles études sur la fermentation alcoolique, M. Pasteur fut amené à s'occuper de ce fait, en opposition avec la manière nouvelle dont il interprétait l'action de la levûre. Il démontra que loin de se produire pendant la fermentation, l'ammoniaque disparaissait, et non-seulement celle qui existait naturellement dans le liquide, mais encore celle qu'on pouvait y ajouter.

Ayant observé d'ailleurs qu'il ne se dégageait pas d'azote à l'état de gaz, il en

(1) *Journal de SCHWEIGGER.*

(2) *Scheik. Onderz.*, deel. II, p. 409.

(3) *Annalen der Chemie und Pharmacie*, bd. LXI, p. 168.

conclut que l'ammoniaque formait de la matière albuminoïde par une espèce de copulation avec le sucre. Cette conclusion était importante, on le comprend sans peine; ce travail d'assimilation mis ainsi en évidence dans la levûre était en contradiction avec la théorie de Liebig. En poursuivant cette idée, M. Pasteur fut amené à faire l'expérience capitale suivante :

« Dans une solution de sucre candi pur, je place, dit M. Pasteur, 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 levûre de bière, puis une quantité pour ainsi dire impondérable de globules de levûre frais. Chose remarquable, les globules semés dans ces conditions se développent, se multiplient, et le sucre fermente, tandis que la matière minérale se dissout peu à peu, et que l'ammoniaque disparaît. En d'autres termes, l'ammoniaque se transforme dans la matière albuminoïde complexe qui entre dans la constitution de la levûre, en même temps que les phosphates donnent aux globules nouveaux leurs aliments minéraux. Quant au carbone, il est évidemment fourni par le sucre (1). »

Cette expérience devait mettre fin aux discussions sur la nature de la levûre. Puisqu'il y a fermentation dans ce milieu, composé uniquement de matières minérales, et d'où l'on a systématiquement éloigné tout élément organisé, toute substance appartenant au groupe de ce que l'on appelait alors les ferments, la levûre n'est pas une matière azotée en voie de décomposition, dont le mouvement moléculaire se transmet à la molécule de sucre et la détruit; c'est un organisme vivant, dont le procès vital est accompagné nécessairement de la transformation du sucre, toutes les fois que celui-ci est présent dans la liqueur.

Les conditions dans lesquelles cette expérience était faite semblaient ne devoir pas soulever d'objections. Ce qu'elle présentait de vraiment nouveau était le fait de l'absorption exercée par la levûre, et s'il y avait eu quelques doutes à ce sujet, la réponse était péremptoire : La levûre se développe, elle vit, la quantité d'azote qu'elle renferme augmente, et cet azote doit nécessairement venir de quelque part. Or, on constate facilement la disparition dans la liqueur de l'ammoniaque introduite. Donc, l'azote de la levûre provient de l'ammoniaque absorbée.

M. Millon (2), en répétant ces expériences, observa comme M. Pasteur la disparition de l'ammoniaque; mais il s'attacha à voir si l'acide carbonique dégagé par la fermentation ne l'entraînait pas avec lui. « Cette constatation, dit-il, était de rigueur avant de formuler une conclusion aussi radicalement neuve que celle à laquelle M. Pasteur s'est arrêté. »

Pour cela, M. Millon faisait passer les gaz produits à travers un tube à boules

(1) *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LVIII, p. 383.

(2) *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. LVII, p. 236.

renfermant de l'eau acidulée ; l'ammoniaque était retenue, et on la dosait par le chlorure de platine.

M. Millon trouva ainsi que l'acide carbonique entraînait des proportions variables de l'ammoniaque combinée à l'acide tartrique, de 15 à 20 pour 100 dans les cas ordinaires, 80 pour 100 dans les cas où la fermentation était énergique, et où la masse faisait le plus sentir son influence au profit de l'acide le plus faible. « C'est là, dit M. Millon, une des manifestations les plus ordinaires de l'affinité chimique, et il est impossible de découvrir dans ces conditions de fermentation, imaginées par M. Pasteur, rien qui ressemble à une action physiologique ou vitale. »

On le voit, c'était toute une interprétation nouvelle, et quelque singulier qu'il fût de voir l'ammoniaque se dégager ainsi du milieu d'un liquide acide, le nom de M. Millon commandait assez l'attention pour que j'aie cru utile de répéter ses expériences.

J'ai employé le même procédé que lui, c'est-à-dire que j'ai fait passer les gaz de la fermentation à travers un tube à boules renfermant de l'acide sulfurique dilué. S'il se dégage de l'ammoniaque, l'acide la retiendra au passage, et on n'aura qu'à l'y chercher par la méthode de M. Boussingault, bien plus précise que l'emploi du chlorure de platine.

Je rappelle en quelques mots cette méthode. On sait qu'elle consiste à soumettre le liquide ammoniacal à la distillation après l'avoir rendu alcalin soit par la potasse, lorsqu'il n'y a pas à craindre de réaction de cette base puissante sur les matières albuminoïdes, soit dans ce dernier cas par la magnésie. L'ammoniaque contenue distille tout entière dans les premières portions de liquide que l'on recueille seules, et on la dose par les liqueurs titrées. La liqueur acide normale est telle, que 10 centimètres cubes renferment 0^{gr},06125 d'acide sulfurique monohydraté. La liqueur alcaline est de l'eau de chaux. Je l'emploie telle qu'on l'obtient en laissant séjourner pendant huit à dix jours de l'eau distillée sur de la chaux. Il s'en dissout plus ou moins suivant la température, mais les quantités d'eau de chaux nécessaires pour saturer 10 centimètres cubes d'acide normal ne variant guère qu'entre 25 et 30 centimètres cubes, on a à peu près constamment la même précision. Le titre de cette dissolution alcaline, c'est-à-dire la quantité nécessaire pour saturer 10 centimètres cubes d'acide sulfurique normal, était pris avec soin avant chaque opération. Puis on mêlait à 10 centimètres cubes de la même liqueur acide la liqueur ammoniacale distillée, et on cherchait la quantité d'eau de chaux nécessaire pour saturer l'excès d'acide. De la différence entre les deux dosages on pouvait évidemment déduire la quantité d'ammoniaque.

Toutes ces manipulations très-simples en théorie doivent être accompagnées dans la pratique de précautions dont je crois utile de dire un mot. Je les ai

appries pour la plupart à l'excellent cours que M. Boussingault professe au Conservatoire des Arts et Métiers. Beaucoup ne m'appartiennent donc pas, mais le détail de celles que j'ai prises est indispensable pour qu'on puisse juger de la précision dont est susceptible ce genre de recherches, et acquérir confiance dans mes résultats.

La première difficulté est dans la construction de l'appareil distillatoire. Il se compose d'un ballon de 1 litre environ de capacité, fermé par un bouchon muni de deux tubes, l'un droit, servant à l'introduction du liquide; l'autre recourbé, servant au dégagement de la vapeur, et communiquant avec un serpentin. Le ballon a toujours un col assez large, d'où la nécessité d'un gros bouchon, qui doit en même temps être excellent, et d'une homogénéité parfaite. Or, il est difficile de satisfaire à ces deux conditions, et si elles ne sont pas remplies, il arrive que le bouchon se détruit peu à peu à la partie inférieure, s'humecte aux dépens du liquide distillé, et produit ainsi une perte d'autant plus fâcheuse, qu'elle s'exerce sur les premières portions de ce liquide, c'est-à-dire les plus riches en ammoniac. Pour obvier à cet inconvénient, j'enduis la partie inférieure et les parois du bouchon de caoutchouc fondu, qui forme à la surface un vernis imperméable.

Les autres difficultés sont des difficultés de dosage. La teinture de tournesol dont on se sert est toujours plus ou moins alcaline, et comme on l'introduit dans une liqueur acide, elle peut y remplacer une certaine quantité d'eau de chaux, et produire une erreur de dosage. Pour la neutraliser, M. Boussingault la divise en deux portions, rougit l'une au moyen d'une petite quantité d'acide chlorhydrique, et la reverse dans l'autre. Le tout redevient bleu. Il recommence plusieurs fois l'opération en ajoutant des quantités de plus en plus faibles d'acide, jusqu'à ce que la teinte soit indécise entre le bleu et le rouge. La teinture est alors aussi sensible que possible. Si l'on a en outre la précaution d'en prendre le même nombre de gouttes dans toutes les expériences, l'erreur commise reste constante, s'il y a erreur. Pour l'atténuer encore, je prenais le titre de cette teinture, c'est-à-dire que je cherchais combien de gouttes de cette teinture correspondaient à une goutte d'eau de chaux. Dans la plupart des cas, ce titre était de 5 gouttes. Donc, lorsque, pour colorer la liqueur, je mettais 5 gouttes de teinture, c'est comme si j'avais mis une goutte d'eau de chaux en plus. A l'époque où j'ai fait ce travail, je ne connaissais pas la teinture si sensible préparée par M. de Luynes, mais, avec les précautions précédentes, j'estime m'être mis à l'abri de toutes les causes d'erreur pouvant provenir de là.

Enfin, la difficulté la plus grave tient à la présence de l'acide carbonique dans la liqueur ammoniacale. En présence de cet acide, la teinte ne vire jamais franchement au bleu, et il y a incertitude sur le moment où tout l'acide sulfurique est

saturé. Il serait cependant possible, en prenant beaucoup de précautions, de saisir exactement ce point, ainsi que de nombreuses expériences me l'ont prouvé. Voici en effet ce qui se passe quand on verse de l'eau de chaux dans 10 centimètres cubes d'acide sulfurique titré dans lesquels on a fait passer un courant d'acide carbonique. Au moment précis de la saturation de l'acide, il se produit dans toute la masse du liquide, convenablement agitée, une teinte bleue; mais ce n'est qu'un éclair, car elle redevient rouge vineux presque immédiatement. Dès ce moment, chaque goutte produit le même effet que la précédente, et pour avoir une teinte bleue constante, il faut ajouter des quantités variables de liqueur alcaline.

Mais la délicatesse de ce procédé est évidemment trop grande, et il ne m'a été utile que pour juger de l'exactitude de deux autres procédés que je vais décrire : leur pratique est beaucoup plus commode que celle du précédent, mais je crois qu'ils avaient besoin de lui être comparés.

On peut d'abord extraire l'acide carbonique en faisant le vide au-dessus du liquide; mais, même dans ce cas, les dernières portions persistent très-longtemps. Au bout de trois heures de vide, si l'on essaye le dosage, on voit que le liquide, après avoir bleui, vire de nouveau au rouge. Seulement, moins il y a d'acide carbonique, plus le temps pendant lequel le liquide reste bleu est long. Ce ne serait qu'au bout de huit à dix heures de vide que le bleu serait persistant, mais après trois heures il est assez durable pour qu'on puisse facilement constater le virement de la teinte. Ce procédé est tout aussi exact que le précédent.

Un moyen plus rapide consiste à faire bouillir pendant une minute environ le liquide ammoniacal, après y avoir ajouté 10 centimètres cubes d'acide sulfurique titré. Il faut seulement avoir soin d'incliner le col du ballon où on chauffe, pour éviter les pertes par projection, et faire avec soin les lavages.

Cet inconvénient de la présence de l'acide carbonique n'existe que lorsqu'on a été obligé de traiter à l'appareil de M. Boussingault un liquide ammoniacal par la magnésie. Cette terre ne retient pas l'acide carbonique, comme le ferait la potasse, dont l'emploi, lorsqu'il est possible, supprime cette dernière série de précautions. On peut même, lorsqu'on n'a pas beaucoup de dosages à faire, et qu'on a obtenu par la magnésie un liquide renfermant du carbonate d'ammoniaque, traiter de nouveau ce liquide dans l'appareil par la potasse qui retient complètement l'acide.

Les résultats que j'ai obtenus par ces moyens sont tous contraires à ceux de M. Millon. Je n'ai jamais observé qu'il y eût de dégagement d'ammoniaque avec l'acide carbonique. Il faut dire cependant que dans le cas dont je parle, celui où la fermentation se fait avec une trace de levûre semée dans une liqueur sucrée, la levûre vit péniblement, le dégagement gazeux est toujours très-lent, et dans les plus mauvaises conditions, selon M. Millon, pour entraîner l'ammoniaque. Il m'est

même impossible de comprendre comment en se maintenant dans ces conditions, qui sont celles de l'expérience de M. Pasteur, M. Millon a pu avoir des dégagements gazeux qu'il appelle rapides. Mais il y a un autre moyen de résoudre la question en litige, et je crois d'une façon tout à fait concluante.

Dans le cas que nous venons d'examiner, c'est la présence de l'ammoniaque qui a rendu la fermentation possible. Sans elle, la levûre ne trouvant pas d'aliments à l'intérieur, et en trop faible quantité pour que les matériaux solubles qu'elle abandonne nécessairement à la liqueur puissent servir à nourrir les nouveaux globules, aurait fini par mourir d'épuisement, et la fermentation se serait arrêtée. Mais il suffit d'augmenter les proportions de levûre pour que la fermentation marche comme à l'ordinaire. Dès lors, si nous ajoutons de l'ammoniaque, elle y sera au moins inutile; rien ne l'empêchera donc de se dégager, et en proportions d'autant plus grandes, que le courant gazeux pourra être rendu très-rapide.

Le 28 mars 1864, je dispose dans un flacon de 1 litre muni d'un tube à boules avec 10 centimètres cubes d'acide sulfurique titré :

Sucre candi.....	100 ^{gr}
Levûre fraîche en pâte.....	5
Tartrate droit d'ammoniaque.....	1
Cendres de levûre.....	traces

La fermentation va bien dès les premiers jours; c'est au printemps; la température de l'étuve est de 26 degrés. Le 20 avril, le dégagement gazeux est devenu très-lent; je retire le tube à boules, et j'y dose l'ammoniaque.

Titre avant.....	28,6 ^{cc}
» après.....	28,55
Différence..	0,05 = 0 ^{gr} ,00003 d'ammoniaque,

quantité extrêmement minime, pouvant tenir soit aux petites quantités du liquide de fermentation entraînées dans le tube à boules par le courant gazeux, soit à la perte d'une petite quantité du liquide acide enlevée par ce même courant, soit aux causes d'erreur du dosage.

Voyons maintenant ce que l'ammoniaque est devenue. Il suffit de filtrer le liquide, qui ici est en volume de 1040 centimètres cubes, et d'en distiller 100 centimètres cubes sur la magnésie qui chasse l'ammoniaque sans en produire de nouvelle avec les matières albuminoïdes de la liqueur.

Titre avant.....	27,15 ^{cc}
» après.....	12,75
Différence..	14,40 = 0 ^{gr} ,0114 d'ammoniaque.

Pour les 1040 centimètres cubes, cela ferait $0^{\text{gr}},117$; or 1 gramme de tartrate en contient $0^{\text{gr}},184$: il en a donc disparu $0^{\text{gr}},067$.

On voit donc que l'ammoniaque n'en est pas moins absorbée, quoique la fermentation soit dans d'assez bonnes conditions pour marcher seule.

Cependant, en examinant la levûre au microscope, on voit qu'elle a vécu péniblement; les globules sont ramifiés, flasques, presque vides à l'intérieur. On pourrait donc attribuer l'absorption observée à la difficulté où était la levûre de vivre, et à la nécessité de prendre autour d'elle tous les aliments qu'elle y trouvait. Mais nous allons voir qu'en forçant la proportion de levûre, le sens du phénomène ne change pas.

Le 26 avril 1864, je dépose comme précédemment une fermentation dans les conditions suivantes :

Sucre candi.....	40 ^{gr}
Levûre en pâte (à l'état sec, 2,790)	15
Tartrate droit d'ammoniaque.....	1
Eau.....	650

La levûre employée est très-fraîche et très-belle, surtout très-blanche, ce qui est un excellent indice. Le 27, la fermentation est tout à fait en train; un peu de mousse à la surface, mais très-peu. Le 30 avril, elle devient presque subitement très-lente. Néanmoins, elle continue par un dégagement de petites bulles jusqu'au 5 mai, où elle paraît parfaitement terminée.

Je prends d'abord le titre acide de la dissolution dans les boules :

Titre avant.....	27,2 ^{cc}
» après.....	27,15
Différence.....	0,05

Il n'y a donc pas eu entraînement de l'ammoniaque, et pourtant 10 litres d'acide carbonique ont passé en quatre jours.

Le liquide est en volume de 750 centimètres cubes. J'en prends 100 centimètres cubes pour étudier l'ammoniaque.

Titre avant.....	27,1 ^{cc}
» après.....	14,2
Différence.....	12,9

ce qui donne pour tout le liquide $0^{\text{gr}},0747$ d'ammoniaque. Il en a donc disparu $0^{\text{gr}},110$.

Quant au poids de la levûre après la fermentation, il est de 2^{gr},500.

Ainsi donc, même dans ce cas, où la présence d'une grande quantité de levûre semblait rendre inutile celle de l'ammoniaque, il n'y en a pas moins eu absorption de cet alcali, et en quantités considérables. Il semble donc y avoir de la part de la levûre pour l'ammoniaque une sorte d'avidité qui fait qu'il est bien difficile d'accepter les résultats de M. Millon.

Je ne crois pas qu'aucune objection bien sérieuse puisse s'élever contre une expérience ainsi conduite. M. Millon a prétendu qu'avec un dégagement gazeux aussi rapide, *une grande partie* de l'ammoniaque a dû échapper à l'absorption dans le tube à boules; mais l'expérience montre que *toute* aurait dû y échapper, et cela est incroyable. Cependant je reconnais que je ne m'étais mis en garde que contre un dégagement d'azote à l'état d'alcali volatil, et non sous une autre forme. Quelle pourrait être cette forme? Je ne sais: il ne se dégage pas d'azote gazeux. Mais quelle qu'elle fût, il en résultait pour mon expérience un postulatum de la nécessité duquel j'ai cru utile de m'affranchir. Il me suffisait pour cela de démontrer la présence dans le liquide, à l'état de matière albuminoïde, de tout l'azote de l'ammoniaque absorbée.

Dans ce but, je disposai la fermentation suivante :

Sucre candi.....	40 ^{gr}
Levûre fraîche (à l'état sec, 2,501)..	15
Tartrate droit d'ammoniaque.....	1
Eau.....	500

La fermentation marche avec une régularité extrême; en sept jours elle est terminée. L'analyse du liquide du tube à boules donne les résultats suivants :

Titre avant	29,2 ^{cc}
» après	29,2
Différence.....	0,0

Il ne se dégage donc pas d'azote à l'état d'ammoniaque; mais il y a plus, je dis qu'il est tout entier dans la liqueur.

L'étude de cette liqueur, faite comme à l'ordinaire, montre qu'il y reste 0^{gr},084 d'ammoniaque. Il en a donc disparu 0^{gr},198 renfermant 0^{gr},106 d'azote. Si ces 106 milligrammes ont été réellement assimilés, nous devons les retrouver à l'état de matière azotée, unis à ce qu'a apporté d'azote la levûre fraîche introduite.

0^{gr},366 de celle-ci sont analysés par la chaux sodée. Le tube à boules renferme

10 centimètres cubes de dissolution normale contenant 0^{gr},6125 d'acide sulfurique monohydraté.

Titre avant.....	27,35 ^{cc}
» après.....	22,4
Différence..	4,95 = 0 ^{gr} ,0315 d'azote.

La levûre introduite renferme donc $\frac{0,0315 \times 2^{\text{gr}},501}{0,336}$ 0^{gr},215 d'azote.

En somme, le liquide privé d'ammoniaque par la magnésie doit renfermer 0^{gr},106 + 0^{gr},215 = 0^{gr},321 d'azote à l'état de matière azotée, contenue tant dans la levûre que dans la matière albuminoïde dissoute.

Or, la levûre recueillie après la fermentation pèse sèche 2^{gr},326. Je l'analyse comme précédemment.

Poids de la matière soumise à l'analyse : 0^{gr},445.

Titre avant.....	27,35 ^{cc}
» après.....	22,90
Différence..	4,45 = 0 ^{gr} ,0282 d'azote.

Il y a donc en tout dans la levûre, après la fermentation, 0^{gr},148 d'azote. La différence entre 0^{gr},321 et 0^{gr},148 ou 0^{gr},173 doit se retrouver dans la matière albuminoïde.

L'étude de celle-ci est difficile; c'est une substance extrêmement hygrométrique, poisseuse, qu'il serait impossible de broyer avec de la chaux sodée. Il faut opérer de la façon suivante : on évapore le liquide de la fermentation avec un excès de magnésie qui chasse l'ammoniaque; vers la fin de l'évaporation, lorsque la matière devient pâteuse, on la malaxe avec une tige fine, de façon à en faire un tout bien homogène que l'on dessèche alors doucement pendant quelques jours. La magnésie se carbonate, et on obtient une sorte de galette très-poreuse, facile à pulvériser, encore un peu hygrométrique, mais dont la pesée est facile.

Le poids de cette matière est de 7^{gr},750. J'en analyse 1^{gr},385.

Titre avant.....	27,35 ^{cc}
» après.....	22,60
Différence..	4,75 = 0 ^{gr} ,0304 d'azote.

Cela ferait en tout 0^{gr},170, au lieu de 0^{gr},173. En songeant que dans les deux dernières expériences les erreurs s'ajoutent et qu'elles tendent à donner une perte d'azote, que malgré toutes les précautions on ne peut éviter probablement une légère action de la magnésie sur les matières albuminoïdes pendant la dessiccation,

on conclura, comme je l'ai fait, que la différence entre ces deux nombres est sans importance.

Il n'y a donc pas eu dégagement d'azote, et de plus il y a eu 106 milligrammes de ce corps, existant primitivement à l'état d'ammoniaque, qui ont été assimilés.

La conclusion que M. Pasteur avait tirée de ses expériences est donc exacte, et si j'avais eu seulement pour but de la vérifier, mon travail serait terminé; mais j'ai cru qu'il y avait dans ce fait de l'absorption si facile de l'ammoniaque par la levûre un sujet d'étude intéressant.

Ce qui résulte en effet des expériences précédentes, c'est que la levûre trouve dans l'ammoniaque un excellent aliment qu'elle absorbe non-seulement dans la pénurie d'aliments d'une autre espèce, mais lorsqu'elle est dans les meilleures conditions de vitalité. Un peu de réflexion rendait ce phénomène plus intéressant encore. Lorsque l'on met en effet, comme ci-dessus, beaucoup de levûre en fermentation, une partie de la matière de cette levûre se dissout dans l'eau. C'est probablement à l'aide de ces substances dissoutes que se formeraient les nouveaux globules, s'il n'y avait pas d'ammoniaque. En tout cas, c'est en leur présence que l'absorption d'ammoniaque a lieu. La levûre se nourrirait-elle plus volontiers de l'aliment minéral que de l'aliment déjà organisé?

Cette idée me conduisit à rechercher ce qui se passerait si on mettait en présence de la levûre, à la fois des sels ammoniacaux et des matières azotées bien assimilables, telles que peut les présenter, par exemple, l'eau de levûre.

Pour le savoir, je dispose les trois fermentations suivantes :

I.	II.	III.
Sucre candi..... 5 ^{gr}	Sucre candi.... 5 ^{gr}	Sucre candi.... 5 ^{gr}
Levûre fraîche..... 0,5	Levûre fraîche. 0,5	Levûre fraîche. 0,5
Tartrate droit d'ammoniaque. 0,25	Eau de levûre.. 175 ^{cc}	Tartrate..... 0,25
Eau..... 175 ^{cc}		Eau de levûre.. 175 ^{cc}

Les 0^{gr},5 de levûre fraîche représentaient 0^{gr},104 à l'état sec; les 175 centimètres cubes d'eau de levûre renfermaient 0^{gr},665 de matière sèche.

L'étude de la marche de ces fermentations est très-instructive. S'il n'y avait pas de tartrate, II et III iraient beaucoup plus vite que I; elles seraient terminées en quatre ou cinq jours, tandis que I fermenterait encore au bout d'un mois. Il en est tout autrement dans les conditions actuelles : III est la fermentation qui va le plus rapidement; II, qui renferme les mêmes proportions de matières sauf le tartrate, est plus lente; mais ce qu'il y a de singulier, c'est qu'elle n'est guère plus rapide que I qui cependant ne renferme pas d'eau de levûre. Dans le cas dont je parle, elle a été terminée un jour auparavant; mais dans d'autres cas, la fermentation sans eau de levûre a été la plus rapide.

L'influence du tartrate d'ammoniaque sur la rapidité de la fermentation est donc évidente, et dans ce sel ce n'est pas l'acide tartrique qui agit. Je montrerai en effet plus tard que l'acidité croissante de la liqueur, à mesure que l'ammoniaque est absorbée, nuit beaucoup à la fermentation.

Mais rapprochons les résultats précédents des poids de levûre produits par chacune des fermentations et des quantités d'ammoniaque absorbées. Les voici :

	I.	II.	III.
	^{gr}	^{gr}	^{gr}
Poids de levûre.....	0,171	0,285	0,315
Ammoniaque absorbée...	0,012	»	0,014

Si l'on compare d'abord les poids de levûre, on voit qu'ils sont bien différents pour I et II qui allaient avec la même activité. La présence de l'ammoniaque dans I semble donc augmenter le pouvoir fermentant de la levûre.

Si l'on étudie ensuite l'absorption de l'ammoniaque, on voit qu'elle a été à peu près la même dans I et dans III. La présence des matières albuminoïdes assimilables n'empêche donc pas la levûre d'absorber l'ammoniaque et de lui emprunter l'azote qu'autrement elle eût emprunté aux matières de l'eau de levûre, ainsi que cela a eu lieu dans II.

Cette expérience me paraît donc mettre en évidence une véritable influence de la nourriture ammoniacale de la levûre sur ses propriétés. Elle semble alors plus active, plus vivante, plus capable sous un faible poids de faire fermenter le sucre. Tandis que dans la fermentation avec eau de levûre, elle semble surtout se reproduire, augmenter de poids, dans la fermentation avec tartrate, elle gagne au contraire du côté de la rapidité d'action, et il semble que l'aliment ammoniacal, moins propre au développement de la levûre *végétal*, convient beaucoup mieux à la levûre *ferment*.

Ces faits ne paraîtront pas sans importance, lorsqu'on songera que la levûre est une véritable cellule vivante, et que les phénomènes dont elle est le siège paraissent devoir devenir d'un haut intérêt pour la physiologie. Il est impossible, en étudiant les fonctions du globule de levûre, de méconnaître l'analogie qu'elles présentent avec celles de certains organes végétaux et animaux. Nous trouverons du reste, dans la deuxième partie de ce travail, l'occasion de nouveaux points de rapprochement.

Quoi qu'il en soit, ces études conduisaient à une conséquence : c'est que, dans toutes les fermentations s'accomplissant en présence des sels d'ammoniaque, il devait y avoir absorption de cette base.

Il était possible que le jus de raisin fût dans ces conditions. Je recherchai donc s'il contenait des sels ammoniacaux. Leur existence y était probable; du moins

Liebig l'avait démontrée depuis longtemps pour les jus sucrés aussi de l'érable, du bouleau, de la betterave; mais il n'avait pas parlé du jus du raisin. Mulder (1) nie même formellement qu'il y ait de l'ammoniaque dans ce jus. Il en trouve cependant, comme Berthollet l'avait fait déjà, dans le vin; c'était une confirmation de sa théorie de la fermentation, qui reposait, comme nous l'avons vu, sur la décomposition de la matière azotée du ferment.

Je vais montrer que c'est à peu près l'inverse qui est vrai, qu'il y a toujours de l'ammoniaque dans le moût, et presque jamais dans le vin. Mes observations ont été faites sur des moûts provenant du vignoble d'Arbois (Jura). J'ai eu de plus la bonne fortune de pouvoir étudier les vins provenant de ces moûts, et de pouvoir ainsi comparer les résultats des fermentations en grand avec ceux des essais en petit que je faisais au laboratoire.

Le premier moût que j'ai étudié est celui d'un raisin connu dans le Jura sous le nom d'*enfariné*. Ce moût avait été conservé depuis le mois de septembre au 2 novembre, muté avec de l'acide sulfureux. Ce jour-là j'en mélange 100 centimètres cubes avec 4 grammes de magnésie et 200 d'eau distillée privée d'ammoniaque, puis je distille dans l'appareil de M. Boussingault en faisant trois prises de 50 centimètres cubes chacune. J'obtiens les résultats suivants :

Première prise.		Deuxième prise.		Troisième prise.	
Titre avant.....	28,65 ^{cc}	Titre avant.....	28,65 ^{cc}	Titre avant.....	28,65 ^{cc}
» après.....	13,1	» après.....	27,95	» après.....	28,65
Différence..	15,55	Différence..	0,70	Différence..	0,00

Cela faisait en tout 0^{gr},01201 d'ammoniaque, ou 0^{gr},1201 par litre de moût.

Je l'avoue, je fus d'abord surpris de ce résultat; il me semblait impossible qu'une aussi forte proportion d'ammoniaque n'eût pas fixé l'attention, et je me demandai si par hasard je ne la produisais pas pendant l'opération. Cela n'était pas probable, mais était possible, et il pouvait y avoir dans le moût de raisin des matières azotées si facilement altérables, que la magnésie, sans action sur les autres, donnât avec elles de l'ammoniaque, surtout à l'ébullition.

Je crus donc utile de m'affranchir de l'obligation de faire bouillir avec la magnésie le liquide étudié. Je pouvais me servir pour cela d'un appareil imaginé par M. Boussingault pour doser l'ammoniaque dans l'urine, avec lequel on n'a besoin de chauffer qu'à 40 degrés; mais je l'ai trouvé d'un maniement peu commode. L'appareil imaginé par M. Schloësing pour l'analyse de l'ammoniaque dans le tabac ne m'a pas mieux réussi : l'absorption totale des faibles quantités d'alcali contenues dans mes liquides n'y est complète qu'au bout d'un très-long temps; mais en le

(1) *Die Chemie des Weines*, traduction allemande, p. 289.

modifiant un peu, tout en conservant son principe, j'ai construit un appareil d'un usage commode que je vais décrire en quelques mots (*fig. 1*).

A est une cloche à platine mobile construite par M. Golaz sur les indications de M. Pasteur. On peut y faire le vide par *a*, intercepter ensuite au moyen du bouchon à vis *b* toute communication avec l'extérieur. L'appareil, lorsqu'il est bien construit, garde presque indéfiniment le vide.

Sous cette cloche, je disposais un cristalliseur *c* au fond duquel j'avais collé un disque de verre épais. Autour de celui-ci je versais le liquide à essayer, en prenant soin qu'il ne recouvrit pas le disque. Puis, sur ce disque lui-même, je mettais une boule de magnésie obtenue en humectant un peu cette terre et en la roulant rapidement entre les doigts. Au-dessus était un cristalliseur *d* renfermant 10 centimètres cubes d'acide sulfurique Peligot.

On comprend la manière d'opérer. Tout étant disposé comme je viens de l'indiquer, on fait le vide, et on sépare cet appareil de la machine pneumatique. En inclinant alors un peu la platine, on fait rouler la boule de magnésie dans le liquide. Elle s'y délite rapidement. On l'aide, si c'est nécessaire, par quelques secousses ménagées. L'ammoniaque se dégageant dans le vide, et alors seulement que le vide est fait, s'absorbe dans l'acide sulfurique. Au bout d'un temps variable, de deux à trois jours si on opère avec de l'acide un peu concentré, d'une quinzaine dans les conditions où je fais l'expérience, l'absorption est complète. Ce délai est d'ailleurs sans importance, car, une fois l'appareil installé, il n'y a plus à s'occuper de lui.

Voici les résultats d'une expérience faite sur le moût d'*enfariné*.

Le 16 novembre, j'étudie de nouveau le moût ci-dessus, dans lequel la fermentation a commencé, mais où elle est très-lente à cause du froid. J'en distille 50 centimètres cubes sur de la magnésie.

Titre avant.....	27, ^{cc} 65
» après.....	20,25
Différence..	7,40 = 0,00566 d'ammoniaque.

50 centimètres cubes du même moût sont traités dans l'appareil décrit plus haut.

Titre avant.....	27, ^{cc} 65
» après.....	20,20
Différence..	7,45 = 0,00570 d'ammoniaque.

L'ammoniaque est donc réellement contenue dans le moût, et dès lors elle doit disparaître pendant la fermentation.

J'essaye en effet le vin provenant de ce moût. 50 centimètres cubes sont distillés sur de la magnésie.

Titre avant.....	^{cc} 28,5
» après.....	28,45
Différence.....	<u>0,05</u>

ce qui fait une quantité inappréciable d'ammoniaque.

J'ai fait un grand nombre d'essais de cette nature. Je vais les résumer dans un tableau. Je donnerai en même temps la quantité de sucre et d'ammoniaque par litre de moût, la quantité d'ammoniaque par litre de moût fermenté au laboratoire, et par litre de vin naturel. J'ai tenu à présenter ces deux dernières séries de résultats. Si je n'avais en effet étudié que les vins, on aurait pu se demander si le fait de la disparition de l'ammoniaque ne tenait pas à une insolubilité possible du bitartrate d'ammoniaque dans le liquide fermenté.

Les dénominations des raisins sont celles qui sont connues dans le Jura. Tous sont des raisins noirs, sauf le *naturé* qui est blanc.

NOMS DES MOUTS.	SUCRE.	AMMONIAQUE dans 1 litre de moût.	AMMONIAQUE dans 1 litre de vin.	AMMONIAQUE dans 1 litre de moût fermenté.
Enfariné.....	»	gr 0,1201	»	0,0005
Ploussard pur.....	223,2	0,0080	»	»
Ploussard avec quelques naturés.	220,0	0,0402	0,0017	0,0023
	228,0	0,0390		
Ploussard.....	188,8	0,0088	0,0020	»
Trousseau.....	239,4	0,0402	0,005	0,0000
Naturé.....	222,2	0,0712	»	0,0014
Pinot.....	247,5	0,0721	0,0000	»
Valet noir. I (*).....	144,0	0,0208	0,0052	»
Id. II (**).....	207,4	0,0315	»	»
Tous plants. I.....	200,0	0,0521	0,0011	»
Id. II.....	207,4	0,0613		
Id. III.....	188,8	0,0792	0,0007	»
Id. IV.....	187,6	0,0643		
Id. V.....	208,0	0,0326	0,0011	»
Id. VI.....	206,0	0,0754	0,0008	»

(*) Le vin étudié ne provenait pas exclusivement de ce moût. Il y avait eu mélange de jus de trousseaux.

(**) La fermentation était déjà commencée dans ce moût lorsque je l'ai examiné.

On voit que la quantité d'ammoniaque est très-variable d'un moût à un autre ;

l'enfariné est celui qui en renferme le plus, le ploussard celui qui en renferme le moins.

Mais ce qu'il y a de général, c'est la disparition de l'ammoniaque pendant la fermentation. Toutefois, il est quelques cas dans lesquels il en reste encore une quantité très-sensible. Que faut-il en conclure ? Est-ce que dans ces vins la levûre aurait trouvé une matière azotée plus facilement assimilable ? La suite de cette étude répondra à la question.

Il était intéressant de voir si on retrouverait pour le vin le phénomène observé pour l'eau de levûre, et si en ajoutant de l'ammoniaque au moût l'absorption aurait tout de même lieu. Le phénomène devait même être ici plus concluant que précédemment. Il est évident en effet que si l'absorption avait encore lieu, la levûre emprunterait à l'ammoniaque de l'azote qu'en son absence elle eût demandé aux matières albuminoïdes, pourtant si facilement assimilables, de la liqueur.

Voici les résultats auxquels je suis arrivé en disposant pour chaque moût deux fermentations parallèles, l'une avec du moût naturel, l'autre avec du moût additionné de proportions variables de tartrate.

Les nombres inscrits au tableau suivant sont les poids d'ammoniaque par litre.

NOMS DES MOÛTS.	SANS TARTRATE D'AMMONIAQUE.		AVEC TARTRATE D'AMMONIAQUE.	
	Avant la fermentation.	Après la fermentation.	Avant la fermentation.	Après la fermentation.
Ploussard.....	0,0402	0,0023	0,224	0,092
Naturé.....	0,0712	0,0014	0,163	0,102
Ploussard.....	0,0334	0,0004	0,327	0,131
Tous plants.....	0,0792	0,0014	0,285	0,163
Valet noir.....	0,0315	0,0005	0,256	0,047

On voit que l'absorption, dans le cas où il y a du tartrate, est considérable, et que si la levûre s'arrête quelquefois dans l'assimilation de l'ammoniaque, comme par exemple dans le cas du ploussard du tableau précédent, ce n'était pas parce qu'elle avait trouvé dans le liquide une matière plus facilement assimilable, car cette matière eût aussi été présente dans le moût avec tartrate, et y aurait dû produire les mêmes effets.

L'étude de ces fermentations de moût avec tartrate est très-intéressante, et je crois devoir m'y arrêter quelque temps.

Lorsqu'on dispose deux fermentations parallèles, avec les mêmes poids de sucre candi et de levûre, et que l'on met en outre, dans l'une d'elles, du tartrate d'am-

moniaque, toujours, sans exception, cette dernière est plus rapide que l'autre. Or, dans le cas du moût avec tartrate, on ne retrouve plus ce résultat. Sa fermentation est, au commencement, plus rapide que celle du moût sans tartrate; mais elle ne tarde pas à se ralentir, et l'autre, plus régulière, est plus tôt terminée. Ce fait est dû à la plus grande acidité que prend la liqueur dans l'un des cas, par suite de l'absorption de l'ammoniaque. Je me suis assuré en effet que la levûre restait inactive, dès le commencement d'une fermentation, si on la mettait en présence de la quantité d'acide tartrique qu'elle aurait développée dans la liqueur en absorbant l'ammoniaque du tartrate ajouté. Mais il suffit de diminuer cette acidité pour retomber immédiatement sur les phénomènes observés pour la fermentation de sucre candi.

Par exemple, le 16 avril 1865, je prends 500 centimètres cubes d'un moût de valet noir, dont 10 centimètres cubes exigent 25^{cc},5 eau de chaux (du titre 26,9) pour leur saturation. Puis je sature environ les $\frac{2}{3}$ de l'acide libre en ajoutant 3^{cc},75 d'une dissolution de potasse, dont 0^{cc},0115 satureront 0^{gr},06125 d'acide sulfurique monohydraté, et j'abandonne le moût à lui-même. Dès le 19 il est un peu trouble : je le divise alors en deux portions de 250 centimètres cubes; dans l'une, j'ajoute 0^{gr},3 de tartrate d'ammoniaque, et je les place toutes deux à l'étuve.

La fermentation du moût à tartrate est terminée le 26 avril; elle a par conséquent duré six jours. L'autre est terminée seulement le 6 mai. La température a été constamment d'environ 28 degrés.

C'est donc dans ce cas l'acidité seule qui empêche d'observer l'action accélératrice du tartrate d'ammoniaque. Mais poursuivons l'étude de ces deux fermentations.

Le poids de la levûre restant après la fermentation dans le flacon à tartrate est de 0^{gr},174. Or, si l'on étudie l'absorption d'ammoniaque, on trouve qu'il en a été assimilé 0^{gr},0525 renfermant 0^{gr},0432 d'azote. Si tout cet azote s'était fixé sur la levûre restante, celle-ci devrait en renfermer $\frac{4,32}{0,174} = 24$ pour 100. Or, il n'y a pas de levûre qui en renferme autant.

Qu'est donc devenu cet azote? Il est bien évidemment contenu dans le liquide à l'état de matière albuminoïde, éliminée par l'action vitale de la levûre, et comme le poids d'azote contenu dans cette matière albuminoïde est beaucoup plus grand que le poids qui en reste dans la levûre, il est bien évident qu'il a dû y avoir à un moment donné dans le liquide, ou s'y être formé successivement, un poids de levûre bien supérieur à 0^{gr},174. En d'autres termes, la fermentation rapide produite dans ce liquide peu acide a probablement été accompagnée d'une destruction rapide aussi de la levûre. Ce qui en reste après la fermentation est la différence entre les résultats de la reconstitution et de la destruction de cet élément organisé.

Je vais montrer que cette interprétation est exacte, et que le poids de levûre

restant après la fermentation ne peut rien apprendre sur la quantité de ce corps réellement entrée en action.

Si l'on interrompt à un moment quelconque une fermentation avec sucre candi et tartrate, le poids de levûre qu'on y trouve est supérieur à celui d'une fermentation identique examinée au moment où tout dégagement gazeux a cessé.

Voici une des nombreuses expériences qui le prouvent.

Le 19 mars, j'installe deux fermentations dans les conditions suivantes :

Sucre candi.....	5 ^{gr}
Levûre fraîche (à l'état sec, 0 ^{gr} ,104)..	0,5
Tartrate droit d'ammoniaque.....	0,25
Eau.....	175 ^{cc}

Le 22, je filtre l'une. Le poids de la levûre est de 0^{gr},171. Il reste 1^{gr},322 de sucre.

Le 9 avril, je filtre l'autre. Le poids de la levûre est de 0^{gr},110. Il ne reste plus de sucre.

Il n'est donc pas étonnant que dans le cas du moût que nous étudions la levûre ait pu assimiler 0^{gr},0474 d'azote. Son poids a dû être bien supérieur à 0^{gr},174. S'il restait du doute sur cette conclusion, l'expérience suivante achèverait de le lever.

Dans le cas précédent, la destruction rapide de la levûre s'est montrée corrélative d'une fermentation rapide. La destruction sera lente si la fermentation est lente, et le poids de levûre agissant dans ce dernier cas sera plus grand que dans le premier. Or, c'est là une conséquence singulière que l'expérience vérifie de tous points. Nous en trouverons la preuve dans la deuxième partie de ce travail. En attendant, voici le résultat d'une étude faite, il est vrai, sur deux moûts de provenances différentes, mais qui n'en est pas moins très-concluante. Ces deux moûts sont : l'un du moût de ploussard où l'excès d'acide n'avait pas été saturé; l'autre le moût de valet noir saturé en partie dont j'ai parlé tout à l'heure.

Moûts.	Tartrate.	Poids de la levûre.	Durée de la fermentation.
1 litre de ploussard....	1 ^{gr}	1 ^{gr} ,965	2 ½ mois.
1 litre de valet noir....	1,2	0,696	6 jours.

Je crois donc qu'on ne peut pas se refuser à accepter la conclusion à laquelle je suis arrivé. La fermentation rapide est corrélative d'une destruction rapide de la levûre, et le poids de celle-ci restant après la fermentation ne peut rien apprendre sur la quantité absolue qui est intervenue dans le phénomène.

Ces faits sont importants : nous allons les retrouver dans la deuxième partie de

ce travail, où j'espère démontrer que c'est précisément dans ce mouvement de décomposition et de recombinaison incessante que la levûre produit l'acide acétique que l'on trouve dans toutes les liqueurs fermentées, et qui provient ainsi non du sucre, mais de la levûre.

Avant de quitter ce sujet, je dirai quelques mots d'une série de recherches, basées sur les résultats précédents, et douées, je crois, de quelque avenir.

Le facile développement de la levûre, lorsqu'on ne lui fournit comme aliment que du sucre, des sels minéraux et ammoniacaux, m'avait fait penser à chercher à quel état la levûre pouvait exister dans l'air : y est-elle sous forme de globules tout formés, n'ayant besoin que de tomber dans un liquide approprié pour y germer ? y est-elle à un autre état, dans lequel elle aurait besoin de subir une élaboration particulière avant de devenir globule ferment ? en deux mots, y est-elle sous forme de germe, ou d'être vivant ?

Pour résoudre ces questions, on conçoit qu'il fallait recueillir cette levûre de l'air dans un liquide tout à fait privé de matières albuminoïdes. Il était essentiel d'éviter toute objection relative à la transformation de ces matières en globules de ferment. En partant des faits précédents, cela était facile : il suffisait de prendre une des liqueurs fermentescibles étudiées. Je me suis servi d'ordinaire du liquide suivant :

Sucre candi.....	10 ^{gr}
Bitartrate d'ammoniaque.....	1
Cendres de levûre.....	0,1
Phosphate d'ammoniaque.....	0,1
Eau.....	500 ^{cc}

L'emploi du bitartrate, sel acide, a pour effet d'empêcher le développement des infusoires les plus petits, qui se multiplient partout avec une rapidité singulière. Une légère acidité de la liqueur prévient toutes ces formations, comme M. Pasteur l'a montré dans ses belles recherches sur les générations spontanées.

Je m'assurai, en semant de la levûre fraîche dans ce liquide, qu'elle s'y développait parfaitement; ce liquide était d'ailleurs propre à nourrir toutes les espèces inférieures de mucédinées, auxquelles, dès lors, pouvaient s'étendre mes expériences.

Une fois cela fait, la méthode consistait à recueillir les globules en suspension dans l'air, et à mettre chacun d'eux dans les conditions de son développement ordinaire, tout en le gardant constamment à sa disposition pour étudier sous le microscope ses états successifs.

Il m'était facile de retrouver sous le microscope, quand je le voudrais, un globule déterminé placé dans le liquide nourricier. Je pouvais me servir pour cela

d'une platine mobile, imaginée autrefois par M. Pasteur pour ces mêmes expériences, et qui présentait la disposition suivante.

Cette platine (*fig. 2*) était formée de deux parties. L'inférieure (*a*) pouvait, au moyen de deux vis, se fixer sur le microscope. La partie supérieure (*b*) était mobile dans une rainure et pouvait glisser dans une direction. Un vernier au $\frac{1}{100}$ de millimètre mesurait ses mouvements. Elle portait elle-même une rainure où glissait un curseur (*c*), dont le mouvement était rectangulaire sur le précédent et mesuré avec la même précision que lui. Sur cette dernière plaque, on dispose la lame de verre portant les spores, et à l'aide des deux mouvements on présente successivement tous ses points au microscope. Chaque fois que l'on aperçoit un globule paraissant organisé, on le dessine et on en prend la position sur les verniers. Il suffira évidemment alors de remettre ceux-ci dans la même situation pour le retrouver, s'il n'a pas changé de place.

Cette dernière condition était difficile à remplir, parce qu'il fallait qu'en même temps le globule eût toutes facilités de se développer. On ne pouvait pas, par exemple, l'enfermer dans une cellule close; l'air eût bientôt manqué. Voici la disposition que j'ai adoptée.

Sur une lame de verre, je construis une petite cuve de brai formée de trois parties (*fig. 3*). Les deux extrêmes *a* et *c* sont séparées de la cuve centrale par deux cloisons formées de brins de coton dont les extrémités sont pétries dans le brai, ce qui leur donne beaucoup de solidité. C'est dans la cuve centrale que je dispose les poussières de l'air, en suspension dans le liquide nourricier, et recouvertes par un verre mince.

Voici à quoi étaient destinées les deux cuves *a* et *c*. Pendant l'observation sous le microscope, l'évaporation du liquide intérieur se faisant à travers les cloisons de coton eût produit des dérangements continuels dans les globules. On évitait cet inconvénient en maintenant constamment pleines de ce liquide les deux cuves *a* et *c*. Puis, dans l'intervalle des observations, la lame de verre était immergée dans une soucoupe contenant du liquide nourricier. La communication entre *b* et l'extérieur était alors facile au moyen des cloisons de coton; la portion de liquide renfermée dans *b* se trouvait alors dans les mêmes conditions qu'une portion quelconque du liquide extérieur. On pouvait d'ailleurs, en lavant entre deux opérations la cuve par un séjour dans l'eau distillée, soumettre les globules renfermés, sans les déranger, à l'action de divers liquides.

Cela posé, voici le procédé opératoire. Je recueille les spores de l'air en le filtrant sur du coton ordinaire, au moyen de l'aspirateur employé par M. Pasteur. La bourre de coton est malaxée dans 5 centimètres cubes du liquide nourricier, préparé au moment même. On porte alors une goutte de ce liquide dans la cuve *b*, et on l'explore au microscope en notant la position des globules qu'on rencontre.

Malheureusement, ces études ne m'ont rien donné de concluant relativement à la levûre de bière; mais le procédé est excellent si l'on veut étudier la germination des spores de mucédinées. Dans celles-ci, en effet, le mycélium est tout à fait distinct du globule mère. Rien n'est curieux comme de suivre les progrès de ces tubes ramifiés dont on suit le développement après les avoir vus naître d'un globule que l'on venait de recueillir dans l'air atmosphérique. On voit, sur les dessins que je donne à la fin de ce Mémoire, quelles différences ils présentent quelquefois à un jour de distance. Les uns s'arrêtent brusquement après avoir seulement commencé à vivre : tels sont ceux des *fig.* 5, 6 et 7; les autres (*fig.* 4) se développent de plus en plus, et envahiraient toute la cuve s'ils n'étaient pas gênés par la multiplication indéfinie des globules de levûre.

Toutes ces espèces, difficiles à définir à cause de l'absence de fructification, sont cependant, comme on le voit, bien différentes entre elles. Les *fig.* 4, 5, 6, 7 et 8 ont été prises dans une même cuve. Il n'y a eu que ces cinq germinations sur quarante et un corpuscules dont j'avais noté la présence. Il ne faut pas s'étonner de cela. Quelques-uns de ces corpuscules peuvent être inféconds. D'ailleurs, le liquide employé ne peut nourrir à l'air libre qu'un nombre limité de productions.

Parmi celles que j'ai obtenues, celle de la *fig.* 8 mérite l'attention. Il y a évidemment eu fructification. Les spores s'étaient même répandues dans le liquide et commençaient à germer comme le représente la figure, lorsque la levûre est venue gêner leur développement ultérieur.

Je ferai remarquer que ce procédé s'applique à l'étude du développement des œufs d'infusoires. Il suffit, pour empêcher ceux-ci une fois nés de voyager dans le liquide, d'introduire dans la cuve *b* une petite rondelle de batiste fine qui retient les infusoires entre ses mailles. J'étais arrivé, par ce procédé, à des résultats analogues à ceux que M. Coste a obtenus depuis en étudiant la poussière de foin. J'ai pu, par exemple, suivre la transformation complète d'un kolpode que j'ai vu successivement s'enkyster, se diviser en deux, puis en quatre portions, et constituer ainsi quatre infusoires distincts. J'ai l'intention de reprendre cette étude, dont j'avais communiqué les premiers résultats à M. Pasteur, et que j'aurais continuée si les belles observations de M. Coste n'étaient venues lui enlever un peu de sa raison d'être.

DE L'ORIGINE DE L'ACIDE ACÉTIQUE PRODUIT PENDANT LA FERMENTATION ALCOLIQUE.

Lorsqu'on évapore un liquide fermenté que l'on a abandonné à lui-même sans prendre de grandes précautions pour empêcher l'accès de l'air, on observe constamment la présence de l'acide acétique. Cet acide peut provenir de deux causes bien différentes : 1° de l'action oxydante exercée sur l'alcool par le *mycoderma aceti*, si l'air a été en contact avec le liquide; 2° dans tous les cas, de la fermentation elle-même.

La première cause est accidentelle, la seconde seule est normale. L'acide qui en provient est le seul qui puisse être compté comme un terme constant de la fermentation alcoolique. Il serait bien difficile de dire qui lui a reconnu le premier d'une manière nette ce caractère.

Lavoisier trouve cet acide parmi les produits d'une fermentation alcoolique. La quantité qu'il en obtient est si considérable (2,5 pour 100 du poids du sucre), qu'il n'est pas possible d'admettre que la plus grande partie n'ait été produite par oxydation. Lavoisier, d'ailleurs, n'établissant jamais son équation fondamentale qu'entre le sucre d'un côté, l'acide carbonique et l'alcool de l'autre, on peut croire qu'il ne se faisait pas illusion sur l'origine de l'acide acétique qu'il avait observé.

Il ne faudrait pas penser, en effet, qu'à l'époque de Lavoisier on n'eût pas déjà sérieusement réfléchi à cette production de l'acide acétique pendant la fermentation alcoolique. Voici en effet ce que dit Berthollet dans un passage de sa *Statique chimique* :

« L'oxygène qui s'absorbe pendant la fermentation acétique, selon l'observation de Rosier, peut servir à décomposer la combinaison vineuse, ou bien il entre immédiatement dans la constitution de l'acide acétique. Mais à en juger par l'altération du vin qu'on laisse en contact avec l'air, il produit beaucoup plus le premier effet que le second. Cependant la formation de l'acide acétique n'est pas toujours due à ces deux causes; il s'en forme pendant la fermentation vineuse du sucre et de la levûre, même sans communication avec l'air : il est vrai qu'alors il peut être dû à la portion d'amidon que contient toujours la levûre; c'est un objet qui reste à éclaircir (1). »

(1) *Statique chimique*, p. 525.

M. Béchamp (1) est le premier qui ait énoncé d'une manière formelle ce fait, que l'acide acétique était un terme constant de la fermentation alcoolique, et que ce n'était pas le seul acide gras qui prît naissance. Il en a en effet trouvé dans le vin jeune, dans les fermentations accomplies à l'abri de l'air. En opérant sur une grande échelle, il a même pu préparer 65 grammes d'une combinaison de soude avec ces acides gras, qu'il a démontrés être surtout de l'acide acétique.

Mais d'où viennent ces acides? M. Béchamp n'a pas remarqué qu'ils pouvaient avoir deux origines très-distinctes, et qu'ils pouvaient provenir soit du sucre, soit de la levûre.

Lorsque, dans une fermentation alcoolique, on voit un poids déterminé de sucre être transformé en alcool par un poids de levûre cent et mille fois plus petit, il est bien difficile de croire que ce sucre a fait, à une époque quelconque, partie des matériaux de la levûre, et qu'il est quelque chose comme un produit d'excrétion. De même pour l'acide succinique et la glycérine. Les poids de ces deux corps produits pendant la fermentation alcoolique peuvent être rendus plus grands que le poids de levûre agissante, et c'est d'une expérience faite dans ces conditions que M. Pasteur a conclu que la glycérine et l'acide succinique provenaient directement du sucre, non de la levûre, au même titre que l'alcool. Il n'en est pas moins vrai cependant que la levûre vit pendant la fermentation, qu'il se développe des globules nouveaux pendant que les anciens meurent; j'ai même montré, à la fin du Mémoire précédent, que ce travail de rénovation des tissus était dans certains cas d'une énergie extrême. Il y a donc assimilation et désassimilation. Pour la première, M. Pasteur a montré qu'en dehors du grand mouvement qui transforme le sucre en alcool, il y avait un mouvement vital portant sur les globules nouveaux une partie de la substance du sucre. Je viens essayer de démontrer que les acides gras volatils sont des produits de désassimilation, d'excrétion, et qu'ils doivent être dits provenir de la levûre, non du sucre.

Ces acides, comme l'a montré M. Béchamp, sont surtout de l'acide acétique; je m'en suis assuré moi-même, lorsque j'ai pu m'en procurer en quantité suffisante. Ainsi, dans une opération, je recueille un sel de chaux que je purifie par deux ou trois cristallisations successives, en ne prenant à chaque fois que la partie la plus immédiatement soluble dans l'alcool.

Le dernier produit obtenu était cristallisé en aiguilles. Traité par l'acide sulfurique, il dégagait une vive odeur d'acide acétique. 0^{gr},415 de ce sel desséché à 120 degrés ont fourni 0^{gr},142 de chaux, ce qui fait 34,19 pour 100 de chaux, au lieu de 34,57 qu'exigerait la formule de l'acétate. Aussi, dans ce travail, dirai-je indifféremment acide acétique ou acides gras.

(1) *Comptes rendus*, 18 mai 1863.

Il fallait maintenant trouver un procédé de dosage. Il n'y en a pas de précis et d'applicable aux faibles quantités d'acide que j'avais à étudier. La distillation pouvait en devenir un, mais il n'y avait rien de bien connu sur la manière dont cet acide y passe. Je fus donc conduit à faire quelques essais.

Ils étaient faciles. Il suffisait de distiller un liquide contenant des proportions connues d'acide acétique, et de voir ce que l'on en recueillait par la distillation. Je dosais l'acide par l'eau de chaux. Je ne crois pas que ce moyen mérite les critiques que lui a adressées M. Mohr dans son ouvrage sur les liqueurs titrées. Il est vrai que l'acétate de chaux, étant alcalin, fait tourner au violet la teinture de tournesol, lorsqu'il est en quantité assez grande dans une liqueur acide; mais si l'on ajoute une goutte d'eau de chaux en excès, le virage de la teinte du violet au bleu franc est si net, que le procédé peut passer pour bon.

J'opérais d'ordinaire sur une liqueur acide telle, que 10 centimètres cubes exigeaient pour être saturés 23^{cc},9 d'eau de chaux, dont 26^{cc},9 saturent 0^{gr},06125 d'acide sulfurique monohydraté (1). 110 centimètres cubes de cette liqueur sont distillés à siccité dans une cornue. Le produit n'exige que 250 centimètres cubes de la même eau de chaux. Si tout l'acide avait passé, il en faudrait 263^{cc},0.

Tout l'acide n'est donc pas passé. Il en reste en effet une couche sur les parois de la cornue. J'ajoute 20 centimètres cubes d'eau, et je distille de nouveau. Je lave ainsi les parois, et le liquide qui passe exige 13^{cc},7 d'eau de chaux, qui, ajoutés aux 250 centimètres cubes obtenus déjà, font 263,7 au lieu de 263,0. On a donc obtenu tout l'acide acétique.

Malheureusement, la distillation sèche était impraticable dans les conditions de mes expériences, avec des liquides tenant en dissolution des matières albuminoïdes très-altérables. Je pensai alors à ne distiller qu'une fraction déterminée du liquide à étudier. Je ne devais ainsi recueillir, d'après l'essai précédent, qu'une portion de l'acide, mais il était probable que cette portion serait d'autant plus grande, qu'il y aurait plus d'acide dans la liqueur.

Quelques essais préliminaires m'ayant montré que le terme de $\frac{10}{11}$ dans une distillation pouvait toujours être atteint sans danger, même pour des liquides très-chargés de matière albuminoïde, j'ai pour cette raison, et pour d'autres que je dirai plus tard, pris l'habitude de placer dans une cornue 110 centimètres cubes, et d'en distiller 100. Afin de pouvoir étudier la marche de l'opération, je fractionnais ces 100 centimètres cubes en dix portions de 10 centimètres cubes chacune, que je dosais à part au moyen de l'eau de chaux.

Le tableau suivant renferme le résumé des essais que j'ai faits dans ces conditions. La première colonne contient les résultats obtenus avec 110 centimètres

(1) Je dirai dorénavant *eau de 26,9*.

cubes de la liqueur dont j'ai parlé ci-dessus. Puis on a pris 10, 20, 30, 40 centimètres cubes de cette liqueur que l'on a étendus à 110 et distillés. On a ainsi obtenu les nombres des quatre colonnes suivantes. La première série des nombres de chaque colonne représente les quantités d'eau de chaux nécessaires pour saturer l'acide passé dans chaque portion de 10 centimètres cubes; la deuxième série, la proportion d'acide passé dans toutes les portions recueillies jusque-là. La dernière colonne donne les moyennes de ces proportions.

	110 ^{cc} .		10 ^{cc} .		20 ^{cc} .		30 ^{cc} .		40 ^{cc} .		MOYENNE.
	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	
1	14,6	5,5	1,35	5,6	2,6	5,5	4,3	6,0	5,15	5,4	5,6
2	16,5	11,8	1,5	11,8	2,9	11,6	4,35	12,0	5,6	11,3	11,7
3	17,0	18,3	1,5	18,2	2,9	17,6	4,55	18,5	5,8	17,4	18,0
4	17,9	25,1	1,55	24,6	3,15	24,2	4,55	24,9	5,95	23,6	24,3
5	18,9	32,2	1,6	31,5	3,25	31,0	5,0	31,8	6,3	30,2	31,3
6	20,0	39,8	1,7	38,6	3,35	37,9	5,45	39,6	6,7	37,3	38,7
7	21,2	47,8	1,8	46,1	3,75	45,8	5,7	47,4	7,2	44,8	46,4
8	23,3	56,7	1,95	54,3	4,05	54,3	6,3	56,3	8,25	53,4	55,0
9	26,1	66,3	2,45	64,8	4,7	64,2	7,0	66,1	8,95	62,8	64,8
10	30,8	78,4	2,85	76,7	5,85	76,6	8,6	78,1	11,05	74,4	76,8

La marche de ces distillations est, comme on le voit, aussi identique que possible, quoiqu'elles aient été faites dans des conditions bien différentes. Dans les unes, en effet, on a distillé le mélange d'acide et d'eau tel qu'on l'obtenait; dans les autres, l'acide a d'abord été saturé, puis remis en liberté par l'acide phosphorique. Néanmoins, la régularité est telle, qu'il est possible de calculer presque rigoureusement ce qu'il y a d'acide acétique dans une liqueur, sachant ce qui en a distillé dans un volume déterminé. Mais, pour appliquer sûrement ces résultats, j'avais une autre étude à faire. Mes liquides acides n'étaient pas en effet des dissolutions d'acide acétique dans l'eau pure; ils étaient en outre alcooliques et renfermaient de la glycérine et autres produits. Il importait de savoir comment se comportaient à la distillation de pareils liquides.

Pour le savoir, je mélangeai à 20 centimètres cubes de la liqueur précédente, saturant 47^{cc},6 d'eau de chaux de 26,9, d'abord 2, puis 10 grammes de glycérine; je ramenai au volume de 110 centimètres cubes, et je distillai en fractionnant les produits comme précédemment. Voici les résultats :

	20 ^{cc} .		20 ^{cc} + 2 ^{gr} de glycérine.		20 ^{cc} + 10 ^{gr} de glycérine.	
	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.
1	2,6	5,5	2,55	5,4	2,75	5,8
2	2,9	11,6	2,75	11,1	2,75	11,5
3	2,9	17,6	2,9	17,2	2,85	17,5
4	3,15	24,2	3,1	23,7	3,05	23,0
5	3,25	31,0	3,15	30,4	3,1	30,5
6	3,35	37,9	3,3	37,3	3,2	37,2
7	3,75	45,8	3,55	44,8	3,5	44,5
8	4,05	54,3	4,1	53,3	3,8	52,7
9	4,7	64,2	4,55	62,9	4,45	61,8
10	5,85	76,6	5,45	74,4	5,35	73,1

L'influence des substances dissoutes paraît donc nulle. On peut cependant remarquer que plus il y a de glycérine, moins il passe d'acide acétique.

Pour connaître maintenant l'influence de l'alcool, il n'y avait qu'à ajouter à 20 centimètres cubes de la même liqueur acide, d'abord 10, puis 20 centimètres cubes d'alcool à 90 degrés.

	20 ^{cc} .		20 ^{cc} + 10 ^{cc} d'alcool.		20 ^{cc} + 20 ^{cc} d'alcool.	
	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.
1	2,6	5,5	1,4	2,9	1,0	2,1
2	2,9	11,6	2,05	7,2	1,5	5,3
3	2,9	17,6	2,7	12,9	2,25	10,0
4	3,15	24,2	3,15	19,5	3,0	16,3
5	3,25	31,0	3,35	26,6	3,5	23,7
6	3,35	37,9	3,55	34,1	3,85	31,8
7	3,75	45,8	3,9	42,2	4,15	40,4
8	4,05	54,3	4,3	51,2	4,55	50,0
9	4,7	64,2	4,95	61,8	5,25	61,0
10	5,85	76,6	6,15	74,5	6,95	75,6

On voit qu'à mesure que la quantité d'alcool augmente, les proportions d'acide acétique qui passent au commencement de la distillation sont de plus en plus faibles; mais, en revanche, aussitôt que l'alcool a disparu, la liqueur étant d'autant plus riche en acide qu'elle s'est tout d'abord moins appauvrie, les proportions augmentent, et finalement le résultat est le même, quelle qu'ait été la composition de la liqueur.

Pour plus de sûreté, j'ai cherché encore ce que donnait la distillation d'un liquide à la fois glycérique et alcoolique, et j'ai retrouvé les mêmes résultats.

J'étais donc en possession d'un procédé permettant de doser assez facilement et assez exactement de très-faibles quantités d'acide acétique ou d'un acétate existant dans un liquide. Toutefois, bornés là, ces essais n'eussent pas été suffisants, à cause de la présence dans les liquides de fermentation des acides gras qui accompagnent l'acide acétique. Il était nécessaire de savoir comment se comportaient ces acides dans les conditions des expériences précédentes.

J'ai étudié surtout les acides butyrique et valérianique, qui paraissent les deux plus importants, après l'acide acétique.

Voici les résultats obtenus pour l'acide butyrique. La liqueur acide employée était telle, que 10 centimètres cubes demandaient pour leur saturation 69^{cc},7 d'eau de chaux de 26^{cc},9. J'en ai distillé d'abord 110 centimètres cubes, puis 10 centimètres cubes étendus à 110.

	110 ^{cc} .		10 ^{cc} .	
	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.
1	103,6 (*)	13,4	9,25 (*)	13,3
2	110,5	27,7	10,7	28,7
3	105,6	41,4	9,75	42,7
4	95,0	53,8	8,6	55,0
5	84,0	64,8	7,4	65,5
6	72,0	74,2	6,35	74,7
7	60,0	82,0	5,25	82,4
8	50,0	88,5	4,15	88,4
9	40,0	93,7	3,35	93,2
10	30,0	97,8	2,65	97,0
11	20,0	100,2	1,85	99,8

(*) Il y a une irrégularité pour les premiers termes de chacune de ces séries qui ne sont pas régulièrement décroissantes. Cela tient à ce qu'une fraction variable des 10 premiers centimètres cubes distille avant l'ébullition, et renferme alors moins d'acide.

La régularité des nombres est, comme on le voit, aussi grande que pour l'acide acétique, mais il y a une chose singulière : tandis que l'acide acétique, qui bout à 125 degrés, ne passe que très-difficilement à la distillation, l'acide butyrique, qui bout à 164 degrés, suit les premières portions de liquide, et j'ai poussé exprès la distillation à siccité pour montrer qu'on peut l'obtenir complètement.

Restait à chercher ce qui se passait quand on faisait des mélanges en diverses proportions d'acide butyrique et d'acide acétique, dont le mode de distillation était si différent. Le tableau suivant résume les essais faits dans ce sens. La présence de l'alcool étant, comme je l'ai montré, indifférente, j'en ai ajouté dans deux cas et pas dans les deux autres.

	25 ^{cc} d'acide acétique + 10 ^{cc} d'acide butyrique.		25 ^{cc} d'acide acétique + 4 ^{cc} d'acide butyrique + 10 ^{cc} d'alcool.		25 ^{cc} d'acide acétique + 2 ^{cc} d'acide butyrique.		25 ^{cc} d'acide acétique + 1 ^{cc} d'acide butyrique + 10 ^{cc} d'alcool.	
	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.	cc	Pour 100.
1	15,0	11,2	4,15	4,5	5,35	6,9	2,55	3,6
2	14,7	22,2	5,9	10,9	5,3	13,8	3,25	8,2
3	13,9	32,4	7,65	19,3	5,8	21,2	4,7	14,9
4	12,75	42,0	8,25	28,3	5,8	28,8	5,05	22,1
5	11,85	50,8	8,30	37,4	5,85	36,3	5,3	29,6
6	10,95	58,9	8,0	46,1	6,0	44,1	5,55	37,5
7	10,35	66,7	7,95	54,8	6,15	52,0	5,8	45,8
8	9,85	74,0	7,95	63,5	6,45	60,4	6,35	54,9
9	9,85	81,4	8,3	72,5	7,1	69,5	7,35	66,8
10	10,35	89,2	9,35	82,7	8,4	80,4	8,4	78,4

Le liquide acétique employé était tel, que 10 centimètres cubes exigeaient pour la saturation 25^{cc},3 d'eau de chaux de 28,6, et le liquide butyrique tel, que 10 centimètres cubes exigeaient 71 centimètres cubes de la même eau de chaux. En étudiant la première série de nombres dans chaque essai, on voit que la marche de la distillation dépend de la proportion des deux acides contenus dans le liquide. Ainsi, pour le premier essai, où les deux acides sont à équivalents égaux, le caractère dominant est celui d'une distillation avec acide butyrique seul. L'influence de l'acide acétique ne se fait sentir qu'à la fin, où le titre des diverses prises, après être resté un instant stationnaire, recommence à croître. Cette influence est plus sensible dans le deuxième essai, où le rapport des équivalents est à peu près de 2 à 1; elle apparaît dès la huitième prise. Elle est plus sensible encore dans le troisième, où il y a à peu près 5 équivalents d'acide acétique pour 1 d'acide butyrique. Enfin, dans le quatrième essai, où il y a un excès d'acide acétique, l'autre acide n'intervient que pour augmenter les nombres au commencement de la série, qui est du reste croissante, comme s'il n'y avait pas de ce dernier acide.

J'ai obtenu les mêmes résultats avec l'acide valérianique. Comme l'acide butyrique, il passe dans les premiers produits de la distillation. Les mélanges d'acide acétique et d'acide valérianique se comportent comme les mélanges du tableau précédent, et les mêmes conclusions subsistent.

Or, ces conclusions étaient la possibilité non-seulement de doser les acides volatils, de quelque nature qu'ils soient, renfermés dans une liqueur, mais encore d'être renseigné d'une manière assez précise sur leur composition. Il est évident, en effet, que si en distillant un liquide de fermentation, et en fractionnant les produits comme précédemment, j'obtenais une série régulièrement croissante pour les quantités d'acide, ce devait être de l'acide acétique à peu près pur. De même pour

l'acide butyrique ou valérianique, si la série était décroissante. Si au contraire c'était un mélange que l'on distillait, la marche des nombres obtenus en avertissait fidèlement. J'ai fait divers essais de cette nature; tous les liquides que j'ai étudiés se sont montrés comme contenant un mélange d'acides gras, mais dans lesquels l'acide acétique dominait. La marche des nombres s'est généralement rapprochée de celle du troisième essai du tableau ci-dessus; la progression redevenait croissante à partir de la quatrième ou de la cinquième prise. J'ai donc pu supposer, d'après les résultats précédents, que lorsque j'avais distillé les $\frac{1.0}{1.1}$ de ces liquides, j'avais obtenu environ $\frac{8.0}{10.0}$ de l'acide total. Je multipliais donc le nombre de centimètres cubes d'eau de chaux employés pour la saturation par $\frac{5}{4}$, et j'évaluais le tout en acide acétique, qui est l'acide dominant. C'est ainsi que j'ai obtenu tous les nombres donnés dans ce travail.

Pour ne laisser prise à aucune objection, j'ai toujours, comme on le verra, fait des expériences comparatives. J'obtenais ainsi deux liquides que j'étudiais de la même manière, dont je distillais les mêmes quantités, et autant que possible dans les mêmes conditions. En outre, chaque expérience a été répétée au moins trois fois avec des proportions différentes de matières. Je pense ainsi m'être mis à l'abri de toutes les causes d'erreurs, si nombreuses quand on s'occupe des fermentations et qu'on a, comme j'avais à le faire, à étudier les variations de quantités extrêmement petites d'un de leurs produits.

Je résume la manière d'opérer. 110 centimètres cubes du liquide de fermentation, filtré bien limpide, évaporé après saturation si son trop grand volume rendait cette opération nécessaire, étaient distillés au volume de 100 centimètres cubes. Dans le liquide distillé, on dosait les acides libres au moyen de l'eau de chaux; on multipliait le nombre lu sur la burette par $\frac{5}{4}$, et on avait la quantité totale d'acide que l'on évaluait en acide acétique.

Il y avait dans cette opération une cause d'erreur qu'il importait d'éviter. Le liquide distillé contenait toujours de l'acide carbonique, dont la présence a les inconvénients que j'ai détaillés à propos du dosage de l'ammoniaque. Exposer le liquide dans le vide eût été ici un procédé un peu long, le faire bouillir eût fait disparaître une portion de l'acide. Il est plus commode d'y insuffler de l'air et de chasser ainsi l'acide carbonique par déplacement. On enfonce dans le liquide, contenu dans une longue éprouvette, un tube de verre communiquant avec la buse d'un soufflet. Cinq minutes d'insufflation sont toujours suffisantes. Le dosage est alors facile, et la couleur du tournesol, une fois virée au bleu, conserve indéfiniment cette nuance. Quant à la perte d'acide occasionnée par ce procédé, elle est tout à fait nulle, ainsi que je m'en suis assuré directement, et comme il est d'ailleurs facile de le prévoir, les 100 centimètres cubes sur lesquels j'agissais ne renfermant jamais $\frac{1}{1000}$ de leur poids d'acide acétique.

Pour mettre en liberté les acides volatils dans un liquide renfermant leurs sels de chaux, j'ai toujours employé l'acide phosphorique de préférence à l'acide sulfurique. Il est, je crois, absolument impossible d'éviter le passage de ce dernier à la distillation, et en quantités assez sensibles pour fausser un dosage. Avec l'acide phosphorique, ou même l'acide tartrique, l'erreur devient insignifiante.

Ces préliminaires posés, entrons dans l'étude des faits.

I. *Présence constante de l'acide acétique dans la levûre.*

Il est d'abord facile de se convaincre que la levûre renferme toujours de l'acide acétique, qu'elle provienne d'une brasserie ou de chez un levûrier. Il suffit pour cela qu'elle ne vienne pas d'être lavée à grande eau et qu'elle ait été abandonnée quelque temps à elle-même.

Aussi, le 19 mars 1864, je fais retirer du milieu d'un sac de levûre une masse de cette matière pesant 500 grammes. Cette levûre est très-belle, très-blanche, grasse au toucher, et aussi sèche qu'il est possible de l'obtenir par une compression puissante exercée sur le sac. L'examen le plus attentif au microscope n'y fait découvrir que des globules de levûre ronds et translucides. Je délaye simplement cette levûre dans 2 litres d'eau et je jette le tout sur un filtre. L'eau de lavage, qui passe assez trouble, est précipitée par un excès d'eau de chaux, refiltrée à peu près limpide, évaporée et traitée pour l'acide acétique : elle en renferme 0^{gr}, 329.

Or, cet acide acétique ne provient évidemment pas de celui que la levûre aurait pu apporter du liquide dont elle est sortie. La prise d'essai avait d'ailleurs été faite au centre du sac, où certainement l'air n'avait pas accès. L'acide obtenu provenait donc de la levûre. Il était du reste facile de le montrer directement.

120 grammes de levûre bien fraîche, et lavée trois fois à grande eau par décantation, sont abandonnés à eux-mêmes pendant deux jours. Une fermentation visible s'y produit. Comme l'avait observé M. Pasteur, des bulles d'acide carbonique pur se dégagent du sein de la masse. Dans cet intervalle, aucun ferment étranger n'intervient soit dans la levûre, soit à la surface du liquide. Cependant, en lavant la levûre au bout de ces deux jours et en distillant le liquide de lavage, on trouve d'abord qu'il renferme de l'alcool, puis 0^{gr}, 054 d'acide acétique.

Or, que s'est-il passé dans cette levûre pendant ces deux jours ? Une véritable fermentation alcoolique. « La levûre très-active que l'on délaye dans l'eau, dit M. Pasteur, porte son activité sur ses propres tissus. Il se produit de l'alcool en quantités extrêmement petites et de l'acide carbonique parfaitement pur, et on voit les globules s'altérer, absolument comme il arrive dans le cas des fermentations alcooliques ordinaires.... Le gaz hydrogène n'apparaît, la formation de l'al-

cool ne s'arrête qu'après les premiers jours, alors que le microscope fait voir diverses levûres, notamment la levûre lactique et des infusoires (1). »

Malheureusement, ce dernier phénomène se produit toujours très-rapidement, et on ne peut pas abandonner ainsi la levûre longtemps à elle-même. Mais le fait de la production d'acide acétique, en l'absence complète de sucre, n'en est pas moins évident, et il se montre corrélatif d'un phénomène de vie dans la levûre, d'une combustion exercée par celle-ci sur ses propres tissus. L'étude des fermentations alcooliques va nous ramener aux mêmes conclusions.

L'idée qui est en effet née de mes études et que je vais essayer de démontrer, c'est que la production d'acide acétique dans une fermentation alcoolique est liée à la destruction de la levûre pendant la fermentation. Je montrerai que les deux faits, de destruction rapide des tissus de la levûre et de production exagérée d'acide acétique, s'accompagnent toujours, et que cette dépendance permet d'expliquer toutes les anomalies que présentent les diverses proportions d'acides gras développées pendant les fermentations.

II. Fermentation subséquente de la levûre lorsque le sucre a disparu.

Lorsque la quantité de levûre est exagérée vis-à-vis de celle du sucre, la fermentation est très-rapide. Si, lorsqu'elle est terminée, on examine la levûre, on la voit formée de globules portant pour la plupart un jeune bourgeon. M. Pasteur a montré que ceux-ci avaient une vitalité persistante après la disparition complète du sucre, et il a fait voir qu'alors les jeunes globules vivaient aux dépens du globule mère. En effet, dans une masse où l'on a pour ainsi dire amorcé la levûre en introduisant peu de sucre, on voit la vie se continuer après que le sucre a disparu; le dégagement de gaz ne s'arrête pas et on observe les mêmes phénomènes que ceux que présente la levûre bien fraîche abandonnée à elle-même. Voyons si pendant cette deuxième période de la fermentation il ne se produirait pas, comme précédemment, de l'acide acétique.

Pour le savoir, je dispose les trois fermentations suivantes avec de la levûre fraîche et bien lavée.

I.		II.		III.	
Levûre	250 ^{gr}	Levûre	250 ^{gr}	Levûre	250 ^{gr}
		Sucre candi...	50	Sucre candi...	50

Le liquide I donnait la quantité d'acide acétique que la levûre apportait avec elle; l'un des deux autres, filtré aussitôt le sucre disparu, donnait la quantité

(1) *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LVIII, p. 420.

d'acide produite pendant la fermentation; le troisième était abandonné à lui-même pour subir la fermentation subséquente.

Avec ces proportions de sucre et de levûre, la fermentation est extrêmement énergique et rapide. Commencée le 27 avril à huit heures du matin, elle est tout à fait terminée le soir à trois heures; les 50 grammes de sucre ont disparu. Il est nécessaire pour cette étude de savoir saisir assez exactement le moment où il n'y a plus de sucre. Tant qu'il en reste, l'agitation à l'intérieur du liquide est extrême, la levûre est répandue partout et l'acide carbonique se dégage dans toute la masse. Sitôt que le sucre a été transformé en entier, la levûre se dépose au fond; c'est alors elle seule qui fermente, et on voit partir du milieu de la couche qu'elle forme une foule de grosses bulles qui montent à la surface entourées d'une épaisse gaine de levûre. Aussitôt qu'on aperçoit ce phénomène, on peut être certain qu'il n'y a plus de sucre.

A 3 heures je filtre les deux liquides I et II. Pour bien laver la levûre qui reste sur le filtre, je la mets en suspension dans de l'eau que je porte à 70 degrés. Je filtre ensuite de nouveau.

Le liquide non fermenté, I, contient 0^{gr},327 d'acide acétique. Quant au liquide fermenté, il en contient 0^{gr},351. Il s'est donc produit très-peu d'acide acétique pendant cette fermentation, qui est une fermentation alcoolique ordinaire, comme je m'en suis assuré. Il y a en effet dans le liquide les produits habituels. On peut, par exemple, en retirer de la glycérine. Pour cela, on traite le résidu de l'évaporation du liquide par le mélange éthéro-alcoolique employé par M. Pasteur. Seulement cette première opération donne une glycérine impure, amère au goût. Pour la purifier, on la reprend par un liquide alcoolique plus éthéré que le précédent (100 alcool, 200 éther). On évapore, puis on verse quelques gouttes d'acétate de plomb. On filtre, on précipite l'excès de sel de plomb dans le liquide filtré par l'hydrogène sulfuré, et en évaporant doucement, pour laisser à l'acide acétique le temps de partir, on a de la glycérine avec l'odeur et le goût que présente toujours cette substance, lorsqu'elle provient d'un liquide de fermentation.

Étudions maintenant ce qui se passe dans le liquide où le sucre a disparu, et où la levûre est abandonnée à elle-même. Le dégagement de gaz y continue, on dirait une fermentation ordinaire. La levûre est tassée au fond; de petites bulles se dégagent des couches superficielles; les couches profondes envoient de grosses bulles qui montent à la surface, entraînant avec elles une enveloppe de levûre. Nul doute qu'il ne se produise de l'alcool. M. Pasteur l'a démontré dans son Mémoire.

Mais en même temps de l'acide acétique prend naissance et en quantités d'autant plus grandes, que l'on abandonne le liquide plus longtemps à lui-même. J'ai conservé de ces fermentations subséquentes pendant six à huit jours, sans voir

intervenir rien d'étranger. Mais pour éviter toute objection relative à la difficulté d'explorer suffisamment avec le microscope les diverses parties de cette fermentation, je l'arrête au bout de deux jours. La levûre, très-pure, a changé d'aspect; la matière intérieure paraît s'être condensée en petites granulations; la vacuole que présentait la levûre fraîche a disparu, le globule a l'aspect un peu flétri.

Or, ce liquide renferme 0^{gr}, 527 d'acide acétique. La quantité de cet acide produite pendant la fermentation consécutive de celle du sucre est donc considérable, et elle se montre encore ici corrélative d'une destruction de tissus.

J'ai répété ces expériences sur des quantités différentes de sucre et de levûre. Un de mes essais, par exemple, a été fait en mélangeant 100 grammes de sucre candi à 500 grammes de levûre. Tout le sucre a disparu en treize heures. Le résultat est toujours le même : la production d'acide acétique, faible pendant la fermentation du sucre, s'exagère beaucoup pendant celle de la levûre.

Ce procédé expérimental, quoique sûr dans ses résultats, ne se prêtait pas à une étude rigoureuse, à cause de la difficulté de manier d'aussi grandes masses de levûre. Malheureusement, il était impossible de le ramener à des proportions plus restreintes sans diminuer considérablement la quantité d'acide acétique formé, et la rendre insensible. J'ai cependant réussi, par un artifice particulier, à refaire sur une échelle réduite l'essai précédent, c'est-à-dire à placer de petites quantités de levûre dans un état de vie très-active dans un liquide de fermentation où elles avaient pourtant transformé des quantités notables de sucre, et j'ai pu observer sur elles les mêmes faits que précédemment. Voici le moyen que j'ai employé.

III. *Fermentation en présence du tartrate d'ammoniaque.*

Dans le travail sur l'absorption de l'ammoniaque par la levûre, j'ai parlé de la rapidité vraiment singulière qu'imprime à une fermentation la présence du tartrate d'ammoniaque. La vitalité de la levûre est augmentée : ses globules ne s'épuisant pas en azote, comme ils le font dans les fermentations ordinaires, se trouvent toujours jeunes et frais, et l'effet produit est le même que si la levûre était en poids beaucoup plus considérable. Cette analogie avec le cas précédent se soutient jusqu'à la fin, et dans ces conditions, une fois la fermentation normale accomplie, il peut se produire une fermentation subséquente donnant naissance à de l'acide acétique.

Le 5 juillet 1864, je place à l'étuve les liquides de fermentation suivants :

I.		II.	
Sucre candi.....	30 ^{gr}	Sucre candi.....	30 ^{gr}
Levûre fraîche (sèche, 1 ^{gr} ,847)	10	Levûre fraîche (sèche, 1 ^{gr} ,847).	10
Tartrate d'ammoniaque.....	1	Tartrate droit d'ammoniaque...	1
Cendres de levûre (1).....	0,1	Cendres de levûre.....	0,1

Le 7 juillet, la fermentation normale est terminée dans les deux. Tout le sucre a disparu. Voici à quoi on s'en aperçoit :

Tant qu'il y a du sucre, la fermentation est rapide et marche à peu près avec la même activité du commencement à la fin. Puis vient un moment où le dégagement cesse à peu près tout à coup. A ce moment, le liquide tout trouble commence à laisser déposer de la levûre, et il ne se produit plus qu'une foule de très-petites bulles de gaz partant du fond. On peut alors être sûr qu'il n'y a plus de sucre.

J'enlève alors le liquide I que je filtre. Quant au liquide II, il continue encore longtemps à fermenter, et l'analogie d'aspect est complète avec la fermentation avec excès de levûre. Le dégagement gazeux, lent mais continu, durait encore le 11 juillet. Je filtre et j'étudie ce jour-là le liquide.

Si l'on cherche la quantité d'acide acétique développée dans I et II, on trouve que I en renferme 0^{gr},136 et que II en renferme 0^{gr},178. 42 milligrammes d'acide ont donc pris naissance pendant la fermentation subséquente à celle du sucre. Or dans ce cas, plus facilement que dans le précédent, on peut montrer que cette fermentation secondaire a été accompagnée d'une destruction des tissus de la levûre.

En effet, le poids de cette substance dans I est de 2^{gr},550, dans II de 2^{gr},180 seulement. Il y a donc eu ici, en même temps, destruction de tissus et production d'acide.

L'étude des quantités d'ammoniaque disparues dans ces deux liquides est curieuse. Sur les 0^{gr},184 introduits, il y a eu 0^{gr},105 absorbés dans I et 0^{gr},106 dans II. L'absorption dans la fermentation subséquente est, comme on le voit, extrêmement faible, et nullement comparable à l'absorption considérable faite par la levûre pendant la transformation du sucre.

L'aspect des deux levûres au microscope présente les mêmes différences que dans le cas des fermentations avec excès de levûre. Seulement, elles sont ici mieux accusées. Celle de I (*fig. 9*) est formée de globules turgescents d'une transparence parfaite, portant presque tous un petit globule à bords peu nets. Un certain nombre de ces globules beaucoup plus petits que les premiers paraissent réduits

(1) La présence des cendres de levûre n'est pas indispensable; elles sont destinées à fournir aux globules nouveaux leurs éléments minéraux, mais la destruction rapide de tissus qui se produit dans un pareil liquide suffit amplement à cela.

à leur enveloppe et ne présentent rien à l'intérieur. Les globules de II (*fig. 10*) sont plus isolés, à bords épais, granuleux à l'intérieur; le nombre des globules vides y est plus grand que dans I.

J'ai répété cette expérience toujours avec les mêmes résultats. Je donne dans le tableau suivant le résumé de deux cas où l'étude a été complète: c'est le précédent, et un autre accompli avec des proportions différentes de sucre et de levûre.

SUCRE.	TARTRATE.	LEVURE AVANT.	LEVURE APRÈS.	ACIDE ACÉTIQUE formé.	AMMONIAQUE disparue.
gr	gr	gr	gr	gr	gr
30	1	1,847	2,550	0,136	0,105
30	1	1,847	2,180	0,178	0,106
5	0,25	0,104	0,171	0,030	0,013
5	0,25	0,104	0,110	0,051	0,014

L'idée qui ressort des expériences précédentes est celle-ci: toutes les fois que la levûre vit aux dépens d'elle-même, en se détruisant, elle donne naissance à de l'acide acétique. Mais d'où provient celui que l'on trouve dans toutes les fermentations accomplies en dehors des conditions spéciales où je me suis placé jusqu'ici? d'où provient celui qui prend naissance pendant la période normale des fermentations précédentes? C'est ce que nous allons rechercher.

IV. *Fermentations avec eau de levûre et sans eau de levûre.*

Qu'arrivera-t-il, si nous plaçons en présence d'une quantité assez notable de sucre candi dissous dans l'eau distillée un poids relativement minime de levûre fraîche? M. Pasteur a montré que dans ce cas, malgré les mauvaises conditions où elle se trouve, la levûre n'en va pas moins faire fermenter le sucre. Elle bourgeonnera comme à l'ordinaire; seulement, les globules nouveaux ne trouvant en dehors d'eux, dans le sucre, qu'un aliment carboné, vont emprunter l'azote aux globules mères. Par le fait de leur existence, la levûre formée au commencement sera donc soumise à une destruction perpétuelle tant qu'il y aura du sucre à transformer. Cela est si vrai, que si, à un moment quelconque, on étudie la levûre d'une fermentation pareille, on voit au milieu de globules jeunes et vigoureux une quantité notable de globules à parois épaisses, sans granulations ni liquide intérieur. J'emploierai un mot un peu vulgaire, mais tout à fait caractéristique, en disant qu'ils paraissent vidés. Plaçons en regard une fermentation pareille pour le sucre et la levûre, mais dans laquelle, au lieu d'eau distillée, nous aurons mis une eau chargée de

matières albuminoïdes, l'eau de levûre. Nous aurons ainsi fourni aux bourgeons qui veulent se développer tous les matériaux nécessaires ; ils n'auront pas autant de raisons de vivre aux dépens des globules déjà formés, et, si ce que je veux démontrer est vrai, nous devrons avoir dans ce dernier cas moins d'acide acétique produit que dans le premier.

L'expérience va en effet nous le démontrer. Le 5 juillet 1864, je dispose les deux fermentations :

I.	II.
Sucre candi..... 15 ^{gr}	Sucre candi..... 15 ^{gr}
Levûre fraîche (sèche, 0 ^{gr} ,184). 1	Levûre fraîche (sèche, 0 ^{gr} ,184). 1
Eau distillée..... 250 ^{cc}	Eau de levûre..... 250 ^{cc}

Ces 250 centimètres cubes d'eau de levûre renfermaient 0^{gr},650 de matière sèche.

Dès le soir, la différence entre ces deux fermentations est complète. Dans II, le dégagement est rapide, le liquide tout mousseux à la surface. Dans I, c'est à peine si l'on aperçoit quelques bulles de gaz. Ces différences s'exagèrent les jours suivants. Aussi la fermentation dans II est-elle terminée le 13 juillet, tandis que dans l'autre elle dure encore le 1^{er} août. Ce jour-là j'y mets fin, la trouvant assez avancée pour ce que je voulais en faire. Un dosage de sucre montre qu'il en reste encore 2^{gr},448 non transformés.

Au microscope, les deux levûres sont tout à fait différentes ; celle de II (*fig. 12*) est jeune, très-identique à celle de I de l'essai précédent, fait du reste avec la même levûre. Quant à celle de I (*fig. 13*), elle est formée de globules moyennement moitié moins gros que dans II, un peu ramifiés, généralement oblongs, noirâtres et granuleux à l'intérieur.

Or, si on étudie les quantités d'acide formées, il y en a dans I 0^{gr},077, et dans II 0^{gr},037 seulement. Quant aux poids de levûre, ils sont dans I de 0^{gr},325, dans II de 0^{gr},536.

Nous observons donc encore ici le phénomène d'une faible production d'acide acétique dans une fermentation où cependant le poids de la levûre s'est extrêmement accru, et d'une production plus considérable dans un autre essai où la levûre n'a pas augmenté de poids, mais où les nécessités de son existence l'ont contrainte à une vie assez active au moyen de ses propres tissus.

Ces résultats sont constants quand on se place dans les conditions ci-dessus. Le tableau suivant en fait foi.

SUCRE.	MATIÈRE albuminoïde dans l'eau de levûre.	LEVURE AVANT.	LEVURE APRÈS.	ACIDE ACÉTIQUE formé.
gr	gr	gr	gr	gr
15	»	0,184	0,325	0,079
15	0,650	0,184	0,536	0,037
15	»	0,200	0,337	0,081
15	0,787	0,200	0,665	0,040
20	»	0,430	0,641	0,162
20	3,016	0,430	1,260	0,102

V. *Origine de l'acide acétique des fermentations.*

Nous pouvons maintenant nous demander d'où provient l'acide acétique que l'on rencontre d'une manière normale dans toutes les fermentations alcooliques. Jusqu'ici, j'ai fait voir que la destruction des tissus de la levûre était toujours corrélative de la production d'acides gras. Faut-il admettre que ceux des liquides fermentés sont dus à une autre cause? Doit-on croire, par exemple, que ceux que nous a présentés la fermentation avec eau de levûre provenaient de la transformation du sucre? La question serait facile à résoudre s'il était possible de déterminer une fermentation sans qu'il y eût en même temps production d'acides. Je l'ai essayé sans jamais y réussir. Mais on peut arriver à la solution d'une manière détournée, il suffit de remarquer que la question se réduit à celle-ci : Peut-on admettre qu'il n'y ait aucune destruction des tissus de la levûre dans les fermentations, même celles qui sont accomplies dans les meilleures conditions? Tout dépend de la manière dont on répondra à cette question. Si c'est oui, mes expériences n'expliquent que la formation d'une partie des acides gras. Si c'est non, la totalité des acides proviendra de la levûre.

Or, cette dernière opinion doit évidemment être adoptée. Puisqu'il y a fermentation, il y a vie, et par conséquent mouvement de destruction et de recomposition incessante. La recomposition se manifeste par la formation de globules nouveaux, qui vivent attachés au globule mère tant qu'ils n'ont pas acquis une certaine grosseur. Il est évident que pendant cette première partie de leur existence ils doivent lui emprunter quelque chose, peu de chose, s'ils rencontrent autour d'eux, comme dans la fermentation avec eau de levûre, tout ce qu'il leur faut pour vivre; beaucoup, s'il n'y a rien au dehors que du sucre pur. Dans ce dernier cas, la reproduction de la levûre est lente, mais la désorganisation produite par les jeunes bourgeons est intense. Dans l'autre, l'action sur le globule mère est faible,

mais la gemmation rapide. Aussi trouve-t-on, pour un même poids de levûre introduite, beaucoup plus de levûre dans ce dernier cas que dans le premier.

Les générations de globules se succèdent ainsi dans une fermentation, chacune d'elles remplaçant la précédente qui meurt après avoir accompli son action. Ceci n'est pas une pure hypothèse et peut être démontré directement.

Reportons-nous en effet à l'expérience décrite page 13, à propos de l'absorption de l'ammoniaque par la levûre. Nous avons vu 40 grammes de sucre disparaître en sept jours par l'action d'un poids de 2^{gr},501 de levûre sèche, en présence de 1 gramme de tartrate droit d'ammoniaque. Sur les 0^{gr},152 d'azote que contenait ce tartrate, il n'en restait plus après la fermentation que 0^{gr},048. 0^{gr},106 d'azote ont donc disparu, et nous les avons retrouvés à l'état de matière albuminoïde en dissolution dans le liquide, où ils étaient unis à 0^{gr},064 provenant de la levûre. En somme, il y avait dans cette matière 0^{gr},170 d'azote, tandis que la levûre restant après la fermentation n'en renfermait que 0^{gr},148 seulement. Or, cette matière albuminoïde ayant fait partie des matériaux de la levûre, le poids de cette levûre qui s'est dissous pendant la fermentation doit évidemment être supérieur à celui qu'on retrouve dans le liquide, une fois celle-ci accomplie. Ce fait est général, il peut se vérifier sur tous les exemples que j'ai donnés de fermentations avec tartrate. On voit que l'ammoniaque reste dans ce cas comme un témoin fidèle des transformations subies par la levûre. Aussitôt le sucre disparu, la levûre ne se reproduit plus, l'absorption de l'ammoniaque cesse; seulement, les globules continuent à vivre pendant quelque temps et à subir le phénomène de la destruction; d'où, comme je l'ai montré, la production de l'acide acétique pendant la fermentation subséquente. Mais celui qu'on trouve après la fermentation normale provient évidemment de la même cause, et il ne faut pas s'étonner s'il est en proportions considérables, la mutation de tissus se faisant, comme je viens de le montrer, avec une grande intensité.

Cette mutation est bien moins rapide dans une fermentation sans tartrate d'ammoniaque, la vitalité étant beaucoup moins grande. Il est dès lors facile de prévoir que de deux fermentations pareilles, l'une avec, l'autre sans tartrate, ce sera la première qui donnera le plus d'acides gras (1). Les essais suivants le prouvent.

(1) L'aspect de la levûre est aussi, comme on peut le prévoir, très-différent dans ces deux fermentations. Dans l'une, il y a toujours un grand nombre de globules turgescents, jeunes et circulaires. Dans l'autre, les globules sont contractés, comme flétris, à parois épaisses, granuleux à l'intérieur. Les *fig. 9* et *11* donnent une idée assez exacte de ces différences.

SUCRE.	TARTRATE.	LEVURE AVANT.	LEVURE APRÈS.	ACIDE ACÉTIQUE produit.	AMMONIAQUE absorbée.
gr	gr	gr	gr	gr	gr
10	0,500	0,215	0,236	0,067	0,029
10	»	0,215	0,305	0,020	»
15	0,500	0,200	0,345	0,127	»
15	»	0,200	0,337	0,080	»
15	0,500	0,400	0,612	0,095	»
15	»	0,400	0,624	0,044	»
15	0,500	1,000	1,206	0,105	»
15	»	1,000	1,390	0,028	»
30	1,000	1,847	2,180	0,171	0,106
30	»	1,847	2,155	0,105	»

Dans tous ces essais, les fermentations avec tartrate ont été interrompues à diverses époques, mais toujours après la fermentation du sucre, et pendant la fermentation subséquente. Il n'y a donc pas à s'étonner de l'irrégularité que présentent les poids de levûre.

Arrivé à ce point de mes études, il se présentait une vérification que je ne devais pas négliger. J'ai avancé dans la première partie de ce travail que lorsqu'on plaçait la levûre dans une fermentation en présence de l'eau de levûre et du tartrate d'ammoniaque, elle vivait au moyen du tartrate sans rien emprunter à la matière de l'eau de levûre. J'avais dans la production de l'acide acétique un moyen de vérifier ce fait, et dans une fermentation pareille le type devait être celui d'une fermentation avec tartrate pur, au lieu d'être celui d'une fermentation avec eau de levûre. Or, d'après les résultats précédents, une fermentation à tartrate donne plus d'acide acétique qu'une fermentation pareille sans tartrate, et celle-ci plus qu'une fermentation pareille aussi, mais avec de l'eau de levûre en plus. Il devait donc y avoir plus d'acide acétique dans une fermentation avec eau de levûre et tartrate que dans une fermentation avec eau de levûre seule. C'est ce que l'expérience a complètement vérifié.

Le 19 mars 1865, je dispose les trois liquides suivants :

I.	II.	III.
Sucre candi 5 ^{gr}	Sucre candi 5 ^{gr}	Sucre candi 5 ^{gr}
Levûre fraîche 0,5	Levûre fraîche 0,5	Levûre fraîche 0,5
Tartrate d'ammoniaque 0,25	»	Tartrate 0,25
Eau distillée 175 ^{cc}	Eau de levûre 175 ^{cc}	Eau de levûre 175 ^{cc}

Les 0^{gr},5 de levûre représentent 0^{gr},104 à l'état sec ; les 175 centimètres cubes eau de levûre 0^{gr},258 matière sèche. Je résume dans le tableau suivant les résul-

tats de l'étude de ces trois fermentations que j'ai détaillée dans la première partie de ce travail.

	ÉPOQUE de la fin de la fermentation.	LEVURE AVANT.	LEVURE APRÈS.	ACIDE ACÉTIQUE produit.	AMMONIAQUE absorbée.
I.	27 mars.	gr 0,104	gr 0,110	gr 0,049	gr 0,012
II.	26 mars.	0,104	0,285	0,028	»
III.	22 mars.	0,104	0,315	0,045	0,014

On voit que l'absorption d'ammoniaque dans I et III est à peu près la même. Quant à la quantité d'acides volatils, elle se rapproche dans III beaucoup plus de celle de la fermentation à tartrate que de l'autre.

Dès lors, il devait en être de même pour le vin, et l'addition de tartrate d'ammoniaque à un moût devait augmenter la quantité d'acides volatils existant dans le vin; c'est ce dont je me suis assuré en laissant fermenter d'un côté 200 centimètres cubes de moût, de l'autre 200 centimètres cubes de ce moût auquel j'avais ajouté 0^{gr},1 de tartrate d'ammoniaque. J'ai trouvé pour le premier 0^{gr},030 d'acides gras, pour le second 0^{gr},059. Les 200 centimètres cubes de moût renfermaient 44^{gr},44 de glucose C¹² H¹² O¹².

J'ai dit en commençant que le fait de la corrélation entre la production d'acides gras et la destruction des tissus de la levûre permettait d'expliquer toutes les anomalies que l'on rencontre dans l'étude de l'acide acétique des fermentations. J'avais alors en vue les résultats singuliers obtenus dans les conditions suivantes.

Le 6 mai 1864, je dispose les quatre liquides :

I.	II.	III.	IV.
Sucre..... 5 ^{gr}	Sucre..... 10 ^{gr}	Sucre..... 20 ^{gr}	Sucre..... 40 ^{gr}
Levûre..... 5	Levûre..... 5	Levûre..... 5	Levûre..... 5

Les 5 grammes levûre pèsent 0^{gr},866 à l'état sec.

Voici les poids de levûre et d'acide acétique que l'on trouve après fermentations :

I.	II.	III.	IV.
Levûre 0 ^{gr} ,701	0 ^{gr} ,851	0 ^{gr} ,957	1 ^{gr} ,055
Acide acétique... 0,094	0,034	0,043	0,087

Cette expérience, faite au début de mes études, n'avait pas laissé que de m'embarrasser beaucoup. Il me semblait singulier de voir les quantités d'acide produit être d'abord considérables par rapport au poids du sucre, puis aller en diminuant

pour croître de nouveau à mesure que le poids du sucre augmentait. Avec ce que nous savons, rien n'est plus facile à expliquer. Dans I, où il y a excès de levûre, il y a eu fermentation subséquente. Dans IV, il y a eu épuisement. Donc, dans ces deux cas, il a dû y avoir plus d'acide produit que dans II et III, faites dans des conditions plus normales. Il est bien probable que pour un rapport déterminé entre le sucre et la levûre, on aurait une quantité d'acides minima : ce rapport correspondant au cas où la levûre, encore assez vivante pour faire fermenter le sucre sans s'épuiser, serait cependant assez usée pour ne pas subir la fermentation subséquente à celle du sucre. En deçà ou au delà de ce rapport les quantités d'acide sont croissantes.

La levûre se présente donc à nous comme produisant continûment de l'acide acétique par son procès vital. Qu'il y ait du sucre ou qu'il n'y en ait pas, pourvu qu'elle ait la température et l'eau nécessaires, elle vivra en donnant de l'alcool et de l'acide acétique provenant de sa propre substance. S'il n'y a pas de sucre, cette vie ne durera pas longtemps, car la putréfaction viendra y mettre un terme. Au contraire, s'il y a du sucre, il y aura non-seulement vie continuée, mais reproduction, et l'accroissement d'activité fonctionnelle se traduira à la fois par une action intérieure sur la levûre et une action extérieure sur le sucre.

N'y a-t-il pas plus d'un point de ressemblance entre ces cellules et celles du pancréas, dont les fonctions ont été si bien étudiées par M. L. Corvisart; ces cellules qui, tant qu'elles sont dans des conditions normales, fournissent le suc pancréatique, et qui, une fois abandonnées à elles-mêmes, continuent à vivre, mais en se digérant elles-mêmes? N'y a-t-il pas aussi beaucoup d'analogie avec ces faits observés par Mitscherlich, qui, semant une plante, puis lui supprimant tout à coup les moyens d'existence, voyait dans cette plante les feuilles supérieures, les dernières formées, vivre aux dépens des feuilles inférieures, absolument comme, dans la levûre, les jeunes bourgeons vivent aux dépens du globule mère. Ces analogies se présentent à chaque instant à l'esprit, quand on étudie l'action de la levûre. Je ne les avance cependant qu'en hésitant, sachant fort bien qu'en dehors du terrain des faits il n'y a rien de solide.

Je présente avec confiance les résultats de ce travail. Je les ai vérifiés et ne les ai tenus pour bons que lorsque j'y ai été ramené plusieurs fois et par des routes différentes. Au début de ma carrière de chimiste, et avec un sujet aussi délicat que l'étude des fermentations, il n'y avait qu'un sentiment possible, la crainte de me tromper et le besoin de m'entourer de toute sorte de précautions expérimentales. Ces précautions, je n'avais, pour en apprendre le secret, qu'à voir travailler M. Pasteur dans son laboratoire, dans lequel j'ai eu le bonheur de passer trois ans. Aussi serais-je bien mal inspiré de ne pas me munir, vis-à-vis du lecteur, de cette dernière recommandation, et bien ingrat si je terminais ce travail sans exprimer à

M. Pasteur toute ma reconnaissance pour les utiles et affectueux conseils qu'il m'a toujours donnés. Un surtout m'a servi de guide dans tout le courant de cette étude. « Quand on étudie les fermentations, dit M. Pasteur, il n'est pas difficile de constater des faits particuliers, isolés, nouveaux ou paraissant l'être, tant ils sont nombreux et changeants; mais si l'on n'en recherche pas la liaison avec le phénomène principal, si l'on n'établit pas que cette liaison existe ou qu'elle n'existe pas, souvent, loin d'éclairer le sujet, on ne fait que l'obscurcir. » Je me suis efforcé de ne pas mériter ce reproche, et je serai assez récompensé si l'on juge que j'y ai réussi.

Vu et approuvé.

Le 14 juin 1865.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,
MILNE EDWARDS.

Permis d'imprimer.

Le 14 juin 1865.

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

A. MOURIER.

DEUXIÈME THÈSE.

PROPOSITIONS DE PHYSIQUE DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Des relations entre la forme cristalline et les propriétés optiques.

Vu et approuvé.

Le 14 juin 1865.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,
MILNE EDWARDS.

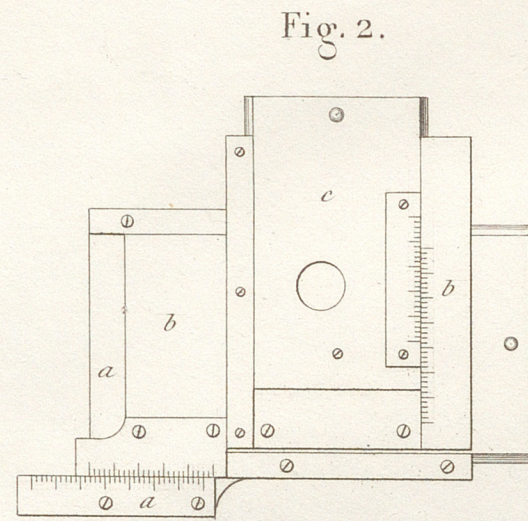
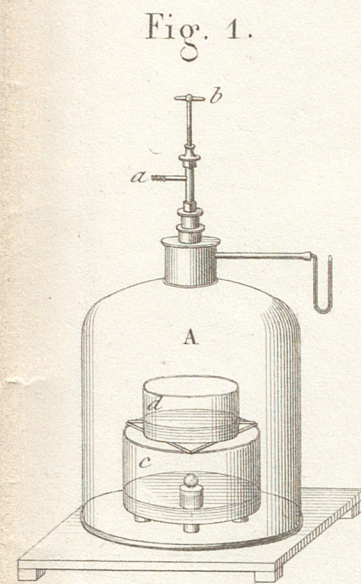
Permis d'imprimer.

Le 14 juin 1865.

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,
A. MOURIER.

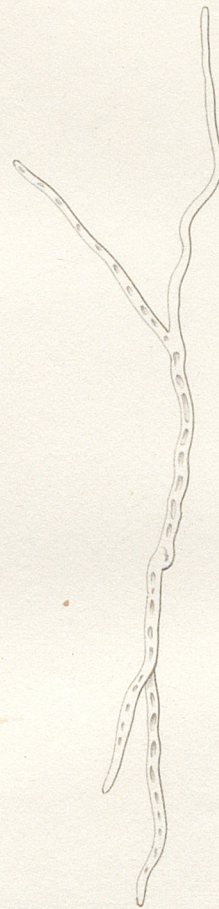


Études relatives à l'absorption de l'ammoniaque et à la production d'acides gras volatils pendant la fermentation alcoolique, par M.^r E. Duclaux.



21 Mai
Spore
0,0030

22 Mai

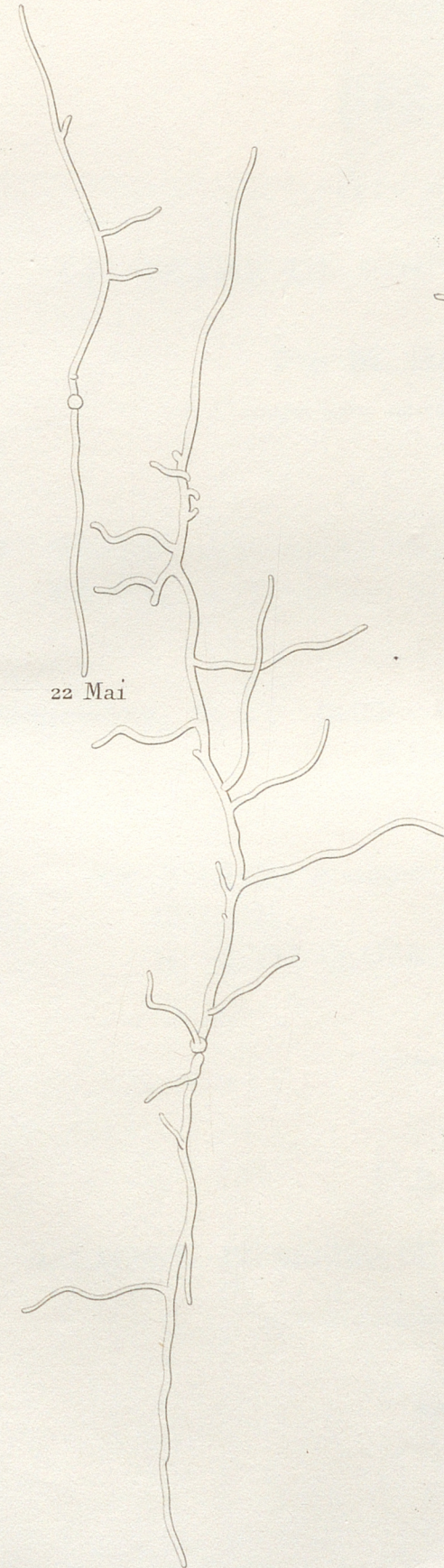


23 Mai

Fig. 5.

21 Mai
Spore
0,0020

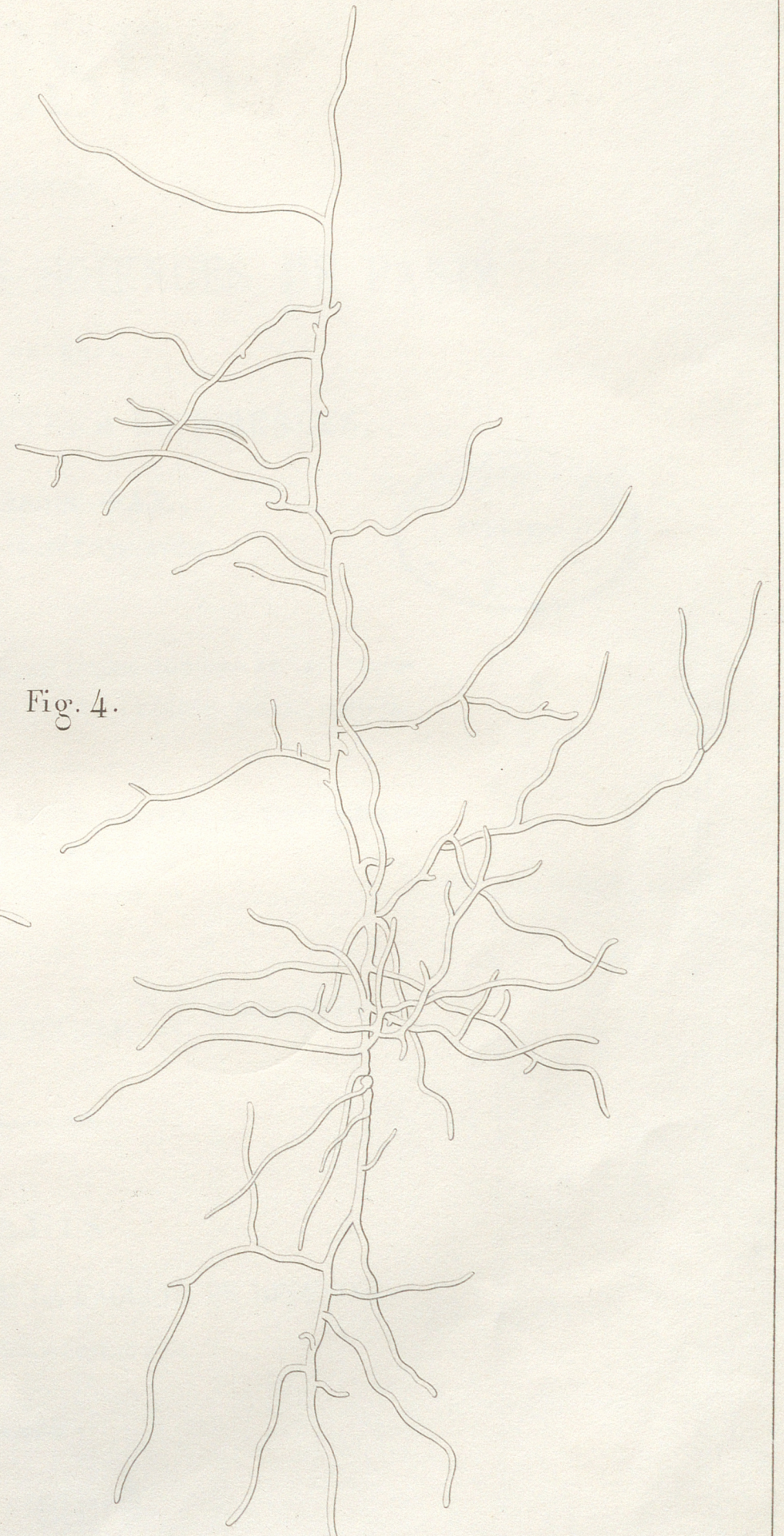
24 Mai
Branche sup.^{re}



22 Mai

23 Mai

Fig. 4.



25 Mai

0,0008 à 0,0004



Fig. 9.

0,0007 à 0,0035



Fig. 10.

0,0045



Fig. 11.

0,0009 à 0,0006



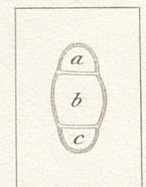
Fig. 12.

0,0005 à 0,0015



Fig. 13.

Fig. 3.

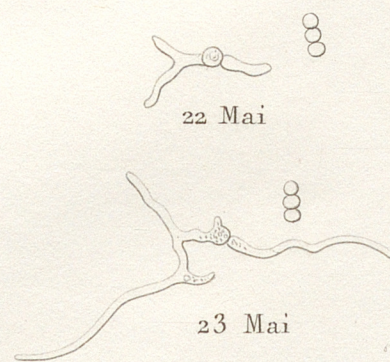


22 Mai

23 Mai

Fig. 6.

21 Mai
Spore
0,0020



21 Mai
Spore (0,0005)

Fig. 8.

22 Mai



21 Mai
Spore
0,0030



22 Mai

Fig. 7.



23 Mai



Spores de
Fig. 8 germant