

Les ferments solubles (diastases-enzymes) / par Émile Bourquelot.

Contributors

Bourquelot, Emile, 1851-1921.

Publication/Creation

Paris : Société d'Éditions Scientifiques, 1896.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/atqhv5rq>

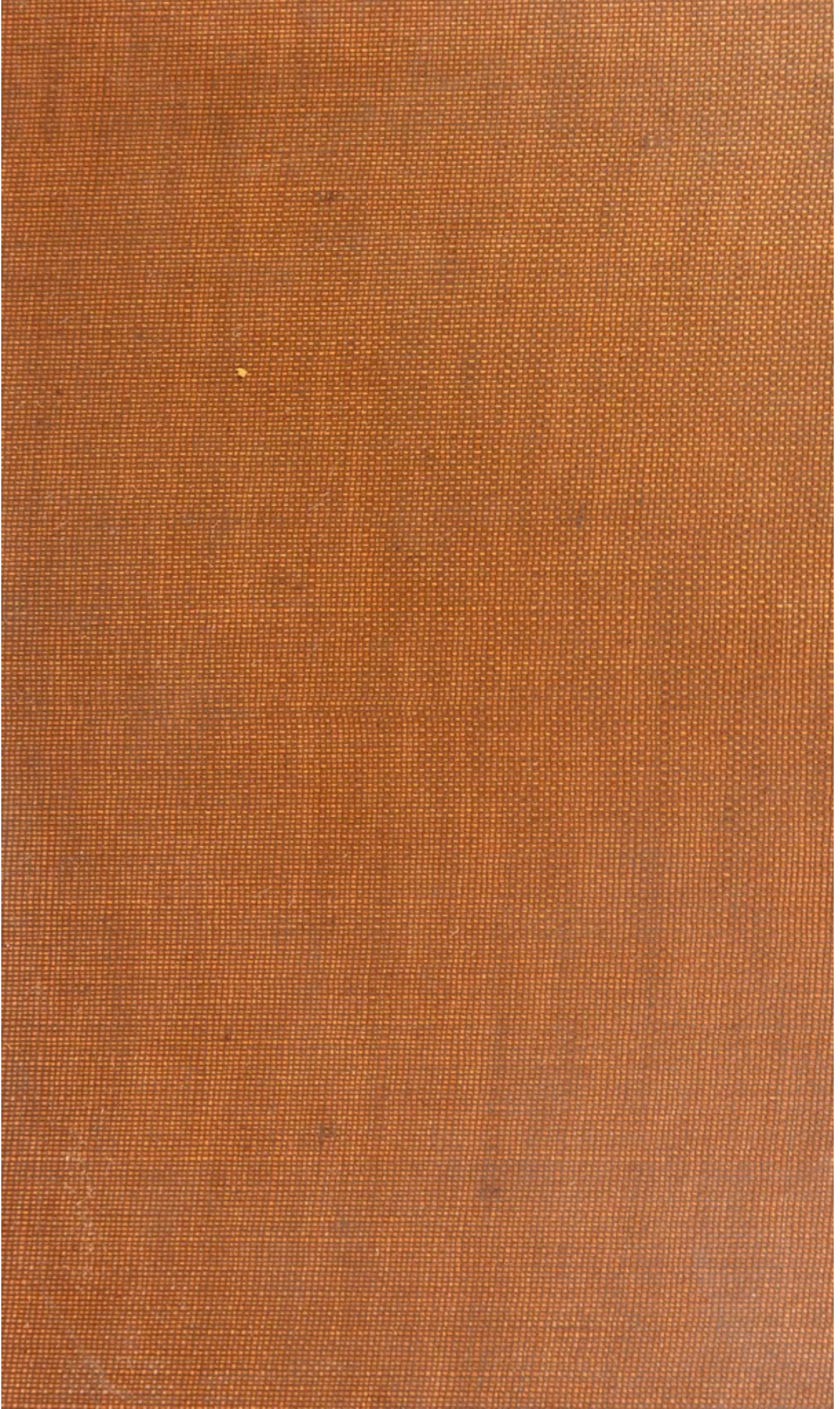
License and attribution

This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.



Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>





22102078700

Med

K11274



LES
FERMENTS SOLUBLES

(DIASTASES - ENZYMES)

TRAVAUX DE L'AUTEUR

SUR LES FERMENTS ET LES FERMENTATIONS

Sur la digestion des matières amylacées chez les Céphalopodes (Comptes rendus, séance du 5 décembre 1881).

De la diastase chez les animaux invertébrés (Répert. de pharmacie, X, 1882, p. 408).

Phénomènes de la digestion chez les Mollusques céphalopodes (Comptes rendus; séance du 4 décembre 1882).

Sur les propriétés de l'invertine (Journal de pharm. et de chim., [5], VII, 1883, p. 131).

Sur le non-dédoublement préalable du saccharose et du maltose dans leur fermentation lactique (Journ. de pharm. et de chim., [5], VIII, 1883, p. 420).

Phénomènes de la digestion chez les Invertébrés (Revue scientifique; XXXI, 1883, p. 785).

Sur les caractères pouvant servir à distinguer la pepsine de la trypsine (Journ. de pharm. et de chim., [5], X, 1884, p. 177).

Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Mollusques céphalopodes (Thèse pour le doctorat ès sciences, Paris, et Arch. de zoologie expérimentale, 1885).

De l'identité de la diastase chez les différents êtres vivants (Comptes rendus de la Soc. de biol., [8], II, 1885, p. 73).

Sur la fermentation élective d'un mélange de maltose et de lévulose (Comptes rendus de la Soc. de biol., [8], II, 1885, p. 191, et Acad. des sciences).

Sur la fermentation élective d'un mélange de glucose et de lévulose (Comptes rendus de la Soc. de biol., [8], II, 1885, p. 221, et Acad. des sciences).

Sur la fermentation élective; Réponse à M. Maumené (Acad. des sciences; séance du 6 juillet 1885).

Sur la fermentation élective; Réponse à une note de M. Leplay et à une nouvelle observation de M. Maumené (Séance du 9 novembre 1885).

La digestion des matières grasses (Journ. de pharm. et de chim., [5], XII, 1885, p. 530).

Les microbes de la fermentation alcoolique du lait: le képhir (Journ. de pharm. et de chim., [5], XIII, 1886, p. 232).

Recherches sur la fermentation alcoolique d'un mélange de deux sucres (Ann. de chim. et de phys., [6], IX, 1886, p. 245).

Sur quelques points relatifs à l'action de la salive sur le grain d'amidon (Acad. des sciences; Séance du 3 janvier 1887).

Sur les caractères de l'affaiblissement éprouvé par la diastase sous l'action de la chaleur (Acad. des sciences; Séance du 28 février 1887, et Ann. de l'Institut Pasteur, 1887, p. 336).

Recherches sur la fermentation alcoolique du galactose (1^{re} note) (Comptes rendus de la société de biologie, [8], IV, 1887, p. 698).

Id. (2^e note) (Comptes rendus de la société de biologie, [8], V, 1888, p. 47).

Mémoire sur la fermentation alcoolique du galactose (Journ. de pharm. et de chim., [5], XVIII, p. 337).

Les fermentations (Thèse d'agrégation, Paris, Welter, 1889).

Sur un ferment soluble nouveau dédoublant le tréhalose en glucose (Acad. des sciences, séance du 17 avril 1893, et Bull. de la Soc. myc. de France, IX, 1893, p. 189).

Inulase et fermentation alcoolique indirecte de l'inuline (Acad. des sciences, 15 mai 1893, et Journ. de pharm. et de chim., [5], XXVIII, 1893, p. 5).

Les Fermentations (ferments organisés) (Paris, in-16, 204 pages, Société d'éditions scientifiques, 1893).

Remarques sur les ferments solubles sécrétés par l'Aspergillus niger V. Tgh. et le Penicillium glaucum Link (Comptes rendus de la Soc. de biologie [9], V, 1893, p. 653).

Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les champignons et en particulier dans ceux qui sont parasites des arbres ou vivent sur le bois (Acad. des sciences, 11 sept. 1893, et Bulletin de la Soc. myc. de France, X, 1894, p. 49).

Les ferments solubles de l'Aspergillus niger (Bull. de la Soc. myc. de France, IX, 1893, p. 230).

Sur la recherche de la trypsine (Comptes rendus de la Soc. de biologie, [10], I, 1894, p. 417).

Action du sérum sanguin sur le glycogène et le maltose (en commun avec Gley) (Comptes rendus de la Soc. de biol., [10], II, 1895, p. 247).

X

LES

FERMENTS SOLUBLES

(DIASTASES - ENZYMES)

PAR

ÉMILE BOURQUELOT

DOCTEUR ÈS SCIENCES

PROFESSEUR AGRÉGÉ A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

PHARMACIEN EN CHEF DE L'HÔPITAL LAËNNEC



PARIS

SOCIÉTÉ D'ÉDITIONS SCIENTIFIQUES

4, RUE ANTOINE-DUBOIS, 4

PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

—
1896

Tous droits réservés.

2974



16 188 216

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	welMOmec
Call	
No.	QU

AVANT-PROPOS

La science des ferments solubles ou chimiques, restée longtemps stationnaire, a fait dans ces derniers temps des progrès inattendus. Le nombre de ces composés a presque doublé en quelques années, grâce aux recherches des chimistes et des physiologistes. De leur côté, les botanistes ont étudié minutieusement la localisation des ferments solubles dans les tissus des végétaux et les bactériologistes en ont rapproché les substances toxiques élaborées par les micro-organismes pathogènes.

Rassembler les faits anciennement connus, mais actuellement épars dans les publications les plus diverses, et y réunir ceux que les recherches récentes nous ont révélés, tel est le but que j'ai poursuivi en publiant ce traité.

Peut-être trouvera-t-on que les prétendus ferments pathogènes (toxines microbiennes), sur lesquels on a pourtant déjà écrit des volumes, n'ont pas été l'objet de grands développements. Je me suis contenté, en effet, d'insister sur les principales propriétés de ces corps qui les rapprochent des ferments solubles ordinaires ; et, en cela, je crois avoir fait tout ce que me permettait le sujet lui-même. Il ne suffit pas d'avoir constaté que certains poisons microbiens sont influencés par les agents physiques et chimiques, comme le sont les ferments solubles, pour affirmer que les uns et les autres appartiennent à un même groupe de composés. La question est plus complexe et ne sera résolue que lorsqu'on saura, en particulier, comme nous le savons pour les ferments solubles, quels sont les principes chimiques sur lesquels agissent ces poisons et comment ceux-là sont modifiés par ceux-ci. D'ici là on pourra parler d'analogie, mais toute assimilation serait prématurée.

Il est certain, d'autre part, que pour relever l'intérêt des faits qui sont relatés dans ce traité, il eût fallu pouvoir les relier par une théorie générale de

l'action des ferments solubles. Malheureusement tous les efforts tentés jusqu'ici pour expliquer cette action n'ont pas abouti. On a bien émis plusieurs hypothèses dont quelques-unes ont eu, en leur temps, la faveur du monde savant ; mais aucune d'elles n'est satisfaisante, pas même celle à laquelle je me suis rallié en dernier lieu, et que je ne soutiens qu'à défaut d'une meilleure.

Ce n'est pas à dire, pour cela, que les recherches que l'on poursuit depuis près d'un siècle, sur des composés qui n'ont été trouvés que chez des êtres vivants, n'aient pas eu d'influence sur les sciences biologiques.

Elles ont au contraire contribué, pour une large part, à étendre nos connaissances sur les phénomènes de la vie.

Chez les animaux, les ferments solubles sont les agents de la digestion et de la nutrition ; chez les végétaux, ils jouent un rôle important dans la germination ; chez tous ils président au déplacement des matériaux de réserve et à leur utilisation. En déterminant les conditions qui favorisent, retardent ou arrêtent leur action, on a par cela même

fixé certaines des conditions qui favorisent, retardent ou arrêtent le développement des êtres vivants.

D'ailleurs tout n'est pas dit sur le rôle des ferments solubles. Pour qui réfléchit, par exemple, aux combinaisons qui peuvent résulter de l'action simultanée des ferments oxydants et des ferments hydratants, il n'est pas douteux que cette action doive être l'origine d'un grand nombre de principes immédiats renfermés dans les tissus vivants. Si l'on n'a rien trouvé encore dans ce sens, c'est que la connaissance des ferments oxydants est de date toute récente et que la question n'a pas attiré l'attention.

C'est de ce côté, semble-t-il, que devront se tourner désormais les efforts des biologistes.

EM. BOURQUELOT.

Le 15 janvier 1896.

LES FERMENTS SOLUBLES

CHAPITRE PREMIER

DÉFINITION ET CLASSIFICATION DES FERMENTS SOLUBLES.

Lorsqu'on ensemence une solution aqueuse de sucre de canne avec de la levure de bière, on remarque que le sucre se transforme en glucose et en lévulose. Ce phénomène que, pour des raisons qui seront exposées plus loin, on appelle *inversion*, précède toujours la fermentation alcoolique. Il est déterminé non par la levure en tant qu'être vivant, mais par une substance qu'elle sécrète. Cette substance se trouve en dissolution dans le liquide environnant et peut en être précipitée par l'alcool sans perdre ses propriétés : elle n'est donc pas organisée.

On lui a donné le nom d'*invertine* et on la consi-

dère comme le type des *ferments solubles*. Elle est soluble dans l'eau, ainsi qu'on vient de le voir. De plus c'est un *ferment*, car une très petite quantité d'invertine suffit pour intervertir un poids considérable de sucre de canne, et nous savons que ce qui constitue actuellement le caractère des fermentations, c'est la disproportion énorme existant entre le poids de l'agent ferment et celui de la substance sur laquelle il exerce son action.

Tous les ferments solubles ressemblent en cela à l'invertine et, comme elle, dérivent tous directement d'organismes vivants au sein desquels ils prennent naissance. On les rencontre aussi bien chez les végétaux que chez les animaux et beaucoup de ferments organisés sont de grands producteurs de ces composés.

La ressemblance des deux expressions « *ferments organisés* et *ferments solubles* » ainsi que la production de ceux-ci par ceux-là ont fait penser depuis longtemps qu'il y aurait intérêt, pour la commodité du langage, à remplacer la seconde par un terme qui prêtât moins à la confusion. On a proposé successivement les mots *zymase*, *diastase* et *enzyme*.

Le mot « zymase » a d'abord été employé par Béchamp en 1864 pour désigner le ferment soluble inversif sécrété par la levure de bière (1) et appelé antérieurement par Berthelot « ferment glucosique » (2). Plus tard, Béchamp en a fait un terme générique équivalant à celui de « ferment soluble » (3).

Le mot « diastase », créé en 1833 (4) par Payen et Persoz, désignait et désigne encore le ferment soluble extrait par ces chimistes de l'orge germé. C'est en 1876, croyons-nous, que Pasteur l'a employé pour la première fois comme terme générique (5). Il a suivi en cela les conventions adoptées en chimie organique pour désigner certains groupes de corps. On sait en effet, par exemple, que toute une classe de composés porte le nom d'*alcools*, du nom de celui d'entre eux qui été le premier connu.

Quant au mot « enzyme », il a été proposé par Kühne en 1878 (6). Il a le mérite d'avoir été créé spécialement et de ne prêter à aucune confusion. C'est sans doute pour cette raison que, à l'étranger, on l'emploie aujourd'hui à l'exclusion de tout

autre. Comme, en définitive, l'accord ne paraît pas encore être fait entre les savants sur ce point, nous avons cru devoir conserver, malgré ses inconvénients, l'ancienne expression.

Les premiers ferments solubles connus ont été désignés, par ceux qui les ont découverts, en se basant tantôt sur des propriétés qu'ils supposaient leur appartenir (émulsine), tantôt sur des vues théoriques plus ou moins justifiées (pepsine, synaptase). Tant qu'ils ont été peu nombreux, il n'y a pas eu à cela grand inconvénient. Mais aujourd'hui que leur liste s'accroît de jour en jour, il en est tout autrement et, si l'on veut éviter les confusions, il convient d'adopter, pour les dénommer, une nomenclature uniforme.

Duclaux a proposé de désigner chaque ferment soluble en remplaçant, dans le nom du corps sur lequel on a observé pour la première fois son action, la désinence par « ase », quelle que soit d'ailleurs cette action. Ainsi le ferment soluble qui agit sur l'amidon (*amylum*) est appelé *amylase*.

D'autres savants ont préféré tirer le nom du ferment du nom de l'un des produits de la réaction

qu'il détermine (*glucose* de *glucose*). Cette méthode est défectueuse, car une même substance peut faire partie et, en réalité, fait souvent partie des produits de l'action de plusieurs ferments solubles (*glucose*).

Nous adopterons donc la nomenclature de Duclaux, sauf pour les ferments solubles connus depuis longtemps et souvent utilisés dans l'industrie, dont les noms anciens doivent être, à notre avis, conservés.

On considère généralement les ferments solubles comme des matières albuminoïdes ; mais ni leur composition chimique, qui du reste est imparfaitement connue, ni la façon dont ils se comportent en présence des réactifs ne justifient complètement cette manière de voir.

Aussi est-on obligé de les classer d'après la nature des corps sur lesquels ils exercent leur action. On en fait ainsi les groupes suivants :

1° Les ferments solubles qui agissent sur les hydrates de carbone. Ce premier groupe peut être lui-même divisé en deux sous-groupes suivant que les hydrates de carbone sont des saccharoses,

c'est-à-dire des composés isomères du sucre de canne, ou des hydrates de carbone plus condensés (amidon, glycogène, inuline, matières pectiques, cellulose). Dans le premier sous-groupe se rangent : l'*invertine*, la *tréhalase*, la *maltase*, la *lactase* ; dans le second, la *diastase*, l'*inulase*, la *pectase*, ainsi que ces ferments qui attaquent la membrane cellulaire des plantes, ferments qu'on a appelés *cytohydrolytiques*, et qu'on pourrait désigner sous le nom de *cytases*.

2° Les ferments qui décomposent les glucosides, savoir : l'*émulsine*, la *myrosine*, la *rhamnase* et l'*érythrozyme*.

3° Le groupe des ferments protéolytiques, c'est-à-dire agissant sur les matières protéiques ; il comprend la *pepsine*, la *trypsine*, la *papaïne*, la *présure* et la *plasmase*.

4° Le ferment qui décompose l'urée : *uréase*.

5° Le ou les ferments qui saponifient les matières grasses : *lipase*.

6° Les ferments solubles pathogènes.

Tous les ferments solubles dont il vient d'être question, sauf peut-être les derniers, produisent,

comme on le verra plus loin, des dédoublements avec fixation d'eau ; ce sont des hydratants. Il faut par conséquent en séparer, comme constituant le premier terme d'une classe tout à fait spéciale de ces composés, la *laccase*, ferment découvert dans le suc de l'arbre à laque et dont l'action est oxydante.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) A. Béchamp, *Sur la fermentation alcoolique* (Comptes rendus, LVIII, 1864, p. 601).
- (2) Berthelot, *Sur la fermentation glucosique du sucre de canne* (Comptes rendus, L, 1860, p. 980).
- (3) A. Béchamp, *Sur la matière albuminoïde, ferment de l'urine* (Comptes rendus, LX, 1865, p. 445).
- (4) Payen et Persoz, *Mémoire sur la diastase*, etc. (Ann. de ch. et de phys., [2], LIII, 1833, p. 73).
- (5) Pasteur et Joubert, *Sur la fermentation de l'urine* (Comptes rendus, LXXXIII, 1876, p. 10).
- (6) W. Kühne, *Erfahrungen und Bemerkungen über Enzyme und Fermente* (Unters. phys. Inst. Heidelberg, I, 1878, p. 291).

CHAPITRE II

PRÉSENCE ET SIÈGE DES FERMENTS SOLUBLES CHEZ LES ANIMAUX ET LES VÉGÉTAUX.

Ferments des hydrates de carbone. — *Invertine* (synonymes : *sucrase* [Duclaux], *invertase* [Green], *zythozymase* [Béchamp]). — Ce ferment, isolé pour la première fois par Berthelot en 1860, avait été nommé par ce savant « *ferment glucosique* ». En 1864, Béchamp l'appela *zymase*, nom qu'il remplaça bientôt par celui de *zythozymase*. Le nom d'invertine lui a été donné par Donath en 1875 (1).

Le sucre de canne n'est pas directement assimilable par les animaux. Injecté dans les veines ou dans les artères, on le retrouve en totalité dans les sécrétions. Lorsqu'il passe par les voies digestives, il est au contraire assimilé. C'est que l'intestin grêle (2) renferme de l'invertine qui le transforme en glucose et en lévulose, sucres qui sont assimi-

lables. La présence de ce ferment a été constatée dans l'intestin des chiens, des lapins, des oiseaux, des grenouilles, des poissons, des vers à soie. On n'en a pas trouvé cependant dans le tube digestif des mollusques céphalopodes (3).

Les végétaux, sauf quelques exceptions récemment découvertes et qui ne sont peut-être qu'apparentes, ne peuvent pas non plus assimiler directement le sucre de canne. Celui-ci constitue, pour beaucoup d'entre eux, une réserve nutritive qui doit être utilisée à une époque déterminée, par exemple au moment de la floraison et de la fructification (betterave). C'est alors que l'invertine apparaît dans les tissus et que le sucre se transforme en composés qui participent au mouvement nutritif de la plante.

L'invertine existe dans les divers organes d'un grand nombre de plantes phanérogames. Kossmann l'a rencontrée dans les bourgeons et les feuilles des jeunes arbres (4) ; Béchamp, dans les pétales du *Robinia pseudacacia* (5) ; Van Tieghem dans le pollen de quelques plantes (6) et Kjeldahl dans l'embryon de l'orge germé (7).

Les différentes espèces de levure qui déterminent la fermentation alcoolique du sucre de canne sécrètent également de l'invertine. Il en est de même de beaucoup de moisissures, telles que l'*Aspergillus niger* V. Tgh, le *Mucor racemosus* et le *Penicillium glaucum* Link (8) ; le *Pen. Duclauxi* (9), etc. Enfin de Bary l'a rencontré dans une pezize, le *Sclerotinia sclerotiorum* Libert (10).

Tréhalase. — J'ai désigné sous ce nom un ferment soluble dédoublant le tréhalose en glucose. Je l'ai rencontré en premier lieu dans l'*Aspergillus niger* (11) ; je l'ai retrouvé ensuite dans le *Penicillium glaucum*, dans le malt non touraillé et dans quelques champignons (12). Il joue un rôle important chez la plupart de ces derniers végétaux qui renferment en effet du tréhalose, comme réserve nutritive, à certains moments de leur végétation.

La tréhalase se rencontre encore dans l'intestin grêle (12 bis).

Maltase. — On verra dans l'étude consacrée plus loin à l'action de la diastase sur l'amidon, que le produit principal de cette action est le maltose, sucre appartenant au groupe des saccharoses. Il

suit de là que le maltose se forme dans toute digestion de matières amylacées ; c'est donc le sucre le plus important au point de vue alimentaire. Comme le sucre de canne, comme le tréhalose, il doit être dédoublé en glucose pour être définitivement assimilable. Ce dédoublement est aussi le fait d'un ferment soluble dont l'existence en tant qu'espèce chimique a été fort difficile à établir ; car, presque partout où on le rencontre, il est mélangé à d'autres ferments solubles et en particulier à la diastase.

Pour me conformer à la nomenclature de Duclaux, je lui ai donné le nom de *maltase*.

Brown et Heron ont constaté sa présence dans le suc pancréatique et l'intestin grêle du porc, en 1880 (13). Ultérieurement, en 1883, j'ai retrouvé ce ferment dans le pancréas et l'intestin grêle du lapin et j'ai pu vérifier, sur le même animal en digestion, que la sécrétion qui en renferme le plus est celle qui est produite par la région moyenne de l'intestin grêle. En outre j'ai rencontré la maltase dans deux moisissures, l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum*. Enfin j'ai réussi, en ayant recours à divers artifices expérimentaux, à montrer que la

levure de bière en produit au moins transitoirement durant la fermentation alcoolique du maltose (14).

En 1889, Dubourg (14 *bis*) a établi très nettement que le sang et l'urine renferment aussi un ferment capable d'hydrolyser le maltose, c'est-à-dire de la maltase, et le fait a été confirmé depuis par divers physiologistes (Manfred Bial, 1892 ; C. Tebb, 1893).

Lactase. — Malgré des recherches nombreuses et variées, on n'avait pas réussi jusqu'à ces derniers temps à démontrer l'existence, chez les êtres vivants, d'un ferment agissant sur le sucre de lait ou lactase. Ce n'est que tout récemment que sa production, par une levûre capable de déterminer la fermentation alcoolique du sucre de lait, a été mise hors de doute par Fischer (14 *ter*). Il est vraisemblable qu'on ne tardera pas à démontrer que cette lactase est produite par d'autres organismes et probablement aussi par les animaux supérieurs.

Diastase (Synonyme : *amylase* [Duclaux]). — Kirchoff le premier a observé que l'orge germé renferme une matière albuminoïde capable de liquéfier l'empois d'amidon en donnant naissance à du

sucres (15). Toutefois, pour Kirchoff cette matière n'était autre chose que le gluten (1814).

En 1823, Dubrunfaut (16) reconnaissait qu'en mélangeant, à de l'empois d'amidon, un peu de farine de malt délayée dans de l'eau tiède et en exposant le tout pendant un quart d'heure à une température voisine de 65°, on transformait l'empois en une masse sucrée fermentescible.

C'est seulement en 1833 que la substance active du malt fut isolée par Payen et Persoz. Ces chimistes firent voir qu'on pouvait l'obtenir en précipitant par de l'alcool une macération faite à froid d'orge germé. Ils lui donnèrent le nom de *diastase*.

Payen et Persoz ne se bornèrent pas à l'étude de l'orge germé, et dans des travaux ultérieurs, ils constatèrent l'existence de la diastase dans l'avoine, le blé, le maïs et le riz en germination ainsi que dans les tubercules de pommes de terre en végétation (17).

Ces résultats laissaient supposer que les transformations de l'amidon dans les tissus des plantes sont dues partout à l'action de ferments analogues, et les observations qui, depuis celles de Payen et

Persoz, ont été faites sur ce sujet, ont confirmé ces prévisions.

Ainsi Kossmann (18) et Krauch (19) ont trouvé de la diastase dans les feuilles et les pousses ; Baranetsky (20) a démontré sa présence dans les tubercules de pommes de terre ; Kjeldahl (21) en a retiré de l'orge non germé ; Brown et Morris (22) ont signalé sa présence dans le jeune embryon ; enfin Green (23) l'a rencontrée dans les graines de plusieurs plantes.

En même temps une notion nouvelle a pris naissance : celle de l'existence de deux sortes de diastase que Brown et Morris ont appelées *diastase de sécrétion* et *diastase de déplacement*.

La première est particulière aux graines en voie de germination et se forme, chez les graminées, dans les cellules épithéliales recouvrant le scutellum. Les changements histologiques qui se produisent dans ces cellules au moment de la germination sont, d'après ces deux auteurs, absolument semblables à ceux que l'on observe dans les cellules sécrétrices animales pendant la période d'activité, ce qui rend probable son origine de sécrétion et

justifie le nom qui lui a été donné. Lorsqu'on étudie son action sur les grains d'amidon *in situ*, on constate que ceux-ci sont corrodés, creusés irrégulièrement et finalement désagrégés avant même de disparaître. Cette diastase liquéfie rapidement l'empois d'amidon.

La seconde est beaucoup plus répandue. On la trouve dans les graines au repos et dans les tissus les plus divers. Elle dissout graduellement le grain d'amidon sans qu'il se produise aucune marque de désagrégation ni de corrosion, le grain diminuant peu à peu de volume sans changer de forme jusqu'à disparition presque complète. Cette variété de diastase, à l'inverse de la précédente, agit très lentement sur l'empois d'amidon et cependant saccharifie rapidement l'amidon soluble.

Les végétaux phanérogames ne sont pas les seuls qui renferment de la diastase, il y en a aussi dans les cryptogames. Ainsi, Duclaux a montré que l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum* produisent ce ferment en abondance (24) ; Atkinson (25) et Büsgen (26) l'ont rencontré dans l'*Aspergillus orizæ* Cohn ; Kosmann l'a signalée

dans quelques hyménomycètes et dans quelques lichens. Il est vraisemblable que sa présence dans les champignons est beaucoup plus générale; mais ces derniers n'ont été l'objet, jusqu'ici, que d'un très petit nombre de recherches à cet égard.

De la diastase, ou, pour être plus précis, un ferment diastasique, c'est-à-dire agissant à la manière de la diastase, se rencontre également chez les animaux. C'est Leuchs qui, le premier, en 1831 (27), a reconnu que la salive possède la propriété de saccharifier l'empois d'amidon, et, en 1845, Mialhe (28) réussissait à extraire de ce liquide une substance comparable à la diastase de l'orge germé. Il l'appela *diastase salivaire*, nom préférable à celui de *ptyaline* qu'on lui donne quelquefois et que Berzélius avait créé pour désigner une substance albuminoïde retirée de la salive, il est vrai, mais dénuée de propriétés fermentaires (29).

La même année, Bouchardat et Sandras (30) constatèrent que le suc pancréatique renferme également un ferment diastasique et, depuis lors, on en a retrouvé dans le foie, dans l'urine, dans les œufs de crustacés (31), dans la glande digestive des

invertébrés (foie), etc. La présence de la diastase est donc aussi générale chez les animaux que chez les végétaux.

Inulase. — J.-R. Green (32) a appelé *inulase* un ferment dont il a constaté la présence dans les tubercules de topinambour en voie de germination. Ce ferment possède la propriété de transformer l'inuline en lévulose, sucre assimilable au même titre que le glucose. L'inuline constituant le seul hydrate de carbone de réserve contenu dans le topinambour, on voit que l'importance physiologique de l'inulase dans cette plante est la même que celle de la diastase dans les végétaux renfermant de l'amidon. Il est à présumer que ce même ferment doit se rencontrer, au moins à certaines époques, dans les autres espèces contenant de l'inuline, par exemple dans beaucoup de composées comme l'aunée, la chicorée, et de liliacées comme l'ail, l'oignon, la jacinthe, etc.

Tout récemment, j'ai démontré l'existence de l'inulase ou d'un ferment analogue dans l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum*, moisissures qui se développent presque aussi rapidement sur des

liquides nutritifs contenant de l'inuline que sur ceux qui contiennent du glucose (33).

Pectase. — Suivant Frémy (34), on rencontre dans les fruits verts et dans certaines racines (carottes, navets, etc.) un principe immédiat analogue à la cellulose et, comme elle, insoluble dans l'eau, mais s'en distinguant en ce qu'il possède la propriété de se transformer en *pectine* pendant la maturation. Il a donné à ce principe le nom de *pectose*. La pectine est une substance neutre qui se dissout dans l'eau en donnant une solution épaisse et visqueuse d'où l'alcool la précipite sous forme de gelée.

Dans ces mêmes fruits ou racines se trouve un ferment soluble, la *pectase*, sous l'influence duquel, dans des conditions qui seront exposées plus loin, la pectine est transformée en un produit gélatineux et insoluble dans l'eau.

En 1885, Wiesner (35) a annoncé qu'il avait retiré de la gomme arabique un ferment soluble analogue à la pectase, possédant la propriété de transformer la cellulose en gomme. Mais le fait a été vivement contesté par Reinitzer (36) qui affirme

que le seul ferment qu'on puisse retirer de la gomme arabique est de la nature de la diastase.

Ferments cyto-hydrolytiques. — L'attention n'a été attirée que depuis quelques années sur ces ferments ; mais, bien que jusqu'ici les essais tentés pour les isoler et étudier leur action en dehors du végétal n'aient pas encore donné de résultats très satisfaisants, il n'y a plus de doute à conserver sur leur existence là où des réserves de cellulose doivent être utilisées par la plante.

C'est le cas, par exemple, pour la semence du dattier (*Phoenix dactylifera*) dont l'albumen est composé de cellules à parois si épaisses que leurs cavités paraissent être presque entièrement obli-térées. Comme ces parois disparaissent graduellement pendant la germination, il faut bien admettre que l'embryon sécrète un ferment les transformant en produits solubles. L'étude histologique de la graine en voie de germination vient d'ailleurs confirmer cette manière de voir. En effet, lorsqu'on examine une coupe de cette graine passant par l'albumen et le cotylédon, on peut constater que le contenu des cellules épithéliales de ce dernier est

granuleux comme celui des cellules sécrétrices. D'autre part, les parois des cellules de l'albumen sont ramollies et irrégulièrement corrodées ; le ramollissement s'étendant graduellement de l'assise de cellules de l'albumen la plus voisine du cotylédon aux assises plus profondes. En réalité, tout montre que les cellules épithéliales de cette partie du cotylédon sécrètent un ferment qui dissout la cellulose de l'albumen et absorbent les produits solubles ainsi formés. Ceux-ci servent à la formation de l'amidon transitoire dont on remarque aussitôt la présence dans l'embryon.

Dans la graine d'un autre palmier (*Livistonia*) on a pu s'assurer que la disparition de la cellulose est liée à l'apparition du sucre aussi bien dans l'albumen désagréé que dans les cellules épithéliales dont il vient d'être question. Mais on n'est pas arrivé en traitant ces graines, non plus que celles du dattier, par les dissolvants usuels, à séparer le ferment cyto-hydrolytique, ce qui laisse supposer que, pour réussir, il faudra trouver d'autres méthodes d'extraction.

Brown et Morris ont été plus heureux avec

l'orge en germination. Nous avons déjà dit que les cellules épithéliales du scutellum, voisines de l'albumen, sécrètent de la diastase. Ces mêmes cellules sécrètent également, d'après ces deux savants, un ferment cyto-hydrolytique. Comme dans la datte, en effet, les parois des cellules de l'albumen se ramollissent et se dissolvent peu à peu, ce qui permet à la diastase d'attaquer et de dissoudre l'amidon que renferment ces cellules. Mais, de plus, le ferment peut être mis en évidence. Pour cela, on fait une macération de malt séché à l'air que l'on précipite par l'alcool. On recueille ensuite le précipité et on le dessèche dans le vide. On obtient ainsi une poudre blanche en grande partie soluble dans l'eau. Si on place, dans une solution de cette poudre, une coupe d'albumen d'orge, on voit la dissolution des parois cellulaires s'effectuer absolument comme dans la germination du grain.

Ajoutons que le ferment cyto-hydrolytique de l'orge en germination n'est pas un dissolvant universel des celluloses. On a constaté qu'il n'exerce d'action ni sur celle de l'albumen de la datte, ni sur celle des cellules du parenchyme de la pomme,

et il est probable que la cellulose de beaucoup d'autres plantes n'est pas attaquée par lui.

Les recherches que l'on poursuit de divers côtés, depuis plusieurs années, sur les phénomènes qui accompagnent la destruction des tissus végétaux par les champignons, permettent de penser que ces derniers produisent aussi des ferments cyto-hydrolytiques.

Les premières observations intéressantes sur ce sujet sont celles qu'a publiées De Bary en 1886 (37). Elles sont relatives à deux pezizes du groupe des *Sclerotinia* : les *Scl. sclerotiorum* Lib. et *trifoliorum* Eriksson. Lorsqu'on cultive ces espèces sur la pulpe de carotte et de navet, on voit les tissus se ramollir, le mycélium détruisant les parois des cellules de la moelle et de l'écorce. Si on exprime la pulpe, on obtient un suc possédant la propriété de dissoudre la cellulose. Des portions de tissus plongées dans ce suc sont désagrégées en quelques heures, les parois cellulaires se gonflant et la lamelle médiane étant dissoute. Le liquide obtenu par expression des sclérotés en voie de germination est encore plus actif. Il paraît évident que

l'on a bien affaire ici à un ferment soluble ; car, dans tous les cas, le suc perd ses propriétés à l'ébullition.

Une observation analogue aux précédentes est celle qu'a faite Marshall Ward (38) au cours de ses recherches sur le développement d'un *Botrytis*, cause d'une maladie particulière du lis. Les filaments mycéliens de ce *Botrytis* pénètrent à l'intérieur des tissus du *Lilium candidum* et y croissent librement en sécrétant un liquide visqueux qui attaque les parois cellulaires. On peut cultiver cette mucédinée dans des liquides artificiels et obtenir de grandes quantités de mycélium. Si on en fait une macération aqueuse et si dans cette macération on plonge des coupes minces de parenchyme, on voit la cellulose se gonfler et finalement se dissoudre. Comme celle de l'orge germé, cette macération perd ses propriétés quand on la porte à l'ébullition. Il y a donc bien là encore production d'un ferment cyto-hydrolytique.

Enfin, d'après Hartig, la désagrégation et la dissolution des tissus ligneux par certains champignons (*Merulius lacrymans* Wulf.), seraient dues à l'action d'un ferment semblable.

Ferments des glucosides. — *Emulsine*. — En 1830 (39), Robiquet et Boutron retirèrent des amandes amères un composé cristallisé qu'ils nommèrent *amygdaline*. Ils admettaient que ce corps devait, dans certaines conditions, donner naissance à l'essence d'amandes amères qui ne préexiste pas dans les amandes.

Mais la question ne fut élucidée que sept ans plus tard par Liebig et Wœhler (40). Ces chimistes constatèrent que l'amygdaline est bien le corps qui, comme l'avaient supposé Robiquet et Boutron, fournit par sa décomposition de l'essence d'amandes amères, mais ils découvrirent en outre que cette décomposition se fait en présence de l'eau sous l'influence de la matière albuminoïde de l'amande qu'ils appelèrent *émulsine*, et enfin, qu'avec l'essence, il se forme dans la réaction, du glucose et de l'acide cyanhydrique.

Liebig et Wœhler avaient comparé l'action de l'émulsine sur l'amygdaline à celle de la levure sur le sucre. Robiquet en 1838 la rapprocha avec plus de raison de celle de la diastase sur l'amidon et proposa de l'appeler *synaptase* (41) ; mais c'est

le nom d'émulsine qui a prévalu. L'émulsine se rencontre aussi bien dans les amandes douces que dans les amandes amères ; ces dernières seules toutefois renferment de l'amygdaline.

L'émulsine existe encore dans les feuilles de laurier-cerise; elle y accompagne un principe amorphe, la *lauro-cérasine*, qui, sous son influence, donne naissance aux mêmes produits que l'amygdaline.

Ainsi, comme nous venons de le voir, on rencontre dans un même organe, graine ou feuille, de l'émulsine et un principe, un glucoside qui, lorsqu'on le met en contact avec elle en présence de l'eau, se décompose en donnant, entre autres composés, de l'essence d'amandes amères. Or cette décomposition ne se produit pas dans la plante vivante : ni dans les amandes amères avant ou pendant leur maturation, ni dans les feuilles de laurier-cerise. Il faut donc admettre que le ferment et le glucoside y sont contenus dans des cellules distinctes, en sorte qu'ils ne peuvent réagir l'un sur l'autre que lorsqu'une action mécanique et une dissolution les mettent en contact intime. Dans quels éléments sont ainsi localisés ces deux corps ?

C'est là une question qui se trouve aujourd'hui résolue grâce aux patientes et ingénieuses recherches de Guignard.

Avant lui, divers observateurs avaient bien abordé le problème et seulement pour les amandes; mais il leur manquait un réactif sûr de l'émulsine et l'on ne doit pas s'étonner si les résultats de leurs travaux tantôt ne sont exacts qu'en partie, et tantôt surtout ne comportent qu'une précision toute relative.

C'est ainsi que Thomé, en 1865 (42), qui s'est servi de réactifs très défectueux puisqu'il n'a pu reconnaître la présence de l'émulsine dans les amandes douces qui pourtant servent à la préparer, a conclu de ses recherches que ce ferment ne se trouve dans les amandes amères que localisé dans les faisceaux libéro-ligneux très grêles qui parcourent les cotylédons.

De même Portes (43), qui s'est surtout occupé de l'apparition de l'amygdaline et de ses migrations dans les diverses parties de l'amande amère au cours de son accroissement, se borne à mentionner que l'émulsine n'existe que dans l'axe de l'embryon, l'amygdaline se trouvant dans les coty-

lédons ; il n'indique pas la localisation respective de ces deux principes dans ces divers organes.

De même enfin, Johansen, en 1887 (44), a fourni la preuve de la localisation de l'émulsine dans les faisceaux de toutes les amandes ainsi que dans l'axe de l'embryon, l'amygdaline existant seulement dans le parenchyme cotylédonaire des amandes amères.

Les conclusions du travail de Johansen, qui sont exactes dans l'ensemble et serrent la solution de la question de plus près que celles des observateurs antérieurs, n'étaient pourtant encore qu'approchées. Un faisceau cotylédonaire différencié en ses éléments se compose en effet de *bois* et de *liber* entourés par le *péricycle*, et le faisceau tout entier est lui-même recouvert par l'assise la plus interne de l'écorce ou *endoderme*. Il restait donc à savoir si ces divers éléments renferment tous de l'émulsine ou si celle-ci est seulement localisée dans quelques-uns d'entre eux.

Dans ses recherches, Guignard (45) s'est servi de deux réactifs microchimiques de l'émulsine, contrôlant avec soin leurs indications en isolant des parcelles de tissu et en les faisant agir sur une solution d'amygdaline.

L'un de ces réactifs consiste en une solution d'orcine dans l'acide chlorhydrique (une goutte d'une solution aqueuse d'orcine au dixième dans 2 cc. d'acide pur). Lorsqu'on en imbibe une coupe et qu'on chauffe avec précaution, les cellules qui renferment de l'émulsine se colorent en violet.

Le second est le réactif de Millon, au contact duquel les cellules à émulsine se colorent en rouge orange, lorsqu'on chauffe doucement.

Guignard a pu ainsi établir que les éléments dans lesquels se trouve localisée l'émulsine diffèrent suivant qu'il s'agit de la feuille de laurier-cerise ou des amandes.

Dans la feuille de laurier-cerise l'émulsine se trouve exclusivement dans les cellules de l'endoderme, c'est-à-dire de la gaine du faisceau; dans les amandes, où on la rencontre aussi bien dans les cotylédons que dans la partie axile, elle est localisée chez les premiers dans le péricycle et en faible quantité dans l'endoderme, tandis que dans l'axe, les cellules du péricycle seules en contiennent.

L'émulsine, comme nous le verrons un peu plus loin, n'agit pas seulement sur l'amygdaline,

elle agit encore sur d'autres glucosides : la salicine, la coniférine, l'hélicine, l'arbutine, etc. Il est possible que les végétaux qui renferment l'un de ces divers glucosides contiennent en même temps de l'émulsine ; mais jusqu'à présent il n'a pas été fait de recherches sur ce point.

Un ferment analogue à l'émulsine, sinon l'émulsine elle-même, se rencontre dans un grand nombre de champignons et surtout dans ceux qui sont parasites des arbres ou vivent sur le bois (46). Ainsi, il en a été trouvé dans le *Polyporus sulfureus* Bull. qui vit en parasite sur le saule, le peuplier, le marronnier et sur beaucoup d'autres arbres, dans l'*Armillaria mellea* Flora dan. qui attaque tous les conifères d'Europe et la plupart des arbres de nos forêts, dans le *Polyporus fomentarius* (L.) polypore amadouvier, si commun sur les vieux hêtres, etc. Or, c'est un fait connu que, parmi les principes immédiats que renferme l'écorce, le cambium et même la partie ligneuse des arbres qui viennent d'être cités, se trouvent des glucosides : salicine et populine dans les peupliers et les saules, esculine dans le marronnier, coniférine dans

les pins. Il est donc permis de supposer que, grâce au ferment qu'ils sécrètent, tous les champignons parasites de ces arbres peuvent en utiliser les glucosides qui, sous son influence, donnent, entre autres composés, du glucose, sucre directement assimilable.

Enfin il a été encore trouvé de l'émulsine ou un ferment analogue dans le *Penicillium glaucum* (47) et l'*Aspergillus niger* (12), les deux moisissures les plus répandues, ainsi que dans les racines fraîches des polygalas indigènes et dans la tige du *Monotropa hypopitys*.

Myrosine. — Lorsqu'on délaie de la farine de moutarde noire dans de l'eau froide ou tiède, il se développe une odeur très vive d'essence de moutarde. L'essence de moutarde ne préexiste pas dans les graines, elle se forme par la réaction d'un ferment soluble, qui a été découvert par Bussy (48) et appelé par lui *myrosine*, sur une substance cristallisable : le *myronate de potasse*, qu'on désigne encore sous le nom de *sinigrine*. Outre l'essence de moutarde, il se forme du glucose et du bisulfate de potasse.

La myrosine se rencontre dans presque toutes les plantes de la famille des *Crucifères*.

Il en existe aussi dans nombre de plantes appartenant aux *Capparidées*, aux *Tropéolées* et aux *Résédacées*.

Guignard (49) a étudié avec beaucoup de soin la localisation de ce ferment, d'abord dans les *Crucifères*, puis dans les autres familles, lesquelles, sauf la famille des *Capparidées*, ont été également l'objet d'un travail assez étendu de la part de Spatzier (50).

Chez les *Crucifères* la myrosine se trouve localisée dans des *cellules spéciales* qui se distinguent avant tout des cellules voisines par la nature de leur contenu privé d'amidon, de chlorophylle, d'huile grasse et d'aleurone, même dans les tissus qui sont abondamment pourvus de ces substances. Elles renferment, mêlée à leur protoplasma, une certaine quantité de matière protéique amorphe, coagulable par l'alcool, qui se sépare du protoplasma périphérique sous forme de petites masses granuleuses irrégulières que le réactif de Millon colore en rouge vif, tandis que le protoplasma lui-même ne prend qu'une faible teinte rose.

Mais la réaction la plus caractéristique de ces cellules consiste dans la coloration violette qui est communiquée à leur contenu, sous l'influence d'une légère élévation de température, par l'acide chlorhydrique pur. A l'aide de cette réaction, on peut les retrouver partout où elles existent.

Il y en a dans tous les organes, mais surtout dans la graine.

Dans la racine, ces cellules sont souvent localisées dans le parenchyme cortical et le parenchyme libérien. Les racines tubérifiées en possèdent aussi dans le parenchyme ligneux, relativement très développé.

Dans la tige aérienne ou souterraine, on les rencontre un peu partout, mais surtout dans le péricycle.

Dans les feuilles, leur répartition correspond à celle de la tige qui les porte. Il en est de même pour les carpelles et les cotylédons.

Comme chez les amandes amères, le glucoside est contenu dans des cellules différentes de celles qui renferment le ferment.

Chez les Capparidées (51), chez les Tropéolées

(52), la myrosine est également contenue dans des cellules spéciales. On rencontre celles-ci dans tous les organes : racine, tige, feuille, fruit et semence et plus particulièrement dans les parties parenchymateuses de ces organes. Le plus souvent isolées, ces cellules sont cependant quelquefois disposées par files de deux, trois ou quatre, par exemple, dans la tige et la feuille des Capparidées. Spatzier avait annoncé que chez les Tropéolées, les cellules à ferment se rencontraient seulement dans les semences ; mais Guignard, comme nous venons de le dire, les a trouvées dans les autres organes et souvent même en plus grande quantité que dans les semences.

Chez les Résédacées, d'après Guignard (52 bis) on observe des cellules à myrosine bien caractérisées dans la racine et la tige (parenchyme cortical externe et région libérienne, non dans le bois), dans la feuille (cellules stomatiques), ainsi que dans la graine non arrivée à maturité. La myrosine existe aussi dans la graine mûre, comme on peut s'en assurer expérimentalement ; mais jusqu'ici on n'a pas pu mettre en évidence les cellules qui la renferment.

Spatzier n'avait trouvé de myrosine que dans les cellules stomatiques de la tige et des feuilles.

Enfin, d'après Spatzier, il y aurait également des cellules à myrosine dans les semences des *Violacées* ; mais, selon Guignard, les observations du savant allemand sont nécessairement défectueuses, car lorsqu'on broie des semences d'un *Viola* quelconque avec du myronate de potasse en présence de l'eau, il ne se produit aucun dégagement d'essence de moutarde, ce qui aurait lieu certainement si ces semences renfermaient de la myrosine, même en très faible quantité.

Rhamnase. — Le ferment soluble qui porte ce nom n'a été rencontré jusqu'ici que dans les fruits dits « graines de Perse », fruits utilisés en teinture et fournis par différents *Rhamnus*. — Le péricarpe de ces fruits renferme une matière colorante jaune, la *xanthorhamnine*, sorte de glucoside auquel on attribue la formule $C^{48}H^{64}O^{28}$ et qui, sous l'influence de l'eau et des acides, se dédouble en donnant de la rhamnétine et de l'isodulcite.

Si on traite la pulpe des fruits ou un extrait du péricarpe par une macération de semences en chauff-

fant quelque temps à une température qui ne doit pas dépasser 35° C, il se dépose un abondant précipité jaune, composé de rhamnétine, la matière sucrée restant en dissolution. — Lorsque la macération des semences est portée à l'ébullition, elle perd la propriété de produire ce précipité.

Marshall Ward et Dunlop (53), à qui on doit la découverte de ce ferment, ont constaté que la rhamnase est localisée dans le raphé de la semence, formé de cellules parenchymateuses. Quant au glucoside, il est, ainsi qu'on l'a vu plus haut, confiné dans le péricarpe. La rhamnase peut être extraite du raphé soit par l'eau, soit par la glycérine.

Erythrozyme. — D'après Schunk, la racine de garance fraîche renfermerait à la fois un ferment soluble qu'il nomme *érythrozyme* et de l'alizarine sous forme de glucoside (*rubian*). Dès que la garance, convenablement divisée, est délayée dans l'eau, le ferment dédouble ce glucoside en donnant du glucose et de l'alizarine (54).

Ferments protéo-hydrolytiques. — *Pepsine, trypsine et papaine.* — Le premier de ces ferments se rencontre dans le suc gastrique des ani-

maux supérieurs et le second dans le suc pancréatique. Ils contribuent tous les deux, mais d'une manière différente, à la digestion des matières protéiques.

Le nom de pepsine a été créé par Schwann (55) et celui de trypsine par Kühne (56). Duclaux a proposé de remplacer ce dernier par le mot *caséase* (57).

On désigne sous le nom de *peptones* (58) les produits qui résultent de l'action des deux ferments sur les matières albuminoïdes. Mialhe avait appelé *albuminoses* les produits de la digestion pepsique.

La pepsine et la trypsine ont été étudiées surtout chez les animaux. Ces ferments sont sécrétés par des glandes différentes. Cependant leur présence simultanée dans la sécrétion d'une même glande a été constatée chez quelques invertébrés (3). Il convient d'ajouter que ces derniers ne possèdent, à proprement parler, qu'une seule glande digestive. Enfin quelques observateurs ont signalé l'existence de la pepsine dans la muqueuse de l'intestin (59).

Chez les végétaux, la pepsine a été trouvée dans un certain nombre de semences ainsi que dans les organes glandulaires des plantes dites *carnivores*

(*Drosera*, *Dionaea*, *Nepenthes*). Krukenberg (60) en aurait également retiré du plasmode de l'*Æthaliium septicum* Fr., champignon myxomycète qui se développe habituellement sur le tan.

Il est bon de remarquer que si l'on a rapproché la pepsine végétale de la pepsine animale, c'est parce que l'on a constaté que, comme cette dernière, elle n'exerce son action qu'en milieu acide. On n'a pas poussé plus loin la comparaison, en sorte que nous ne savons pas si les corps résultant de la décomposition des matières protéiques par ces deux pepsines sont les mêmes. On ne peut donc pas affirmer d'une manière absolue qu'elles sont identiques.

La trypsine animale agit surtout en milieu neutre et son activité décroît rapidement lorsque le milieu est légèrement acide ou alcalin. On a également trouvé chez les végétaux des ferments protéo-hydrolytiques présentant ces caractères. Le plus connu est celui qui a été désigné sous le nom de *papaïne*.

Ce ferment soluble a été retiré par Wurtz et Bouchut (61) du suc de *Carica papaya* L. en 1879. Une étude plus complète en a été faite par Sidney Martin (62). Il digère facilement les matières pro-

téiques animales et végétales en milieu neutre ; mais son activité est beaucoup plus grande quand on ajoute un peu de carbonate de soude (0,25 p. 0/0). Au surplus son mode d'action est en tout semblable à celui de la trypsine animale.

Des ferments analogues ont été trouvés dans le suc de figuier par Bouchut (63), dans le suc du fruit du *Cucumis utilissimus* Roxb. par Green (64) et dans le suc de l'ananas par Marcano (65). D'après les travaux récents de Chittenden (66), le ferment retiré de l'ananas possède tous les caractères de la papaïne.

Reste à connaître le rôle de ces ferments tryptiques et pepsiques dans les organes qui les renferment. Il semble que, tout au moins pour ceux qui existent dans les fruits ou les semences, ils interviennent dans la marche de la germination. Les recherches de Green (67) ont établi, en effet, qu'il n'existe pas de ferment protéo-hydrolytique dans les graines de lupin et de ricin tant que celles-ci sont en repos, mais qu'il en apparaît dès le début de la germination. Ces ferments ont donc, vraisemblablement, pour fonction de convertir les albumi-

noïdes de réserve du grain en composés pouvant passer facilement des cellules qui renferment ces derniers dans les tissus de la jeune plante en voie de développement.

On n'a pas fait beaucoup de recherches sur la présence des ferments protéo-hydrolytiques dans les bactéries et les champignons ; aussi ne pouvons-nous guère citer comme en contenant que les *Tyrothrix tenuis* Ducl., *geniculatus* Ducl. et *scaber* Ducl. qui, d'après Duclaux (68), sécrètent une trypsine très active.

Peut-être est-ce encore à une sécrétion de trypsine que certaines mucédinées comme le *Penicillium glaucum*, l'*Aspergillus niger* (69) et plusieurs espèces de *Mucor*, ou encore de nombreux microbes comme le *Bacterium vernicosum* Zopf (70), le bacille du charbon, le *Micrococcus prodigiosus* (71), etc., doivent la propriété de liquéfier la gélatine.

Présure. — Ce ferment, qui détermine la coagulation de la caséine du lait et qui joue un rôle important dans la fabrication des fromages, se rencontre surtout dans les glandes gastriques des animaux. On l'a également signalé dans l'intestin grêle (59).

Un ferment analogue à la présure a été trouvé dans un certain nombre de plantes. La plus anciennement connue, sous ce rapport, est le *Galium verum* L. (Caille-lait) qui, paraît-il (72), est encore employé dans l'ouest de l'Angleterre par les laitiers pour hâter la coagulation du lait.

D'après Linné, quelques tribus de Laponie et, d'après Pfeffer, les habitants des Alpes italiennes font usage, dans le même but, des feuilles du *Pinguicula vulgaris* (Grassette), en sorte que l'on doit supposer que cette plante renferme un ferment coagulatif du lait.

Bouchardat et Quévenne ont signalé autrefois la présence d'un pareil ferment dans les fonds d'artichauts, présence qui a été confirmée plus tard par Ad. Mayer (73) et par Baginsky (59). Ce dernier en a aussi trouvé dans le suc de *Carica papaya*.

Cette présure végétale a été extraite pendant ces dix dernières années d'un grand nombre de semences, quelquefois avant, d'autres fois pendant la germination. Lea (74) l'a retirée des semences à l'état de repos du *Withania coagulans*, arbuste qui croît à l'état sauvage en Afghanistan. Le *Withania*

est un genre de la famille des Solanées dont le fruit est une capsule contenant un grand nombre de petites semences. De ces semences on peut extraire le ferment, soit par la glycérine, soit par une solution moyennement concentrée de sel marin. Son activité est à peu près la même que celle de la plupart des échantillons commerciaux de présure animale.

Récemment, Green (75) a rencontré la présure végétale dans les semences du *Datura stramonium*, du *Pisum sativum*, du *Lupinus hirsutus* et du *Ricinus communis* : pour les deux premières plantes, dans les graines à l'état de repos et pour les deux dernières, dans les semences en germination. Dans le Ricin et le Lupin cette présure est associée à de la trypsine.

Le « *Naras* » (*Acanthosicyos horrida*), plante de l'Afrique du Sud, renferme aussi de la présure dans le péricarpe, la pulpe et le suc de ses fruits mûrs. A l'inverse des plantes citées ci-dessus, il n'y en a pas dans les semences. Cette présure est détruite par l'ébullition, mais peut se conserver presque indéfiniment à l'état sec.

Enfin, d'après Chittenden, dans l'ananas il existe

de la présure associée au ferment trypsique.

Plasmase. — Lorsque du sang est soustrait à l'influence vitale ou au contact des vaisseaux, il se coagule en donnant d'abord une sorte de gelée massive. Celle-ci se partage bientôt en deux parties : le *caillot* et le *sérum*. Le caillot est constitué par de la fibrine emprisonnant les globules ; le sérum est un liquide tenant en solution tous les autres principes du sang.

Grâce aux travaux d'Al. Schmidt, d'Hammarsten et d'Arthus (76), le phénomène de la coagulation du sang paraît enfin expliqué.

Ce phénomène se produit aux dépens d'une substance albuminoïde particulière (substance fibrinogène) existant dans le sang en circulation, sous l'influence d'un ferment soluble qui ne se développe qu'au moment où le sang est soustrait à l'influx vital. Les savants allemands ont appelé ce ferment *fibrin ferment*, nom qu'il est assez difficile de traduire en un seul mot français. Dans la terminologie de Duclaux le nom du ferment est, comme il a été dit, tiré de celui de la substance fermentescible dont la désinence est remplacée par la désinence « ase ».

Ici la substance fermentescible est désignée par une périphrase (substance fibrinogène), ce qui ne permet pas de faire une application immédiate de cette terminologie. Mais la *plasmine* de Denis de Commercay n'est pas autre chose que de la substance fibrinogène impure ; il me semble donc que l'on peut, sans inconvénient sérieux, désigner le ferment du sang sous le nom de *plasmase*.

La plasmase existe encore dans la salive, la synovie, le liquide amniotique, le suc du cristallin et l'humeur aqueuse. D'autres liquides de l'économie, tels que les liquides péricardiques, les hydrocèles, renferment de la substance fibrinogène, mais pas de ferment. Ils n'en produisent pas non plus une fois retirés des cavités qui les renferment et par conséquent ne coagulent pas spontanément. Mais si à ces derniers liquides on ajoute du sérum du sang, de la salive ou quelque autre des humeurs citées en premier lieu, la coagulation se produit aussitôt.

La plasmase provient des globules blancs. Son mode d'action est en tout comparable, comme on le verra ultérieurement, à celui de la présure dans

la coagulation du lait et de la pectase dans la coagulation de la pectine.

Uréase. — En 1862, Pasteur (77) avait remarqué que, dans les urines devenues ammoniacales, on rencontre d'une façon constante un micro-organisme se présentant sous la forme de petits corpuscules arrondis réunis en chapelet et il avait annoncé que la fermentation ammoniacale de l'urine, c'est-à-dire la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, devait être produite par ce petit végétal. Cette manière de voir a été pleinement confirmée en 1864 par les recherches de Van Tieghem (78). En 1876, Musculus (79) est venu compléter nos connaissances sur ce point; il a constaté qu'on pouvait retirer des urines ammoniacales un ferment soluble qui, en l'absence de tout corps organisé, peut déterminer la fermentation de l'urée. C'est à ce ferment que j'ai donné le nom d'*uréase* (80).

Il a été retrouvé depuis et étudié par Lea. Miquel (81), à qui l'on doit de très intéressantes recherches sur les différentes espèces de microorganismes capables de déterminer le dédoublement de l'urée, a constaté, pour la plupart, qu'elles secrè-

tent de l'uréase. Enfin, il est vraisemblable que le *Bacterium vernicosum* Zopf, récemment décrit par Zopf, lequel possède la propriété de provoquer la fermentation ammoniacale, sécrète aussi de l'uréase.

Ferments des glycérides. — Cl. Bernard (82) a insisté le premier sur la propriété que possède le suc pancréatique d'émulsionner les graisses et de les dédoubler en acides gras et en glycérine. Il attribuait cette double propriété à un ferment soluble élaboré par la glande pancréatique. Il est établi aujourd'hui que l'émulsion des graisses est un phénomène purement physique, indépendant par conséquent de toute action fermentaire (83). Quant au dédoublement des corps gras, bien que les expériences sur lesquelles s'appuyait Cl. Bernard soient peu probantes, ayant été faites à une époque où l'on ne songeait pas à l'intervention possible des microbes, il est vraisemblable qu'il doit être, comme ce savant le pensait, déterminé par un ferment soluble.

Du moins, l'existence d'un pareil ferment, qu'on pourrait appeler *lipase* (λίπος, graisse), paraît, elle

aussi, avoir été mise hors de doute dans certaines circonstances où l'on a observé ce dédoublement. Ainsi, Green, en faisant macérer des graines de ricin en germination dans une solution de sel marin à 5 0/0 additionnée d'une trace de cyanure de potassium comme antiseptique, a obtenu un liquide agissant sur les graisses. Si, en effet, après l'avoir débarrassé du sel par dialyse, on l'ajoutait à une émulsion d'huile de ricin et si on chauffait à 40°, le tout ne tardait pas à présenter une réaction acide très nette. Ce savant a même pu séparer l'acide gras et la glycérine formés dans ces conditions. Lorsque le liquide était porté à l'ébullition, il perdait toute activité, ce qui semble bien indiquer qu'il devait ses propriétés à un ferment soluble.

Des observations semblables ont été faites par Sigmund (84) sur les graines de colza, de pavot, de chanvre, de lin et de maïs à l'état de repos et en germination.

Ferments solubles pathogènes. — Dans ces dernières années, des recherches déjà nombreuses ont établi, pour divers microorganismes patho-

gènes, que leur activité doit être rapportée à des produits solubles qu'ils élaborent. Quelques-uns de ces produits ont pu être caractérisés comme alcaloïdes ; mais la plupart d'entre eux ne rentrent pas dans les groupes de corps connus, et, après en avoir fait une classe de composés que l'on a désignés sous le nom de *toxalbumines*, on tend actuellement à les rapprocher des ferments solubles.

A la vérité, on ne connaît encore ces derniers corps que par certaines de leurs propriétés ; on ne sait même pas quels sont les principes organiques sur lesquels ils exercent leur action, ni par conséquent comment ils l'exercent ; en sorte qu'il reste encore quelque doute sur leur nature. Toutefois, leur importance s'accroissant de jour en jour, nous dirons quelques mots de deux des mieux connus, ceux dont on a constaté la présence dans les liquides de culture du microbe de la diphtérie et du microbe du tétanos.

Le bacille de la diphtérie produit un virus extrêmement toxique que l'on peut obtenir en solution en filtrant le liquide de culture du microorganisme à travers le filtre de porcelaine. Si on injecte cette

solution dans le sang d'un animal, on provoque les mêmes accidents que ceux qu'on remarque dans la diphtérie elle-même.

D'après Roux et Yersin (85), qui l'ont découvert, ce virus perd beaucoup de son activité lorsqu'on chauffe la solution à une température égale ou supérieure à 58° . Il est précipité par l'alcool et peut être ensuite redissous dans l'eau sans perdre de ses propriétés. Enfin, à l'état sec, il peut être chauffé à 70° sans perdre de sa puissance toxique. Comme on le voit, ce virus présente bien la plupart des caractères d'un ferment soluble.

Uschinsky (86), qui a également étudié ce composé, l'a trouvé très peu résistant. Il a constaté qu'une précipitation par l'alcool, la dessiccation dans le vide à 33° - 36° , surtout à la lumière, suffisent pour le détruire. Il a constaté en outre que l'addition d'une quantité très faible d'aldéhyde formique, dans ses solutions, annihile son activité. On verra plus loin que, d'après Lœw, les ferments solubles perdent leur pouvoir ferment quand on les additionne de ce même réactif.

Le ferment soluble que produit le bacille du té-

tanos diffère du précédent. D'après Courmont et Doyon (87), il n'est pas toxique par lui-même ; mais injecté dans l'organisme, il élabore aux dépens de celui-ci une substance directement tétanisante comme la strychnine. C'est ce qui explique que les produits bacillaires deviennent inactifs après un chauffage à 65°, tandis que la substance soluble qu'on extrait des muscles tétaniques résiste à une ébullition prolongée.

Ferments oxydants. — *Laccase*. — Il est probable qu'il existe plusieurs arbres à laque, appartenant tous, d'ailleurs, au genre *Rhus*, de la famille des Anacardiacées. Il semble, en tout cas, que l'arbre à laque du Japon soit le *Rhus vernicifera* D. C., alors que celui du Tonkin serait le *R. succedanea* L.

Au Japon, le suc de l'arbre à laque est obtenu en faisant à la tige des entailles peu profondes ; on le recueille dans des vases particuliers et on le conserve à l'abri de l'air jusqu'au moment de l'emploi. Ce sont les arbres de 15 ans qui fournissent la plus grande quantité de suc.

On donne à ce suc le nom d'*uruschi*. Quand il

est inaltéré, c'est un produit de consistance de miel frais, de couleur blanc grisâtre, qui apparaît au microscope formé par de petits globules, les uns de couleur claire, d'autres de teinte foncée, mélangés à de petites parcelles de matière brune, le tout parfaitement émulsionné.

Au Tonkin, le suc s'obtient à peu près de la même façon ; on y soumet l'arbre à laque à l'exploitation dès qu'il atteint sa troisième année.

Lorsque le suc de l'arbre à laque est exposé à l'air, en couche mince, vers 20°, il prend une couleur foncée et se dessèche en donnant un vernis brillant et translucide. La matière noire ainsi formée est insoluble dans les dissolvants usuels ; eau acide ou alcaline, alcool, éther, etc. C'est en raison de ces propriétés que ce suc est employé, principalement en Chine, dans l'ébénisterie. Appliqué sur les meubles, il se change peu à peu, au contact de l'air, en cet enduit noir, brillant et inaltérable qui porte le nom de *laque*.

Le noircissement et le durcissement du suc de l'arbre à laque ont été rapportés pour la première fois, en 1883, à l'action d'un ferment soluble, par

Hikorokuro Yoshida (88), qui a constaté que le suc perd ses propriétés siccatives lorsqu'on le chauffe à la température de 63°.

Le suc renferme donc, d'après cette observation, un ferment soluble. Il renferme en outre 60 à 85 0/0 d'une substance de la nature d'un acide qu'il nomme *acide uruschique* (*acide laquique*), une substance gommeuse, de l'eau et un acide volatil. — Sous l'action du ferment soluble et en présence de l'air, l'acide uruschique s'oxyde en donnant de l'acide *oxyuruschique*, qui constitue le vernis laque desséché.

G. Bertrand a repris en 1894 (89) l'étude du latex de l'arbre à laque ; il a confirmé l'existence, dans ce produit, d'un ferment soluble et déterminé les conditions dans lesquelles il exerce son action oxydante. Le principe du latex sur lequel agit ce ferment (*acide uruschique*), présentant des propriétés analogues à celles d'un phénol polyatomique, il lui a donné le nom de *laccol*, appelant *laccase* le ferment oxydant.

De pareils ferments paraissent exister chez beaucoup de végétaux. Ainsi, G. Bertrand a pu retrou-

ver la laccase, ou un ferment analogue, dans diverses matières d'origine végétale, telles que les gommes arabique et du Sénégal, ainsi que dans beaucoup de végétaux supérieurs, pomme de terre; betteraves, rhizomes de Canna, etc. (90). L. Lindet (91) a montré que la coloration du jus de pomme est due également à l'action oxydante de la laccase. Le tannin qui se trouve localisé dans des cellules spéciales de la pomme étant, par le fait du broyage, mis en contact avec le ferment en présence de l'air, s'oxyde et donne naissance à un produit coloré.

La recherche de la laccase est singulièrement facilitée par ce fait qu'elle colore immédiatement en bleu la teinture de résine de gaïac (90). C'est en utilisant cette réaction que nous avons pu, G. Bertrand et moi, retrouver la laccase ou un ferment analogue dans un grand nombre de champignons (92) tels que : *Russula cyanoxantha* Schaeff, *fætens* Pers, *lutea* Herds., *rosea* Schaef., *nigricans* Bull., *furcata* Lam, *fragilis* Pers; *Lactarius vellereus* Fr., *volemus* Fr., etc. Il n'existe pourtant pas dans tous les champignons; ainsi les *Polyporus sulfureus* Bull. et *squamosus* Huds, le *Scleroderma verrucosum* Bull., etc.

ne donnent pas de réaction avec la teinture de gaïac. Dans quelques espèces, le ferment est localisé dans certaines parties ; ainsi en est-il pour le *Lactarius piperatus* Scop. et le *Phallus impudicus* L. Dans le stipe du premier, le ferment est surtout localisé dans la partie centrale et, dans le second, on n'en trouve que dans la capsule sur laquelle repose le pied.

Enfin, lorsque le champignon renferme à la fois le ferment et un composé capable de se colorer par oxydation, c'est grâce au ferment que la coloration se produit. C'est ainsi que lorsqu'on coupe certains bolets, la tranche se colore en bleu (*Boletus cyanescens* Bull.), et que le *Russula nigricans* Bull. devient noir en vieillissant (93).

BIBLIOGRAPHIE

(1) Donath, *Ueber den invertirenden Bestandtheil der Hefe* (Ber. d. d. chem. Gesellsch., VIII, 1875, p. 795).

(2) Cl. Bernard, *Digestion du sucre de canne* (Revue scientifique, XI, 1873, p. 1062).

(3) Em. Bourquelot, *Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Céphalopodes* (Thèse pour le Doctorat ès-sciences, Paris, 1885, p. 61).

(4) Kossmann, *Etudes sur les ferments solubles contenus dans les plantes* (Comptes rendus, LXXXI, 1875, p. 406).

(5) Béchamp, *Mémoire sur les matières albuminoïdes* (Mém. Acad. sciences, XXVIII, 1884, p. 347).

(6) V. Tieghem, *Inversion du sucre de canne par le pollen* (Bull. Soc. bot. de France, XXXIII, 1886, p. 216).

(7) Kjeldahl, *Hydrates de carbone de l'orge* (Compt. rend. des travaux du lab. de Carlsberg, I, p. 194 du résumé français).

(8) U. Gayon, *Sur l'inversion et sur la fermentation alcoolique du sucre de canne par les moisissures* (Comptes-rendus, LXXXVI, 1878, p. 52).

(9) Bourquelot et Graziani, *Sur quelques points relatifs à la physiologie du « Penicillium Duclauxi Delacr. »* (Bulet. de la Soc. myc. de France, VIII, 1892, p. 147).

(10) De Bary, *Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten* (Bot. Zeit., 1886, n^{os} 22-27).

(11) Em. Bourquelot, *Sur un ferment soluble nouveau dédoublant le tréhalose en glucose* (Compt. rend., séance du 17 avril 1893).

(12) Em. Bourquelot, *Remarques sur les ferments solubles sécrétés par l'« Aspergillus niger V. Tgh. » et le « Penicillium glaucum Link »* (Société de Biologie, séance du 17 juin 1893).

(12 bis) Bourquelot et Gley, *Digestion du tréhalose* (Société de Biologie, séance du 13 juillet 1893).

(13) Brown et Heron, *Ueber die hydrolytischen Wirkungen des Pancreas und des Dünndarms* (Ann. d. Chem. und Pharm., CCIV, 1880, p. 228).

(14) Em. Bourquelot, *Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose* (Journ. de l'anat. et de la phys., 1886, p. 162, et Comptes rendus, novembre et décembre 1883).

(14 bis) El. Dubourg, *Recherches sur l'amylase de l'urine* (Thèse pour le Doct. ès-sciences, 1889, Paris).

- (14 ter) Emil Fischer, *Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme* (Ber. d. d. chem. Gesellschaft, XXVII, 1894, p. 3481).
- (15) Sig. Kirchoff, *Ueber die Zuckerbildung beim Malzen des Getreides*, etc. — (Mém. lu à l'Académie de Saint-Pétersbourg, le 30 déc. 1814. — Schweigger's, Journ., XIV, 1815, p. 389).
- (16) D'après Duclaux, *Chimie biologique*, p. 124.
- (17) Payen et Persoz, *Mémoire sur l'amidon et suite de recherches sur la diastase* (Ann. de chim. et de phys., [2], LVI, 1834, p. 337). — *Note sur le dernier mémoire de M. Guérin-Varry* ; par Payen (même recueil, [2], LX, 1835, p. 441).
- (18) Kossmann, *Recherches chimiques sur les ferments contenus dans les végétaux* (Bull. de la Soc. chim. de Paris, XXVII, 1877).
- (19) Krauch (Landwirthsch. Versuchsstat, XXIII, 1879) ; d'après Green.
- (20) Baranetsky, *Die stärkeumbildenden Fermente* (1878).
- (21) Kjeldahl, *Recherches sur les ferments producteurs du sucre* (Compt. rend. des tr. du lab. de Carlsberg, 1879, I, p. 138).
- (22) Brown et Morris (Journal of the Chem. Soc., juin 1890, p. 505).
- (23) J.-R. Green, *On vegetable Ferments* (Annals of Botany, VII, 1893, p. 85).
- (24) Duclaux, *Chimie biologique*. Paris, 1883, p. 142 et 195.
- (25) Atkinson, *Mémoires of the science départment*. Tokia Dalgaku, 1881.
- (26) Büsgen, *Aspergillus Orizae* (Ber. d. deutsch. bot. Ges., III, LXVI, p. 1885).
- (27) Leuchs, *Ueber die Verzuckerung des Stärkemehls durch Speichel* (Kastner's Arch. f. d. ges. Narturlehre, 1831).
- (28) Mialhe, *De la digestion et de l'assimilation des matières sucrées* (Comptes rendus, XX, 1845, p. 954).
- (29) Berzélius (Lehrbuch III, 1849, p. 218).

(30) Bouchardat et Sandras, *Des fonctions du pancréas et de son influence sur la digestion des féculents* (Comptes rendus, XX, 1845, p. 1085).

(31) Abelous et Heim, *Note sur l'existence de ferments digestifs dans les œufs de crustacés* (Comptes rendus des séances de la Soc. de Biologie, [9], III, 1891, p. 273).

(32) J.-R. Green, *On the germination of the tuber, of the Jerusalem, Artichoke* (*Helianthus tuberosus*) (Annals of Botany, I, 1888).

(33) Em. Bourquelot, *Inulase et fermentation alcoolique indirecte de l'inuline* (Société de Biologie, séance du 6 mai 1893, p. 481).

(34) Frémy, *Mémoire sur la maturation des fruits* (Ann. de chim. et de phys., [3], XXIV, 1848, p. 1).

(35) J. Wiesner, *Ueber ein Ferment welches in der Pflanze die Umwandlung der Cellulose in Gummi und Schleim bewirkt* (Botanische Zeitung, 1885, p. 577, XLIII).

(36) Friedr. Reinitzer, *Ueber die wahre Natur des Gummi-fermentes* (Zeitschr. f. phys. Chem., XIV, 1890, p. 453).

(37) De Bary, *Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten* (Bot. Zeitung, 1886, nos 22-27).

(38) Marshall Ward, *A lily disease* (Annals of Botany, II, 2, p. 319, 1888).

(39) Robiquet et Boutron, *Nouvelles expériences sur les amandes amères* (Ann. de ch. et de phys., [2], XLIV, 1830, p. 352).

(40) Liebig et Wöhler, *Ueber die Bildung des Bittermandelöls* (Annalen der Pharmacie, XXII, 1837, p. 1).

(41) Robiquet, *Séance de la Société de Pharmacie du 2 mai 1838* (Journ. de pharm., XXIV, 1838, p. 326).

(42) Thomé, *Ueber das Vorkommen des Amygdalins und des Emulsins in den bittern Mandeln* (Bot. Zeitung, 1865, p. 240).

(43) Portes, *Recherches sur les amandes amères* (Journ. de pharm. et de chim., XXVI, 1877, p. 410).

(44) Johansen, *Sur la localisation de l'émulsine dans les amandes* (Ann. des sc. nat. Bot., [7], VI, 1887, p. 118).

(45) L. Guignard, *Sur la localisation dans les amandes et le laurier-cerise, des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique* (Journ. de bot., 1890, p. 3).

(46) Em. Bourquelot, *Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les champignons et en particulier dans les champignons parasites des arbres ou vivant sur le bois* (Comptes rendus, séance du 11 septembre 1893).

(47) E. Gérard, *Présence, dans le Penicillium glaucum, d'un ferment agissant comme l'émulsine* (Société de Biologie, séance du 17 juin 1893).

(48) Bussy, *Note sur la formation de l'huile essentielle de moutarde* (Comptes-rendus, IX, 1839, p. 815).

(49) L. Guignard, *Recherches sur la localisation des principes actifs des Crucifères* (Journal de botanique, nos des 16 nov., 1^{er} et 16 déc. 1890).

(50) Spatzier, *Ueber das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze* (Jahrb. f. wiss. Bot., XXV, I, 1893, p. 55).

(51) L. Guignard, *Sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées* (Comptes rendus, CXVII, 1893, p. 493).

(52) L. Guignard, *Sur la localisation des principes actifs chez les Tropéolées* (Comptes rendus, CXVII, 1893, p. 587).

(52 bis) L. Guignard, *Sur la localisation des principes actifs chez les Résédacées* (Comptes rendus, CXVII, 1893, p. 861).

(53) Marshall Ward et Dunlop, *On some points in the Histology and Physiology of the fruits and seeds of Rhamnus* (Annals of Botany, I, 1887, p. 4).

- (54) Schunk (Phil. mag., [4], XII, p. 200 et 270).
- (55) Th. Schwann, *Ueber das Wesen des Verdauungs processes* (Poggendorf's Annalen, XXXVIII, 1836, p. 358).
- (56) W. Kühne (Verhandl. Naturhist. med. Ver. [N. S.], Heidelberg, t. I).
- (57) Duclaux, *Mémoire sur le lait* (Annales de l'Institut agronomique, 1879-80, p. 61).
- (58) Lehmann (Physiologische Chemie. Leipzig, 1850).
- (59) Ad. Baginski, *Ueber das Vorkommen und Verhalten einiger Fermente* (Zeitschr. f. physiol. Chem., VII, 1883, p. 209).
- (60) Krukenberg (Untersuch. aus dem. physiol. Inst. der Univ. Heidelberg, II, Heft 3, 1878).
- (61) A. Würtz et E. Bouchut, *Sur le ferment digestif du Carica papaya* (Comptes rendus, LXXXIX, 1879, p. 425).
- (62) S. Martin (Journal of Physiology, V, 1884).
- (63) E. Bouchut, *Sur un ferment digestif contenu dans le suc de figuier* (Comptes-rendus, juillet 1880, XCI, p. 67).
- (64) J.-R. Green, *On the Occurrence of vegetable Trypsin in the fruit of Cucumis utilissimus Roxb.* (Ann. of Botany, VI, 1892, p. 195).
- (65) Marcano (Bull. of. Pharmacy, V, p. 77, 1891).
- (66) Chittenden (Trans. of Connecticut Academy, VIII, 1891).
- (67) J.-R. Green, *On the changes in the proteids in the seed which accompany germination* (Phil. Trans., vol. 178, 1887, B. p. 39).
- (68) Duclaux, *Mémoire sur le lait* (Ann. de l'Inst. agron., 1879-1880, p. 61).
- (69) Em. Bourquelot, *Les ferments solubles de l'Aspergillus niger* (Bull. de la Soc. myc. de France, IX, 1893, p. 230).
- (70) W. Zopf, *Zur Kenntniss der Organismen des amerikanischen Baumwollsaatmehls* (Beitr. z. Physiol. und Morph. niederer Organismen, Heft, I, 1892, p. 94).

- (71) Cl. Fermi (*Arch. f. Hygiène*, X, p. I, 1889).
- (72) J.-R. Green, *On vegetable Ferments* (*Ann. of Botany*, VII, 1893, p. 112).
- (73) Ad. Mayer, *Die Lehre von den chem. Fermenten* (1882, p. 6).
- (74) Lea, *On a « Rennet » ferment contained in the seeds of Withania coagulans* (*Chem. News*, XLVIII, p. 261, 1883).
- (75) J.-R. Green, *On the germination of the Castor-oil plant* (*Proc. Roy. Soc.*, XLVIII, p. 391).
- (76) M. Arthus, *Recherches sur la coagulation du sang* (Thèse pour le doct. ès-sciences naturelles, Paris, 1893).
- (77) Pasteur, *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère* (*Ann. de ch. et de phys.*, [3], LXIV, 1862, p. 52).
- (78) Van Tieghem, *Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique* (Thèse, 1864).
- (79) Musculus, *Sur le ferment de l'urée* (*Comptes-rendus*, LXXXII, 1876, p. 333).
- (80) Em. Bourquelot, *Les fermentations* (Thèse d'agrégation, Paris, 1889).
- (81) P. Miquel, *Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée* (*Annales de micrographie*, II, III, IV, V ; 1889 à 1893).
- (82) Cl. Bernard, *Leçons de physiologie expérimentale* (T. II, p. 263).
- (83) Duclaux, *Sur la digestion des matières grasses et celluloseuses* (*Comptes-rendus*, XCIV, 1882, p. 976).
- (84) Sigmund, *Ueber fettspaltende Fermente in Pflanzreiche* (*Sitzungsber. d. k. Akad. der Wissensch. Wien, Math. Nat. Classe*, XCIX, juillet 1890 et juillet 1891).
- (85) Roux et Yersin, *Contribution à l'étude de la diphtérie* (*Annales de l'Institut Pasteur*, II, p. 629 ; III, p. 273 ; IV, p. 385, 1888-1890).

(86) Uschinsky (Centralblatt f. Bakt. und Paras., 1893, p. 316).

(87) Courmont et Doyon, *La substance toxique qui engendre le tétanos résulte de l'action sur l'organisme récepteur...* (Comptes-rendus, 1893).

(88) Hikorokuro Yoshida, *Chemistry of Lacquer (Urushi)* (Journ. of. the Chem. Society, XLIII, 1883, p. 472).

(89) G. Bertrand, *Recherches sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin* (Bull. de la Soc. chim. de Paris, XI, 1894, p. 614 et 717).

(90) G. Bertrand, *Sur la recherche et la présence de la laccase dans les végétaux* (Comptes rendus CXXI, p. 166, 15 juillet 1895 et déjà CXX, p. 266).

(91) L. Lindet, *Sur l'oxydation du tannin de la pomme à cidre* (Bull. de la Soc. chim. de Paris, XIII, p. 277, 1895 — Recherches déjà publiées en partie dans « Le cidre, 1893, p. 150 ».)

(92) Em. Bourquelot et G. Bertrand, *La laccase dans les champignons* (Soc. de Biologie, séance du 20 juillet 1895).

(93) Em. Bourquelot et G. Bertrand, *Le bleuissement et le noircissement des champignons* (Soc. de Biologie, séance du 20 juillet 1895).

CHAPITRE III

PRÉPARATION, CARACTÈRES GÉNÉRAUX ET COMPOSITION CHIMIQUE DES FERMENTS SOLUBLES.

§ 1^{er}. — Préparation des ferments solubles.

On ne connaît pas encore de procédé permettant d'obtenir les ferments solubles à l'état de pureté. Ceux que l'on emploie reposent sur ce que ces corps sont précipités par l'alcool de leur dissolution aqueuse ou sur la propriété qu'ils possèdent d'être entraînés par certains précipités dont on détermine la formation au sein des liquides qui les renferment.

Comme les ferments solubles sont toujours retirés de liquides organiques, et comme ceux-ci contiennent d'autres composés précipitables par l'alcool, des albuminoïdes ou certains hydrates de carbone par exemple, on comprend que le précipité obtenu soit un mélange de corps divers. On a

proposé de purifier le produit en le précipitant plusieurs fois à l'aide de l'alcool de ses dissolutions aqueuses. Mais on a observé qu'en opérant ainsi on finissait par aboutir à des préparations inactives. Cela tient en partie à ce que ces ferments ne sont pas entièrement insolubles dans l'alcool, et qu'on en enlève à chaque manipulation.

Diastase. — Quoi qu'il en soit, l'emploi ménagé de l'alcool, comme précipitant des ferments solubles, donne, pour quelques-uns d'entre eux, de bons résultats. On le recommande surtout pour la préparation de la diastase.

D'après J. Lintner (1), on obtient une diastase très active en opérant ainsi qu'il suit. On fait digérer pendant 24 heures une partie de malt frais ou desséché à l'air dans 2 à 4 parties d'alcool à 20°. On exprime pour retirer le liquide et on ajoute à celui-ci le double de son volume d'alcool absolu. Il se forme un précipité qui se rassemble en flocons blanc jaunâtre qui ne tardent pas à tomber au fond du vase. Il est inutile d'employer à cette précipitation une plus grande proportion d'alcool ; on n'augmenterait pas beaucoup le précipité et ce qu'on

ajouterait serait constitué uniquement par une substance gommeuse inerte.

Après un repos suffisant, on essore rapidement sur un filtre, on enlève le produit, on le triture dans un mortier avec de l'alcool absolu et on filtre de nouveau. Finalement on lave à l'éther et on dessèche dans le vide sur l'acide sulfurique. Ce dernier lavage permet d'obtenir la diastase sous la forme d'une poudre légère presque blanche ; s'il était incomplet, la préparation se foncerait sous l'action de l'air et prendrait une consistance cornée nuisible à son emploi.

On peut encore redissoudre cette poudre dans l'eau et la précipiter ensuite par l'alcool absolu comme il vient d'être dit ; on la débarrasse ainsi de quelques matières étrangères qui sont devenues insolubles pendant la première précipitation. Mais il n'y a pas profit à répéter cette manipulation, car on diminue le rendement du ferment sans augmenter son activité.

On a fait diverses tentatives pour obtenir une diastase chimiquement pure, soit en modifiant le procédé, soit en faisant subir au produit des puri-

fications ultérieures ; ces tentatives n'ont pas donné de bons résultats.

C'est ainsi que Payen et Persoz, avant d'ajouter l'alcool à la macération de malt, portaient celle-ci à 70°, supposant précipiter par là les matières albuminoïdes proprement dites : mais il résulte des recherches de Lintner que de la diastase préparée par précipitation à l'aide de l'alcool, et soumise à ce traitement, donne un produit qui ne possède plus que le $\frac{1}{8}$ environ de l'activité de la diastase primitive. Cet affaiblissement trouvera son explication lorsque nous traiterons de l'influence des agents physiques sur les ferments solubles.

On a également proposé, pour purifier la diastase, de la dissoudre dans l'eau et de précipiter les matières albuminoïdes par le sous-acétate de plomb. Le liquide filtré débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré, puis filtré de nouveau et enfin additionné d'alcool en quantité suffisante, donnerait un produit pur. C'est en réalité le procédé qui a été employé par Würtz pour purifier la papaïne (2). Mais en ce qui concerne la diastase, il doit être rejeté. C'est du moins ce qui ressort des expériences de Lintner.

Présure. — Pour d'autres ferments solubles que la diastase, il peut cependant être avantageux de modifier dans quelques détails le procédé opératoire que nous venons de décrire, surtout si l'on a seulement en vue l'obtention d'un produit commercial convenablement actif. Pour retirer la présure des caillettes de veau, on commence par les vider de tous les grumeaux qu'elles renferment et on les lave à grande eau. On les gonfle ensuite et on les fait sécher. La dessiccation a pour effet de coaguler, ou au moins de rendre insoluble, une matière muqueuse gluante qui rend visqueuses et mousseuses les macérations d'estomac frais. Cette matière gélatineuse existe surtout en abondance dans la région de l'estomac qui avoisine le pylore où la muqueuse de l'estomac présente un aspect particulier ; aussi enlève-t-on souvent cette partie. Le reste constitue la matière première d'où l'on retire les solutions concentrées de présure employées dans la préparation des fromages.

Comme les caillettes desséchées sont difficilement pénétrables par l'eau, une simple macération à froid de ces organes ne suffit pas pour les épuiser.

ser. Il faut recourir à l'emploi d'eau à 30 ou 35°, ou mieux, selon le conseil de Soxhlet (3), se servir, à la température ordinaire, d'eau tenant en dissolution 3 à 6 pour 100 de sel marin. On emploie un litre de cette solution pour 60 à 80 grammes de caillettes coupées en petits morceaux et on agite fréquemment.

Même en opérant ainsi, l'extraction ne se fait que très lentement et n'est complète qu'au bout de 5 jours environ. Aussi arrive-t-il souvent que, pendant sa préparation, le liquide devient putride par suite de l'apparition des microorganismes de la putréfaction. Pour éviter cet inconvénient, Soxhlet recommande d'ajouter à ce liquide 4 pour 100 d'acide borique. Cela suffit pour empêcher le développement de ces microorganismes.

Le produit filtré constitue une solution de présure commerciale très active, dont on peut précipiter le ferment à l'aide de l'alcool. Toutefois il faut avoir soin de ne laisser que le moins possible le précipité au contact de l'alcool qui a servi à le produire, car il y devient de plus en plus cohérent et insoluble dans l'eau.

Pepsine. — Dans le procédé de A. Petit pour la préparation de la pepsine, on se contente de faire macérer la muqueuse stomacale dans 4 fois son volume d'eau distillée renfermant 4 centièmes d'alcool. Après 4 heures de macération, on filtre et on évapore, à une température qui ne doit pas dépasser 40 degrés, dans des vases à large surface (4).

On voit que Petit n'a pas recours à la précipitation par l'alcool : c'est qu'il a été reconnu que le contact de l'alcool fort avec la pepsine l'affaiblit rapidement, comme cela arrive avec la présure.

Depuis quelques années, on trouve dans le commerce des pepsines dites en cristaux ou en paillettes. Il est à peine utile de faire remarquer que la première de ces expressions ne correspond nullement à la réalité. Les procédés de préparation de ces pepsines, qui sont du reste en général très actives, diffèrent certainement suivant les fabricants, toutefois il est probable qu'ils se rapprochent tous du suivant, qui a été publié récemment (5).

On se sert exclusivement de muqueuses d'estomacs de porc. On lave d'abord ces muqueuses à l'eau

froide et on les débarrasse ainsi du mucus, du sang et autres impuretés dont elles sont imprégnées; on les passe ensuite à une sorte de laminoir qui les tend de façon à les aplatir. 30 kilogr. de ces muqueuses, provenant de 125 estomacs environ, sont placés dans un digesteur avec 36 litres d'eau distillée et 500 grammes d'acide chlorhydrique concentré. Le tout est mis à digérer à la température de 38° environ jusqu'à ce que les particules de la muqueuse soient dissoutes. Il faut environ 6 heures pour obtenir une dissolution complète. Les muqueuses se gonflent d'abord et forment une sorte de masse cohérente visqueuse, blanc grisâtre. En continuant la digestion et en agitant fréquemment, la masse se transforme en un magma glaireux d'une transparence homogène. Puis elle perd son homogénéité et l'on voit de fines parcelles rouges se séparer. A ce moment on suspend la digestion; on laisse refroidir et déposer, après avoir ajouté toutefois à la mixture 60 grammes de chloroforme et un peu d'acide sulfureux, afin d'empêcher toute fermentation putride. Le jour suivant, on décante le liquide vert jaunâtre qui recouvre le dépôt et on filtre. On

obtient ainsi, lorsque l'opération est bien conduite, 42 à 45 kilogrammes d'un liquide clair, de consistance un peu sirupeuse, laissant environ 15 kilogr. de dépôt.

La solution claire est alors ou concentrée dans le vide, ou placée dans des cuvettes à bords peu élevés et évaporée à une température qui ne doit pas dépasser 44° jusqu'à réduction à 15 kilogr. environ. On filtre de nouveau, on étend en couche mince sur des plaques de verre et on termine la dessiccation dans une étuve convenable. La pepsine ainsi préparée est en paillettes.

Dans de bonnes conditions on peut obtenir de 2 kilogr., 5 à 3 kilogr. de pepsine avec les quantités ci-dessus.

On prépare de la même façon la pepsine en cristaux, ou pepsine peptone, avec cette différence toutefois que la solution concentrée est étendue en nappes plus épaisses sur les plaques de verre. Après dessiccation, on brise en petits morceaux.

Ces produits, pepsine en paillettes ou pepsine peptone, sont des mélanges de pepsine et de syntonine avec un peu de peptone. On a cherché à

enlever ces impuretés et par conséquent à purifier cette pepsine. Le procédé le meilleur, imaginé à cet effet, repose sur ce fait que lorsqu'on sature par du sulfate de soude une solution de pepsine acidulée, la pepsine se sépare. L'opération se fait à la température de 34° centigrades, et comme la séparation est longue à se produire, on ajoute au liquide, pour prévenir toute décomposition, de l'acide sulfureux de façon à ce qu'il en sente faiblement l'odeur. L'acide sulfureux détruit d'ailleurs plusieurs des substances animales odorantes qui se trouvent dans les solutions de pepsine, en sorte que le produit obtenu est presque inodore.

La pepsine ainsi séparée est à peu près débarrassée des peptones qui restent dans la solution de sulfate de soude. Une fois égouttée et pressée, elle est à peu près pure. On peut du reste la purifier encore en la redissolvant dans de l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, en ajoutant un peu d'acide sulfureux et en dialysant le mélange. La pepsine dialyse très lentement, tandis que les peptones, le sulfate de soude, le chlorure de sodium et la syn-tonine dialysent beaucoup plus rapidement en solu-

tion acide. Lorsqu'on juge qu'une proportion suffisante de sulfate de soude est éliminée, la portion non dialysée est évaporée dans le vide, soit à sec et pulvérisée, soit jusqu'à un certain degré de concentration, puis étalée sur des plaques de verre et séchée en paillettes. Ces paillettes sont un peu opaques et présentent une saveur légèrement amère, rappelant celle du sulfate de soude.

Les trois exemples que nous venons d'exposer suffisent pour donner une idée des procédés employés dans l'industrie pour la préparation des ferments solubles. Il nous reste à dire quelques mots de ceux qui ont été ou qui sont encore employés dans les laboratoires et qui, dans certains cas, par exemple lorsqu'on veut rechercher un ferment dans une plante ou dans une portion de tissu, peuvent présenter quelques avantages.

Au lieu d'eau comme dissolvant, Wittich (6) a proposé d'employer la glycérine, qui enlève également bien aux tissus animaux et végétaux les ferments solubles qu'ils renferment, tout en donnant des solutions qui ne se putréfient pas.

Avec les moisissures que l'on peut cultiver sur

des liquides nutritifs, il n'est même pas utile de les triturer dans un dissolvant (eau ou glycérine) pour en retirer les ferments qu'ils produisent et les étudier.

L'*Aspergillus niger* V. Thg. est une de ces moisissures. On la cultive à l'étuve à 30° ou 34° sur du liquide de Raulin, et lorsqu'elle est arrivée à maturité complète, on retire la cuvette de l'étuve. On siphonne le liquide nutritif, on le remplace par de l'eau distillée et on abandonne à la température du laboratoire. Au bout de 12 heures, on jette cette première eau qu'on remplace par une quantité à peu près égale de nouvelle eau. Le ferment excrété par la plante se dissout dans l'eau sous-jacente, et, au bout de 2 ou 3 jours, on a une solution très active qui, après filtration, est d'une limpidité parfaite.

On prépare aussi certains ferments solubles en les entraînant dans des précipités qu'on forme au sein de leur solution aqueuse. On enlève ensuite la substance inerte à l'aide d'un dissolvant approprié. Les manipulations sont assez délicates dans ces procédés; aussi n'ont-ils servi jusqu'à présent que pour essayer d'obtenir des ferments à l'état de pureté.

Nous indiquerons seulement, parmi ces procé-

dés, celui qui a été proposé par Brücke en 1861 (7) pour la préparation de la pepsine. On fait macérer la muqueuse de l'estomac à 38° dans de l'eau renfermant 5/100 d'acide phosphorique. Il se produit une véritable digestion et la muqueuse se dissout presque entièrement. On filtre et on ajoute au liquide de l'eau de chaux jusqu'à neutralisation presque complète. Le précipité de phosphate de chaux qui se forme entraîne la pepsine. On le sépare et on le redissout à l'aide d'acide chlorhydrique dilué. Pour enlever la pepsine de ce liquide acide, on l'additionne d'une solution éthéro-alcoolique de cholestérine ; le ferment se précipite avec la cholestérine. Enfin on jette ce nouveau précipité sur un filtre et, après l'avoir lavé, on le traite par l'éther qui dissout la cholestérine et laisse la pepsine sous la forme d'une solution aqueuse qui occupe le fond du vase.

§ 2. — Caractères généraux et composition chimique des ferments solubles.

Lorsque les ferments solubles ont été conve-

nablement préparés, ils se présentent sous la forme d'une poudre blanche, amorphe, soluble dans l'eau. La solution se trouble plus ou moins, mais toujours faiblement, par la chaleur. Elle précipite par l'alcool.

Lorsqu'on la fait passer à travers un filtre en terre poreuse, celui-ci retient une partie du ferment.

Ce sont là les seuls caractères physiques ou chimiques qu'on peut regarder comme communs à tous les ferments solubles. La propriété de précipiter par certains réactifs généraux des albuminoïdes, le tannin, le sublimé, le sous-acétate de plomb, qu'on croyait autrefois appartenir à ces composés, n'existe plus lorsque le produit a été purifié.

Elle n'existe pas non plus pour certaines solutions fermentaires, même très actives, telles que la solution obtenue avec l'*Aspergillus niger* dont nous avons parlé à la page 72. Cette solution ne précipite ni par le tannin, ni par le sublimé (7 bis). Enfin nous avons même vu l'un des réactifs indiqués ci-dessus, le sous-acétate de plomb, employé pour débarrasser certains ferments des impuretés qu'ils renferment.

On ne peut pas même dire que le pouvoir de décomposer l'eau oxygénée, considéré par Schönbein (8) comme une propriété générale des ferments solubles, appartienne réellement à ces composés. Jacobson (9), en effet, a démontré que l'émulsine et la diastase du pancréas, soumises à certaines influences, perdent cette propriété tout en conservant leur activité fermentaire. Ainsi, une émulsion d'amandes amères et une macération du pancréas maintenues pendant une heure, la 1^{re} à la température de 72°, la 2^e à celle de 62°, puis refroidies, n'exercent plus aucune action sur l'eau oxygénée tout en conservant leur pouvoir ferment. Il en est de même si on chauffe pendant une heure de la poudre d'émulsine à 130° ou de la poudre de pancréatine du commerce à 120°; ces deux matières deviennent inertes par rapport à l'eau oxygénée et sont cependant encore capables d'agir, la première sur l'amygdaline et la seconde sur l'empois d'amidon. Il y a plus : lorsque l'un des ferments, l'émulsine par exemple, a servi à décomposer un excès d'eau oxygénée, si on le précipite par l'alcool du

liquide dans lequel il est en solution et si, après l'avoir desséché, on le redissout dans l'eau et essaie de nouveau, on constate qu'il n'agit plus sur l'eau oxygénée et décompose pourtant encore l'amygdaline.

Il faudrait donc admettre que la propriété de décomposer l'eau oxygénée, si elle appartient réellement au ferment, est indépendante de ses propriétés fermentaires. Il paraît plus probable qu'elle est particulière à quelque impureté qui accompagne le ferment.

La vérité est, comme nous l'avons déjà dit, qu'on ne connaît pas les ferments solubles à l'état de pureté. De là les variations dans les propriétés chimiques qu'on leur attribue, propriétés qui, après tout, ne sont peut-être que celles des substances étrangères avec lesquelles ils sont mélangés. Cette proposition ressort encore davantage à l'examen du tableau suivant, dans lequel se trouvent rassemblées les principales analyses élémentaires qui ont été faites des ferments solubles.

	Carbone	Hydrogène	Azote	Soufre	Cendres	Auteurs
Diastase.....	45.68	6.9	4. 57	0.	6.08	Krauch.
id.	—	—	7 à 8	—	—	Dubrunfaut.
Invertine.....	43.90	8.4	6	0.63	—	Barth.
id.	40.50	6.9	9. 30	—	—	Donath.
id.	—	—	4. 30	—	—	Ad. Mayer.
Èmulsine....	43.06	7.2	11. 52	1.25	—	Buckland-Bull.
id.	48.80	7.10	14. 20	1.3		Aug. Schmidt.
Papaïne.....	52.19	7.12	16. 40	—	4.22	Wurtz.
Blanc d'œuf non coagulé.	53.70	7.10	15. 80	1.80	—	Dumas et Cahours

Comme on le voit, ces analyses sont loin de concorder entre elles. Le chiffre qui représente les proportions d'azote varie en particulier dans des limites très étendues. Dans le cas où il est le plus élevé, la composition élémentaire du produit se rapproche de celle des matières albuminoïdes ; dans le cas où il est le plus faible, la proportion d'azote tend vers 0. De là deux opinions diamétralement opposées sur les résultats possibles d'une purification complète des ferments solubles. Pour les uns cette purification doit conduire à des corps possédant la composition des albuminoïdes, pour les autres elle doit mener à des composés sans azote. C'est ainsi que Lintner appliquait à la diastase la première hypothèse, tandis que Hirschfeld concluait de ses recherches que ce même

ferment doit être un hydrate de carbone, une sorte de matière gommeuse (10).

Si l'on s'en rapportait uniquement à l'analyse chimique, il faudrait considérer aussi la laccase retirée par G. Bertrand du latex de l'arbre à laque, comme une matière gommeuse, car elle ne renferme presque pas d'azote, donne de l'acide mucique quand on la traite par l'acide azotique de densité 1, 2 et engendre, par hydrolyse, du galactose et de l'arabinose (11).

Il n'y a en résumé qu'une conclusion à tirer de ces faits, c'est qu'il ne faut pas chercher la caractéristique des ferments solubles dans leur composition chimique. Comme nous allons le montrer dans les chapitres suivants, elle est tout entière dans les réactions qu'ils déterminent et dans les lois qui régissent ces réactions.

BIBLIOGRAPHIE

(1) J. Lintner, *Studien über Diastase* (Journ. f. prakt. Chem. XXXIV, 1886, p. 378).

(2) Würtz, *Sur la papaine* (Comptes rendus, XC, 1880, p. 379, et XCI, 1880, p. 787).

(3) F. Soxhlet, *Darstellung haltbarer Labflüssigkeiten* (Milchzeitung, 1877, n^{os} 37 et 48).

(4) A. Petit, *Recherches sur la pepsine* (Paris, 1884, p. 26).

(5) *The Manufacture of Pepsin and Determination of its proteolytic Power* (Pharmaceutical journal and Transactions, janvier 1893, p. 588).

(6) Wittich, *Ueber eine neue Methode zur Darstellung künstlicher Verdauungs flüssigkeiten* (Pflüger's Archiv, II, 1869, p. 193).

(7) Brücke, *Beiträge zur Lehre von der Verdauung* (Wien. Akadem, Sitzungsab., XLIII, Abth. 2, 1861, p. 601).

(7 bis) Em. Bourquelot et Hérissé, *Arrêt de la fermentation alcoolique sous l'influence de substances sécrétées par une moisissure* (Société de Biologie, séance du 27 juillet 1895).

(8) Schönbein, *Ueber das Wasserstoff superoxyd als Mittel die fermentartige Beschaffenheit organischer Materien zu erkennen* (Journ. f. prakt. Chemie, CVI, 1869, p. 257).

(9) J. Jacobson, *Untersuchungen über die lösliche Fermente* (Zeitschr. f. physiol. Chemie, XVI, 1892, p. 340).

(10) Hirschfeld, *Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase* (Arch. f. d. ges. Physiol., XXXIX, 1886, p. 499).

(11) G. Bertrand, *Recherches sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin* (Bull. de la Soc. chimique, 3^e série, t. XI, p. 718, 1894).

CHAPITRE IV

RÉACTIONS DÉTERMINÉES PAR LES FERMENTS SOLUBLES.

§ 1^{er}. — Ferments solubles hydratants.

Dans toutes les fermentations déterminées par les ferments solubles hydratants, il y a fixation d'eau sur le corps qui fermente et décomposition de celui-ci en deux ou plusieurs corps nouveaux. Mais l'allure du phénomène varie avec les fermentations.

Dans certains cas, la réaction paraît en quelque sorte se faire d'emblée, non pas sur la totalité, mais sur des portions successives du corps fermentescible. Si, en effet, on analyse le mélange dans le courant de la fermentation, on constate qu'il ne renferme, outre ce qui reste du corps non attaqué, que les produits définitifs de la fermentation (exemple : invertine).

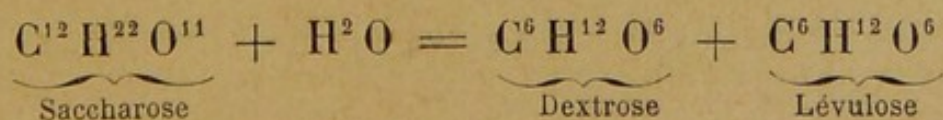
Dans d'autres cas la formation des produits ultimes de la réaction est précédée par l'apparition

de composés intermédiaires. La molécule primitive du corps fermentescible éprouve des modifications successives jusqu'au moment où les corps qui en dérivent sont indécomposables en présence du ferment (exemple : diastase).

Nous allons reprendre successivement, en suivant l'ordre de la classification qui a été exposée au premier chapitre, chacun des ferments solubles et exposer leur mode d'action.

Invertine. — La seule action connue de l'invertine est celle qu'elle exerce sur le sucre de canne ou saccharose.

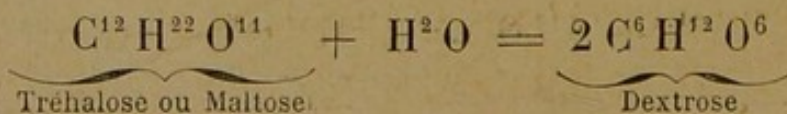
Lorsqu'on ajoute de l'invertine à une solution aqueuse de sucre de canne, on constate après un temps suffisant que ce sucre est remplacé par un mélange à parties égales de dextrose et de lévulose, mélange qui porte le nom de sucre interverti. On l'a appelé ainsi pour exprimer que la solution qui déviait primitivement à droite la lumière polarisée a acquis la propriété de dévier à gauche. L'action de l'invertine peut être représentée par l'équation suivante :



Le pouvoir rotatoire du lévulose étant lévogyre et beaucoup plus élevé que le pouvoir rotatoire dextrogyre du dextrose, on s'explique aisément le changement observé dans les propriétés optiques de la solution.

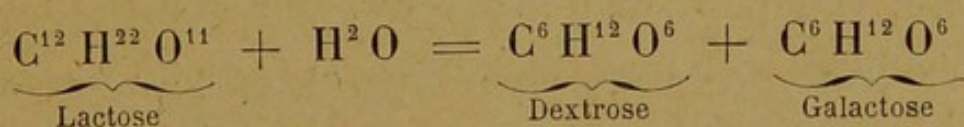
Tout récemment, Em. Fischer a constaté que quelques glucosides artificiels sont dédoublés par l'eau de levure préparée à froid. Si cette eau ne renfermait que de l'invertine, on pourrait en conclure, que le dédoublement est produit par ce ferment ; mais nous verrons plus loin qu'il n'en est pas ainsi.

Tréhalase et maltase. — Le premier de ces deux ferments dédouble le tréhalose et le second le maltose. Tréhalose et maltose sont des sucres isomères du sucre de canne. Mais tandis que ce dernier, en se dédoublant, donne deux glucoses différents, les deux autres donnent du dextrose seulement. L'équation exprimant la réaction est par conséquent la même, qu'il s'agisse de la tréhalase ou de la maltase. On peut la formuler ainsi qu'il suit :



Le tréhalose, le maltose et le dextrose sont dextrogyres. Le pouvoir rotatoire (α_D) du premier est $+ 198^\circ$, celui du second $+ 138^\circ 4$ et celui du troisième $+ 52^\circ 4$. Il suit de là que la rotation à droite d'une solution de tréhalose ou de maltose diminue, sous l'influence du ferment.

Lactase. — La lactase agit sur le lactose qu'elle dédouble en dextrose et galactose.



Le lactose et le galactose sont dextrogyres comme le dextrose. Le pouvoir rotatoire du premier est à peu près le même que celui du dextrose (respectivement $+ 52^\circ 5$ et $+ 52^\circ 4$); mais celui du galactose est $+ 80^\circ 7$, par conséquent la rotation à droite d'une solution de lactose augmente sous l'influence du ferment.

Diastase. — Lorsque les graines, les tubercules, les bourgeons chargés d'amidon passent de la vie latente à la vie manifestée, on voit, comme nous l'avons dit plus haut, les grains d'amidon se corroder, se dissoudre dans les cellules et finale-

ment y être remplacés par de la matière sucrée.

Nous avons admis que cette saccharification se produit sous l'influence de la diastase qui, à ce moment, est toujours présente dans les tissus. Mais, si, voulant étudier le phénomène en dehors des cellules, on ajoute, à des grains d'amidon de pomme de terre délayés dans de l'eau, de la diastase préparée par l'un des procédés que nous avons indiqués, ou encore de la salive, on est tout étonné de constater qu'à la température ordinaire ces grains restent intacts. La plus ancienne, sinon la plus intéressante, des observations que nous ayons à cet égard est celle de Guérin-Varry (1). Ce chimiste avait placé une solution d'extrait de malt mélangée à de la fécule de pommes de terre dans un vase bouché, et abandonné le tout à la température de 20 à 26° C. Au bout de 63 jours, le liquide ne renfermait pas trace de sucre, et les grains de fécule ne présentaient aucun changement. Il en avait conclu que la diastase ne joue aucun rôle dans le processus de dissolution des grains d'amidon dans les semences en germination.

Il y a là une contradiction qui n'est qu'appar-

rente et dont on peut donner dès à présent l'explication. Il est certain qu'au moment où les grains d'amidon sont dissous dans les cellules, le protoplasma est légèrement acide. Or, Baranetzky (2) a montré qu'une très faible acidité est nécessaire pour que la diastase attaque l'amidon *cru*. En prenant la précaution d'aciduler très légèrement la solution de diastase dont il se servait, il a pu constater l'action dissolvante du ferment sur un grand nombre de grains d'amidon et même sur les plus résistants, comme ceux de riz et de pomme de terre.

Quoi qu'il en soit, l'action la mieux étudiée de la diastase est celle que ce ferment exerce, dès la température ordinaire, sur l'amidon préalablement transformé en empois à l'aide de l'eau et de la chaleur. Quand la proportion d'eau n'est pas trop considérable, l'empois se présente sous la forme d'une gelée plus ou moins transparente. Lorsqu'on l'additionne d'une solution de diastase, la masse se désagrège, se dissout et se transforme en un liquide sucré, clair ou très faiblement opalescent. Au commencement de la réaction, le produit addi-

tionné d'eau iodée se colore en bleu ; un peu plus tard, traité de la même façon, il prend une teinte bleu violacé. On a ensuite du violet, puis du rouge, du jaune et, en dernier lieu, l'addition d'eau iodée ne détermine plus de coloration.

Lorsque la fermentation diastasique est terminée, l'amidon se trouve remplacé par deux corps nouveaux : *maltose* et *dextrine*.

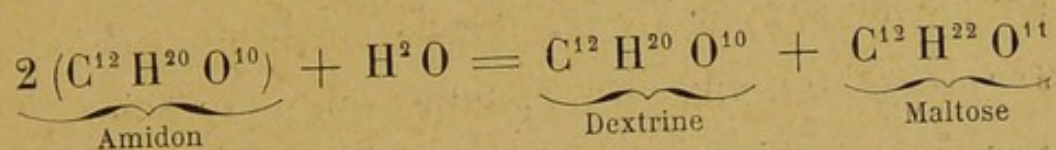
Presque toujours cependant, avec la diastase ordinaire ou avec les sécrétions organiques réputées comme renfermant de la diastase, il se forme, outre ces deux corps, du dextrose ; c'est que cette diastase ou ces liquides renferment de la maltase.

Le maltose, dont il a déjà été question ci-dessus, est un sucre cristallisable appartenant au groupe des saccharoses. Sa formule est donc $C^{12} H^{22} O^{11}$. Son pouvoir rotatoire $\alpha_D = + 138^{\circ},4$ et son pouvoir réducteur est égal aux 61/100 du pouvoir réducteur du glucose.

La dextrine est une substance non cristallisable, non réductrice, fortement dextrogyre ($\alpha_j = + 216^{\circ}$) (3). Elle ne donne pas de coloration avec l'iode et elle est inattaquable par la diastase propre-

ment dite (amylase). Elle a la même composition élémentaire que l'amidon.

En n'envisageant que le terme de la saccharification et en ne tenant pas compte des proportions réciproques des deux corps formés, on a pu formuler la réaction ainsi qu'il suit :



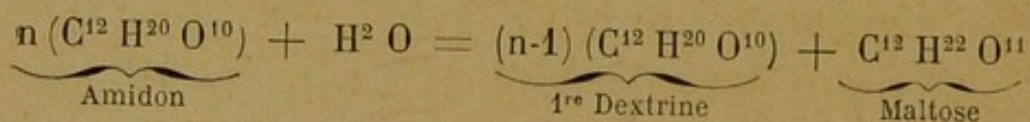
Mais le phénomène est plus complexe. Si, dans le courant d'une fermentation, on prélève de temps en temps des échantillons de la matière et si on les analyse, on trouve toujours du maltose ; seulement les produits qui l'accompagnent diffèrent de la dextrine qui reste en dernier lieu.

Ils sont incristallisables, précipitables par l'alcool, fortement dextrogyres et peuvent tous donner naissance à du maltose lorsqu'on les soumet à l'action de la diastase. Ils se distinguent du reste entre eux par les proportions de maltose qu'ils peuvent fournir dans ces conditions. Enfin ils se comportent différemment en présence de l'eau iodée ; les uns se colorant et les autres ne se

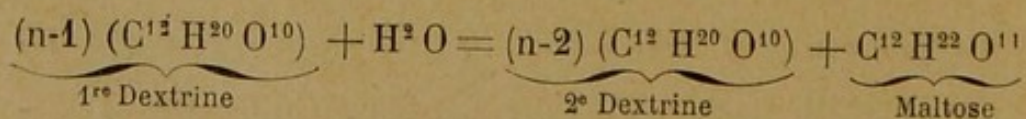
colorant pas lorsqu'on les traite par ce réactif.

En réalité, on a là une série de corps qui sont des dextrines au même titre que la dextrine que nous avons considérée tout d'abord, car elles en ont la composition élémentaire. Brücke (4) les a partagées en deux groupes. Aux unes, celles qui sont colorées par l'iode, il a donné le nom *d'érythro-dextrines*, aux autres, celles qui ne se colorent pas, le nom *d'achroodextrines*.

En présence de ces faits, on est conduit à admettre que, sous l'influence de la diastase, l'hydratation de l'amidon se fait par phases successives. Dans la première phase, il se produit une dextrine et une molécule de maltose :



Dans la seconde, la dextrine précédente fournit une nouvelle dextrine et une deuxième molécule de maltose :



La réaction se poursuit ainsi jusqu'à ce que la

dextrine formée soit inattaquable par la diastase. Le produit final se compose de $4/5$ de maltose pour $1/5$ de dextrine environ.

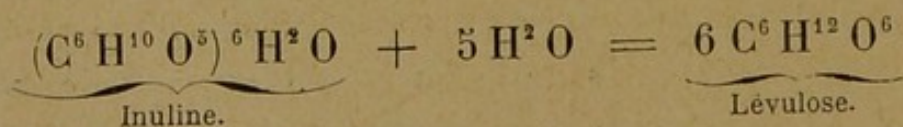
La fermentation déterminée par la diastase consiste donc dans la *dégradation* de l'amidon, c'est-à-dire dans la soustraction répétée, à la molécule amylacée, d'une molécule $C^{12}H^{20}O^{10}$ qui s'hydrate et passe à l'état de maltose (a).

La diastase n'agit pas seulement sur l'amidon et certaines dextrans, elle saccharifie encore le glycogène. Elle peut même saccharifier celui-ci, comme je l'ai constaté (5), lorsqu'il est en combinaison avec le peroxyde de fer, combinaison qui est cependant insoluble dans l'eau bouillante. La réaction paraît être analogue à celle qui se passe dans la saccharification de l'amidon.

(a) La réaction de la diastase sur l'amidon a donné lieu à de longues discussions entre les savants : les uns affirmant que l'amidon se change d'abord en dextrine, puis celle-ci en sucre, les autres au contraire, soutenant que dextrine et sucre se forment simultanément. Ces discussions ne pouvaient être exposées ici. On les trouvera résumées dans le mémoire que j'ai publié en 1886 sur les propriétés physiologiques du maltose (*Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, 1886, p. 162).

Comme on le verra plus loin, le mode d'action de la diastase salivaire sur l'empois ne diffère pas de celui que nous venons d'étudier. Quant aux produits qui se forment directement dans la plante, sous l'influence des diastases qu'elle renferme, on en est réduit sur leur nature à des conjectures. Il n'est pas douteux que la décomposition de l'amidon donne toujours naissance finalement à une matière sucrée réductrice qui est vraisemblablement du dextrose. Mais la formation de ce glucose est-elle précédée de celle de maltose qu'un autre ferment doublerait ensuite ? Y a-t-il en même temps production de dextrine ? Ce sont là des points qui n'ont pas encore été élucidés.

Inulase. — Sous l'influence de l'inulase, l'inuline s'hydrate et se convertit en lévulose. En admettant pour formule de l'inuline celle qui a été donnée par Kiliani, l'équation de la réaction est la suivante :



Green admet que l'action de l'inulase (inulase

du topinambour) sur l'inuline est aussi complexe que celle de la diastase sur l'amidon, c'est-à-dire qu'il se forme, au cours de l'hydrolyse, des dérivés de l'inuline analogues aux dextrines. Mes recherches sur l'inulase de l'*Aspergillus* (6) m'ont conduit à des résultats différents, ainsi qu'on peut en juger d'après l'expérience qui suit :

4 grammes d'inuline d'*Atractylis gummifera* ont été dissous à chaud dans 50 cc. d'eau distillée, puis traités par 50 cc. d'une solution d'inulase à une température comprise entre 50 et 60° pendant une heure. Le liquide a été ensuite porté rapidement à l'ébullition, puis refroidi. Il déviait à gauche la lumière polarisée de 5° 36' (T^{ro} 18°) ; la réaction était donc déjà assez avancée, une solution d'inuline à 4 pour 0/0 ne pouvant dévier que de 3° 12' environ (tube de 20 centimètres).

Après évaporation au bain-marie à 20 cc., on a précipité par de l'alcool à 95°. Le précipité blanc pur et pulvérulent a été jeté sur un filtre et lavé complètement avec de l'alcool. Après quoi, il a été desséché, d'abord sur l'acide sulfurique, puis à l'étuve à 100°. Il pesait 0 gr. 75. On a dissous 0 gr. 5676

de ce produit dans 50 cc. d'eau. La solution, qui renfermait quelques particules en suspension, a été filtrée et examinée au polarimètre. La déviation a été trouvée égale à 54 minutes à gauche = $-0^{\circ} 90$; ce qui donne, pour le pouvoir rotatoire de la matière : $\alpha_D = -39^{\circ} 6$, valeur aussi rapprochée que possible du pouvoir rotatoire de l'inuline elle-même que j'ai trouvé égal à $-40^{\circ} 3$.

Il y a donc tout lieu de croire que cette matière est de l'inuline non attaquée, d'où il faut conclure que, dans l'hydrolyse de l'inuline de l'*Atractylis* par l'inulase de l'*Aspergillus*, il n'y a pas formation de composés intermédiaires. Dans un travail récent (6 bis), Düll a constaté que, traitée par l'acide oxalique étendu, l'inuline donne du lévulose sans qu'il y ait formation de composés intermédiaires. Cette observation vient à l'appui de la précédente.

Pectase. — Nous avons vu que, sous l'influence de la pectase, la pectine est transformée en un produit gélatineux et insoluble dans l'eau. Pour Frémy, ce produit était de l'acide pectique.

Tout récemment, Bertrand et Mallèvre ont établi que cette transformation n'a lieu que si les

liquides renferment un sel soluble de calcium, de baryum ou de strontium, de telle sorte que, dans les solutions ordinaires de pectine, le coagulum qui se forme est du pectate de chaux. On peut répéter facilement les expériences qui ont permis à ces observateurs de se prononcer sur ce point. Pour cela, il faut d'abord préparer une solution de pectase et une solution de pectine, toutes deux bien exemptes de chaux.

Pour obtenir la solution de pectase, il convient de se servir de carottes récoltées en pleine période de végétation; elles sont beaucoup plus riches en ferment que les carottes vieilles. On rejette la zone corticale qui renferme peu de pectase, on réduit le reste en pulpe et on soumet à la presse. Il en sort à peu près 70 à 80 pour 100 d'un liquide trouble qu'on sature aussitôt de chloroforme, afin d'éviter l'intervention ultérieure des micro-organismes. On filtre, puis on ajoute une proportion d'oxalate alcalin exactement suffisante pour précipiter toute la chaux. On laisse reposer et on filtre de nouveau.

Pour préparer la solution de pectine, on utilise

le marc de carottes provenant de l'opération précédente. Aussitôt pressé, ce marc est délayé dans l'alcool ; on fait bouillir un quart d'heure et l'on filtre chaud. Le résidu est alors mis en macération dans l'eau additionnée de 2 centièmes d'acide chlorhydrique. Après 24 heures, on exprime le tout dans un linge et la liqueur, éclaircie par filtration, est précipitée par son volume d'alcool. La pectine se rassemble en flocons qu'on recueille sur une toile ; on la purifie complètement de chaux en l'épuisant à froid, avec de l'alcool à 50° renfermant 2 pour 0/0 d'HCl. Quand la pectine ainsi traitée ne fournit plus qu'une trace de cendres exemptes de chaux, on la débarrasse de l'acide par une série de dissolutions dans l'eau et de précipitations par l'alcool. On fait en dernier lieu une solution de 2 grammes de pectine dans 100 grammes d'eau.

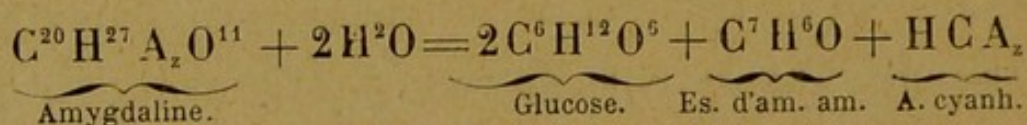
Si alors on ajoute, à cette solution de pectine, de la solution de pectase décalcifiée, on constate que le mélange reste indéfiniment liquide, tandis que la moindre addition d'un sel soluble de calcium détermine sa prise en gelée, après quelque temps.

Si enfin on répète la même opération, mais en se servant d'une solution de pectase préalablement chauffée à 100° pendant 5 minutes, il n'y a pas de coagulation. Il suit de là que *la chaux ou la pectase agissant isolément sont incapables de produire la fermentation pectique*. La chaux peut d'ailleurs être remplacée par une autre base alcalino-terreuse.

Cytases. — Comme on l'a déjà vu dans le chapitre II, les ferments cytohydrolytiques dissolvent les celluloses. Il est vraisemblable que sous leur influence, ces hydrates de carbone se convertissent, suivant leur nature, en glucose, mannose ou galactose, sucres utilisables par la plante ; mais, sur ce point, tout est encore hypothèse.

Emulsine. — L'émulsine détermine la fermentation d'un assez grand nombre de composés qui appartiennent tous à la classe des glucosides. L'une de ces fermentations est particulièrement intéressante au point de vue pharmaceutique ; c'est celle de l'amygdaline, dont on tire parti dans la préparation de l'huile essentielle d'amandes amères et dans celle de l'eau distillée de feuilles de laurier-cerise.

Nous avons déjà dit que les amandes amères renferment à la fois de l'amygdaline et de l'émulsine. Pour que l'émulsine agisse sur le glucoside, il faut que ces deux corps soient en solution aqueuse. On mélange donc avec de l'eau froide la poudre d'amandes amères dont on a exprimé l'huile, on laisse macérer un temps suffisant pour que la fermentation soit terminée et on distille à la vapeur. Le dédoublement de l'amygdaline se fait d'après l'équation suivante :



L'acide cyanhydrique, qui se forme en même temps que l'essence d'amandes amères, étant volatil, il en passe à la distillation et l'essence doit être ultérieurement purifiée.

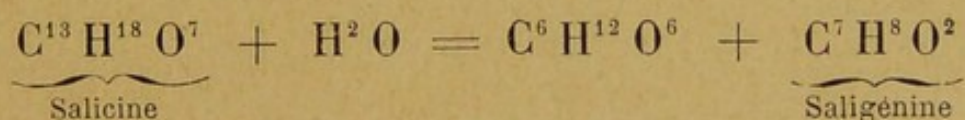
C'est une réaction semblable qui donne naissance à l'essence d'amandes amères et à l'acide cyanhydrique que contient l'eau distillée de feuilles de laurier-cerise. Ces composés ne préexistent pas dans les feuilles ; celles-ci renferment un principe analogue à l'amygdaline, l'amygdaline amorphe de

Winckler (7), appelée par Lehmann (8) *laurocérasine*, ainsi que de l'émulsine.

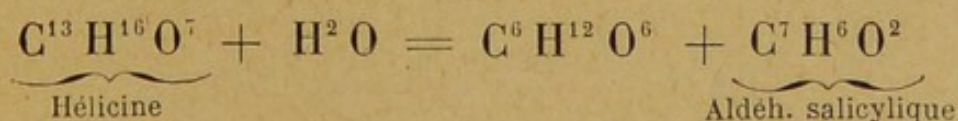
Dans la préparation de l'eau de laurier-cerise, les feuilles fraîches sont incisées, contusées et additionnées d'eau, après quoi on distille. Ce n'est qu'au moment où le glucoside et le ferment sont en solution dans l'eau que la décomposition de la laurocérasine a lieu.

En ce qui concerne les autres réactions déterminées par l'émulsine, il nous suffira de les citer.

Avec la *salicine* (glucoside saligénique) l'émulsine donne, en présence de l'eau, du glucose et de la saligénine.



Avec l'*hélicine* (glucoside de l'aldéhyde salicylique) on a du glucose et de l'aldéhyde salicylique.



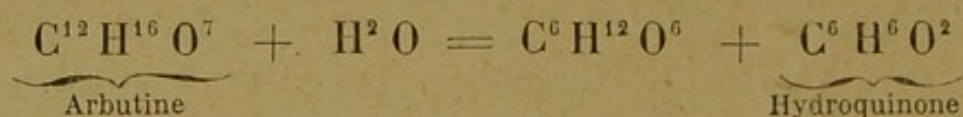
L'émulsine dédouble encore un certain nombre de dérivés des corps précédents. Tels sont les dérivés de substitution chlorés et bromés de la salicine.

Il se fait du glucose et un dérivé chloré ou bromé de la saligénine.

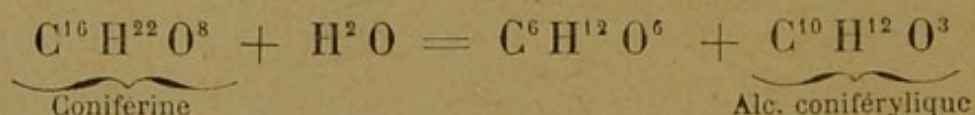
L'*esculine*, glucoside esculétique retiré de l'écorce du marronnier d'Inde, donne naissance à du glucose et à de l'esculétine.



L'*arbutine*, glucoside retiré de la busserole, donne du glucose et de l'hydroquinone.



La *coniférine*, glucoside de l'alcool coniférylique que l'on retire du cambium des *Larix*, fournit du glucose et de l'alcool coniférylique.



Enfin, d'après Fischer (8 bis), l'émulsine dédoublerait le *sucré de lait* ou *lactose* en glucose et en galactose.

L'émulsine de l'*Aspergillus niger* dédouble les glucosides que nous venons de citer ; elle dédou-

ble aussi, mais plus difficilement, la *populine* et la *phloridzine* (8^{ter}).

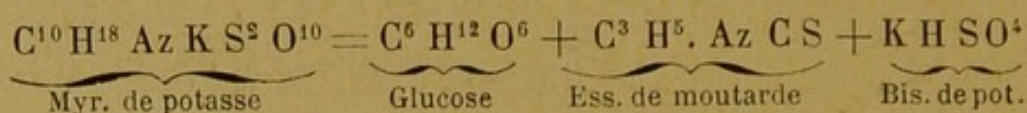
Dans toutes les réactions que produit l'émulsine il se forme un glucose. Ce glucose est-il toujours le glucose ordinaire ou dextrose ? Il semble qu'on puisse l'affirmer pour l'amygdaline (Hesse) (9), pour la coniférine (Tiemann et Haarmann) (10), et pour la salicine et l'hélicine (Piria) (11) ; mais pour les autres glucosides ce point n'a pas été élucidé jusqu'à présent.

Myrosine. — Ce ferment soluble est aussi important en pharmacie que l'émulsine.

La graine de moutarde noire contient simultanément de la myrosine et une sorte de glucoside salin, le *myronate de potasse* ou *sinigrine* (12). Lorsque le myronate de potasse vient à être soumis, en présence de l'eau, à l'action de la myrosine, le premier de ces principes se dédouble en donnant, entre autres composés, de l'essence de moutarde ou *isosulfocyanate d'allyle*.

Il est donc indispensable, lorsqu'on veut préparer de l'essence de moutarde naturelle, de délayer la poudre de moutarde noire dans l'eau froide, et de

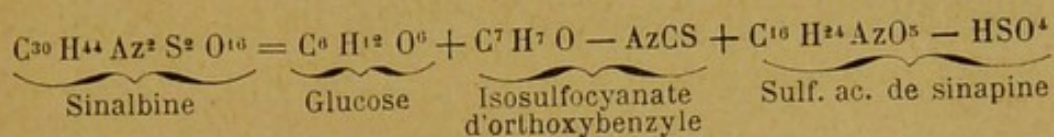
laisser macérer un certain temps avant de procéder à la distillation. Will et Kœrner (13) représentent le dédoublement du myronate de potasse par l'équation suivante :



Cette équation ne comporte pas l'intervention de l'eau ; mais peut-être ne doit-on pas la considérer comme définitive, car la constitution de l'acide myronique n'est qu'imparfaitement connue, et les produits de la fermentation n'ont pas encore été déterminés quantitativement.

Comme nous le savons déjà, la myrosine se rencontre aussi dans la graine de moutarde blanche. Celle-ci renferme en outre un glucoside, la *sinalbine*, qui a été obtenu, pur et cristallisé, par Will (12). La sinalbine est décomposée par la myrosine en présence de l'eau. La réaction est analogue à celle qui se produit avec le myronate de potasse. Il se forme du glucose, du sulfate acide de *sinapine* au lieu de sulfate acide de potasse, et en place de l'isosulfocyanate d'allyle, un liquide oléagineux, d'une odeur

pénétrante et possédant des propriétés vésicantes, lequel serait de l'*isosulfocyanate d'orthoxyzbenzyle*.

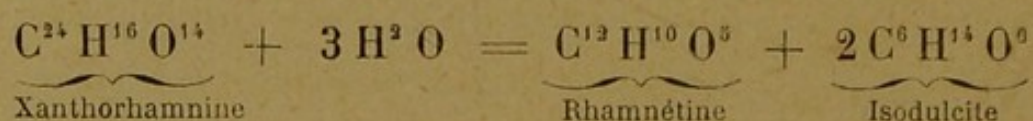


Le glucose qui prend naissance dans les deux réactions précédentes est du glucose ordinaire ou dextrose.

La myrosine possède incontestablement la propriété de dédoubler d'autres glucosides, car on la rencontre dans des plantes qui ne renferment ni sinigrine, ni sinalbine, et lorsqu'on triture ces plantes à l'état frais en présence de l'eau, il se développe, sous son influence, des essences différentes de l'essence de moutarde. Ainsi l'essence de *cochlearia officinalis* L. est de l'*isosulfocyanate d'isobutyle* (14); celle de cresson de fontaine (*Nasturtium officinale* L.) est en majeure partie composée du *nitrile de l'acide phénylpropionique* ($\text{C}^9 \text{H}^{10} \text{Az}$) (15); celle de cresson alénois (*Lepidium sativum* L.) renferme du *nitrile de l'acide alphaltoluique* (16); enfin, l'essence de racine de *Reseda odorata* est de l'*isosulfocyanate de phényléthyle* (16 bis). Mais les

composés qui, par dédoublement, donnent ces essences, n'ont pas été isolés ; on n'a donc pu étudier jusqu'ici, sur eux, l'action de la myrosine.

Rhamnase et érythrozyme. — La rhamnase agit sur la xanthorhamnine et son action peut sans doute être représentée par l'équation suivante :



Quant au mode d'action de l'érythrozyme, nos connaissances actuelles ne permettent pas de le mettre en formule. L'existence même de ce ferment aurait besoin d'être confirmée.

Pepsine, trypsine, papaïne. — Ces trois ferments solubles exerçant leur action sur les matières protéiques en général, il y a un certain intérêt à les rapprocher dans l'étude des réactions qu'ils déterminent.

La pepsine n'agit que dans un milieu acide. Le suc gastrique, qui lui doit ses propriétés digestives, est naturellement acide et son acidité correspond normalement à une proportion moyenne d'acide chlorhydrique de 1,5 à 2 pour 1000.

Etudions l'action d'une solution physiologique

de pepsine, c'est-à-dire d'une solution de pepsine à 2 pour 1000 d'acide chlorhydrique maintenue à 40°, sur de la fibrine.

La fibrine se gonfle d'abord, devient transparente, puis se dissout, à l'exception d'un très faible résidu, en formant un liquide opalescent. Comme dans la fermentation de l'empois par la diastase, la dissolution ne représente que la première phase de l'action fermentaire. Celle-ci se continue sans signes extérieurs apparents, et pour apprécier ses progrès, il est nécessaire de recourir à l'emploi de certains réactifs.

Au moment où la dissolution de la fibrine est terminée, si l'on neutralise exactement le liquide, la majeure partie du corps résultant de la réaction se précipite. C'est que la fibrine a été transformée en une *syntonine* ou *acidalbumine*, composé soluble dans l'eau légèrement acidulée, soluble aussi dans les alcalis étendus, mais insoluble dans l'eau pure et même dans l'eau additionnée de sel marin. La syntonine est ensuite attaquée par le ferment, et se change en un nouveau corps auquel on a donné le nom de *propeptone* (Schmidt-Mühleim). La pro-

peptone est soluble dans l'eau et se précipite de sa solution aqueuse, lorsqu'après l'avoir saturée de sel marin on l'additionne d'acide chlorhydrique. La solution de propeptone, de même que la solution acide de syntonine, précipite par l'acide azotique ; mais le précipité obtenu avec la première disparaît à chaud.

La propeptone est à son tour changée en *peptone*, et lorsque cette nouvelle réaction est terminée, le produit ne donne plus de précipité par l'acide azotique : la fibrine est digérée.

Les peptones sont des composés solubles dans l'eau et dans l'alcool faible. Ils sont assez dialysables et possèdent une composition centésimale très voisine de celle des matières albuminoïdes dont elles dérivent. Henninger a réussi à les transformer en albuminoïdes au moyen des agents de déshydratation, et a démontré, par là, que ces corps sont des albuminoïdes hydratés (17).

Ainsi, en résumé, la transformation de la fibrine en peptone n'est pas directe ; elle passe par plusieurs phases. La peptonisation consiste en une série de phénomènes d'hydratation successifs. Il y a bien là un processus fermentaire analogue à celui

que nous avons rencontré en étudiant le mode d'action de la diastase.

La pepsine ne digère pas seulement la fibrine, elle digère encore la myosine, la caséine, l'albumine, etc., et la digestion de ces matières donne lieu à des phénomènes semblables à ceux qui viennent d'être exposés. Cependant on remarque qu'avec ces albuminoïdes, la dissolution est moins complète qu'avec la fibrine. Le résidu non attaqué est plus important, il est surtout notable avec la caséine. C'est ce résidu qu'on a appelé *dyspeptone*.

Il paraît assez vraisemblable que les diverses variétés d'albuminoïdes fournissent des peptones différentes ; toutefois, cette question n'est pas résolue. Tout ce qu'on peut en dire, c'est que les propriétés de ces corps sont très voisines. La seule différence que l'on ait réellement constatée réside dans la grandeur de leur pouvoir rotatoire.

Pour étudier la fermentation pepsique, nous avons pris comme milieu physiologique un liquide acidulé avec l'acide chlorhydrique. Cet acide est en effet celui qu'on rencontre normalement dans le suc gastrique.

Quelquefois il s'y trouve mélangé à de l'acide lactique ou remplacé par celui-ci. Cela arrive surtout — en dehors des conditions morbides — lorsque les aliments ingérés sont des féculents ou des matières sucrées. Cet acide lactique n'est pas sécrété par les glandes gastriques, il provient d'une fermentation lactique qui se produit dans l'estomac. L'action digestive de la pepsine s'exerce encore dans ces conditions, quoique moins énergiquement.

On obtient également des digestions artificielles d'albuminoïdes en remplaçant l'acide chlorhydrique par différents autres acides minéraux ou organiques ; mais l'influence de ces acides est très inégale. D'après Ad. Mayer (18), dont les recherches ont été instituées avec des proportions chimiquement équivalentes d'acide = 2 gr. 3 de HCl pour 1000, on peut les classer dans l'ordre suivant, en commençant par celui qui favorise le plus l'action de la pepsine :

Acide chlorhydrique.

» azotique.

» oxalique.

Acide sulfurique.

» lactique et tartrique.

» formique, succinique et acétique.

Avec les acides butyrique et salicylique, la pepsine est restée inactive. Les essais de Ad. Mayer ont été faits sur de l'albumine cuite ; A. Petit en a fait d'autres, mais sur la fibrine et dans des conditions très variées (19). Les résultats observés par ce dernier chimiste ne concordent pas entièrement avec ceux qu'a publiés Mayer. C'est ainsi que pour A. Petit les acides acétique et succinique sont inactifs. Peut-être faut-il attribuer ce désaccord à ce que la matière albuminoïde était différente dans ces deux séries de recherches.

Les détails que nous venons de donner relativement à l'action de la pepsine nous permettront d'être plus bref pour les deux autres ferments.

La trypsine exerce son action sur les matières albuminoïdes dans un milieu neutre, alcalin ou légèrement acide.

Les produits qui se forment successivement dans la digestion de la trypsine sont les suivants :

1° Une *globuline* dont le caractère est d'être

soluble dans l'eau alcalinisée et dans une solution étendue de chlorure de sodium. Ses solutions sont coagulables par la chaleur ;

2° Une *propeptone* ;

3° Une *peptone* ;

4° De la *leucine*, de la *tyrosine* et de l'*hypoxanthine*, matières cristallisables auxquelles il faudrait ajouter, d'après Kühne, un produit sur lequel la trypsine n'a pas d'action et qu'il nomme *anti-peptone*.

Autant qu'on peut en juger d'après les travaux de Würtz et Bouchut, la papaïne agit comme la trypsine, puisqu'elle exerce son action en liquide neutre, alcalin ou légèrement acide. C'est donc une sorte de trypsine végétale.

D'après Otto (20), les propeptones et les peptones de la fermentation trypsique ont la même composition et possèdent les mêmes propriétés que les produits de même nom formés dans la fermentation pepsique. Si donc on fait abstraction de la quatrième phase de la première de ces deux fermentations, phase qui d'ailleurs n'a été qu'imparfaitement étudiée, les produits de chacune des

deux fermentations ne diffèrent réellement que dans la première phase, qu'on peut appeler *phase globuline* pour la trypsine et *phase syntonine* pour la pepsine. Mais, tout en caractérisant chacune des deux fermentations, la différence existant entre ces produits ne pourrait servir à distinguer, l'un de l'autre, les deux ferments ; car le traitement de la fibrine par l'acide chlorhydrique seul, fournit de la syntonine.

Cette ressemblance dans le mode d'action des deux ferments protéiques et surtout la propriété que possède la trypsine de conserver son activité dans un milieu acide — dont l'acidité, d'après Karl Mays(21), peut s'élever à 3 pour 1000 de HCl — rend assez délicate leur distinction, lorsqu'on suppose qu'ils se trouvent simultanément dans un liquide physiologique. Dans des recherches publiées il y a déjà quelques années, j'ai été amené à m'occuper spécialement de cette question et j'ai indiqué, comme pouvant servir à caractériser la pepsine dans une sécrétion, la propriété que ce ferment possède dans un milieu acide d'anéantir les propriétés fermentaires de quelques ferments solubles.

A une sécrétion acidulée par HCl, on ajoute une petite quantité de diastase ou de trypsine ; si, au bout de quelque temps, la diastase ou la trypsine sont détruites, on est fondé à affirmer la présence de pepsine dans cette sécrétion. Quant à la trypsine, la propriété dont elle seule jouit, de digérer les albuminoïdes en milieu neutre ou alcalin, la caractérise suffisamment (22).

Présure et plasmase. — Comme Arthus l'a établi (23), le mode d'action de chacun de ces deux ferments présente une grande analogie. D'une part, ils déterminent tous deux la coagulation d'une matière albuminoïde, d'autre part ils ne peuvent agir, ni l'un ni l'autre, qu'en présence d'un sel de chaux ; ils sont parmi les ferments des protéiques ce qu'est la pectase parmi les ferments des hydrates de carbone. Examinons d'abord le phénomène de la coagulation du lait par la présure.

Lorsqu'on ajoute de la présure à du lait maintenu à une température de 30 à 40°, on le voit se coaguler en un temps très court. On a appelé *caséum* le coagulum ainsi formé.

Bien que la coagulation paraisse se produire

brusquement, l'action de la présure n'en est pas moins continue : le processus fermentaire commence dès après l'addition du ferment. Etant donné un lait additionné de présure, et maintenu pendant un temps déterminé à 37° (température où l'action est rapide), si on le refroidit brusquement avant coagulation à une température où le ferment agit peu ou pas, pour le ramener ensuite à 37°, la totalité du temps pendant lequel ce lait a été exposé à 37° jusqu'à coagulation, représente précisément le temps qui eût été nécessaire si le même lait n'avait cessé d'être maintenu à cette température. Il n'est donc pas douteux que le travail effectué pendant les premières minutes n'est pas perdu (24). Par conséquent, on doit supposer que l'action de la présure consiste en modifications successives de la matière albuminoïde (*caséine*) qui donnent finalement le caséum.

Quelles sont ces modifications ? Nous n'en connaissons pas les détails ; mais nous pouvons dire que, dans l'ensemble, elles constituent un dédoublement de la caséine en deux substances albuminoïdes, dont l'une reste en solution et dont l'autre

se combine avec la chaux pour former un véritable composé albuminoïdo-métallique insoluble qui est le caséum.

Cette manière de voir s'appuie sur les propositions suivantes, établies expérimentalement :

1° Le lait décalcifié ne coagule pas en présence de la présure.

2° Le poids du caséum formé dans une coagulation de caséine est toujours moindre que le poids de cette dernière.

3° Le caséum renferme toujours de la chaux.

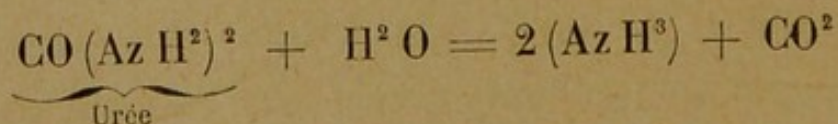
Ajoutons que, dans la caséification du lait, les sels de strontium, de baryum et de magnésium peuvent être substitués aux sels de calcium, en sorte qu'il existe au moins quatre caséums.

Un fait intéressant est que si l'on soumet du lait décalcifié à l'action de la présure, bien qu'il n'y ait pas coagulation, la caséine n'en est pas moins modifiée. En effet, elle se précipite, lorsqu'on chauffe le lait à la température de l'ébullition ou lorsqu'on l'additionne de faibles quantités de sels alcalins terreux. On a donné à cette caséine ainsi modifiée le nom de *caséogène*.

Nous retrouvons des faits analogues dans la coagulation du sang (25). Si l'on ajoute au sang, avant sa coagulation, de l'oxalate de potasse à raison de 8 à 10 décigrammes par litre de sang, on empêche complètement et indéfiniment la formation de la fibrine. Lorsque le sang ne se coagule pas brusquement, on peut arrêter une coagulation commencée en l'additionnant d'oxalate. C'est que l'oxalate précipite la chaux et que la présence de sels de chaux en solution est une condition nécessaire de la coagulation du sang, comme elle l'est de celle du lait. Tous les sels alcalins qui précipitent complètement la chaux : oxalate de soude ou d'ammoniaque, fluorures, silicates et savons, agissent comme l'oxalate de potasse. L'addition de sels de chaux au sang décalcifié rend de nouveau le sang spontanément coagulable. Les sels de chaux peuvent être remplacés par les sels de strontium, mais non pas par les sels de baryte ou de magnésie. En résumé, le phénomène de la coagulation du sang paraît s'accomplir en deux phases. Dans la première la plasmase dédouble la substance fibrinogène en deux substances albuminoïdes solubles. Dans la

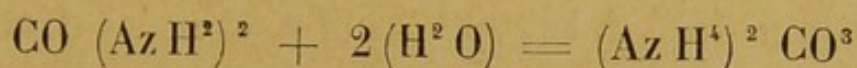
seconde, l'une de ces substances se combine avec la chaux pour former un véritable sel calcique qui est la fibrine. La fibrine en effet donne toujours des cendres calciques en proportion sensiblement constante.

Uréase. — Ce ferment détermine la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque. L'équation de cette transformation peut être déduite des recherches de Dumas sur la composition de l'urée (26). Ce chimiste a montré que l'urée traitée par l'acide sulfurique ne dégage que de l'acide carbonique, par la potasse que de l'ammoniaque, et que les volumes de ces gaz sont entre eux comme 1 est à 2. Ce rapport est celui qui existe entre l'acide carbonique et l'ammoniaque dans un carbonate qui aurait pour formule $(\text{AzH}^3)^2\text{CO}^2$. Or, si de cette formule on retranche celle de l'urée, il reste une molécule d'eau. On peut donc dire que c'est en fixant une molécule d'eau que l'urée se change en acide carbonique et en ammoniaque.



La combinaison $(\text{AzH}^3)^2\text{CO}^2$ s'obtient bien lors-

qu'on mélange 2 vol. d' AzH^3 et 1 vol. de CO^2 ; mais elle ne peut exister au contact de l'eau. Dans ces conditions, on peut admettre comme équation définitive:

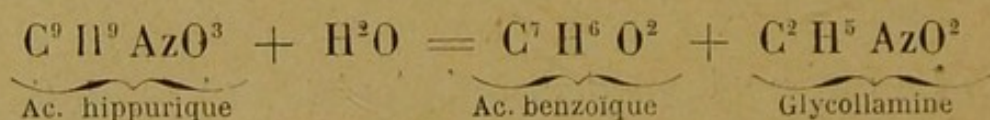


Ce carbonate neutre, qui n'existe qu'en solution aqueuse ou alcoolique, est lui-même très instable. Ses solutions dégagent de l'ammoniaque et il se forme du sesquicarbonate et même du bicarbonate d'ammoniaque.

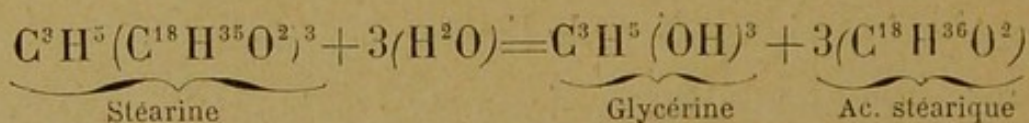
La transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque a une grande importance dans l'économie de la nature. L'urée, en effet, est la forme sous laquelle l'azote des tissus est éliminé de l'organisme animal. Cette urée ne devient assimilable pour les plantes qu'à la condition d'être convertie en sel ammoniacal. Il se trouve donc que les microorganismes qui produisent l'uréase sont les intermédiaires obligés entre les animaux et les végétaux supérieurs.

Les mêmes microorganismes, lorsqu'ils se développent dans l'urine des herbivores, possè-

dent encore la propriété de dédoubler l'acide hippurique de cette urine en acide benzoïque et glycollamine. Peut-être est-ce encore l'uréase qui détermine ce dédoublement ; en tout cas la réaction répond à l'équation suivante :



Ferments dédoublant les matières grasses. — L'action de ces ferments est une saponification et peut être formulée comme il suit :

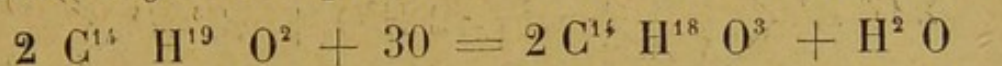


Cette action, du reste, n'a pas été l'objet de recherches analytiques quantitatives.

§ 2. — Ferments solubles oxydants.

Ces ferments n'agissent qu'en présence de l'air dont ils fixent l'oxygène sur divers corps oxydables. Ceux-ci sont probablement très nombreux, mais nous n'en connaissons encore que quelques-uns. Dans le latex de l'arbre à laque, c'est l'*acide uruschique*

ou *laccol* qui, d'après Hikorokuro (27), aurait pour formule $C^{14} H^{19} O^2$. Sous l'influence de la laccase et de l'oxygène de l'air, ce composé se transformerait, d'après le même chimiste japonais, en acide *oxyuruschique*, $C^{14} H^{18} O^3$. On aurait donc :



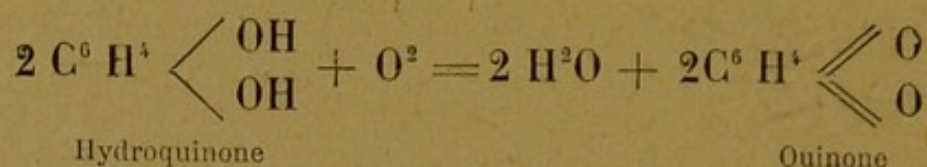
Nous avons vu que cet acide oxyuruschique ou oxylaccol est une matière noire insoluble dans la plupart des dissolvants et qu'il constitue le vernis laque des Chinois.

On a mieux étudié l'action de la laccase sur l'hydroquinone et le pyrogallol (28).

L'oxydation de ces deux corps se fait très simplement en agitant, dans un flacon, un mélange de leur solution et de solution de laccase. Le mélange ne doit occuper que la moitié du flacon.

Avec l'hydroquinone, la solution se colore en rose dès le début de l'agitation ; elle se fonce ensuite de plus en plus et, au bout d'un certain temps, on voit apparaître des lames cristallines d'un beau vert à éclat métallique, dont la quantité s'accroît rapidement. Après quelques heures, on peut constater que l'oxygène de l'air renfermé

dans le flacon a presque complètement disparu. En même temps le liquide a pris une forte odeur de quinone. La réaction peut être représentée par l'équation suivante :



Quant aux cristaux verts, ce sont des cristaux de *quinhydrone* résultant de la combinaison de la quinone formée avec l'hydroquinone non oxydée.

Avec le pyrogallol, on voit se précipiter aussi, au bout de quelques instants, une substance insoluble. Au microscope, cette substance se présente sous forme d'aiguilles jaune orangé. Elle est soluble dans l'alcool et l'acide acétique et, lorsqu'elle a été débarrassée par le lavage des dernières traces de pyrogallol, elle donne, avec l'ammoniaque, une belle liqueur bleue.

Cette substance est la purpurogalline d'Aimé Girard, $\text{C}^{20} \text{H}^{16} \text{O}^9$.

Il se forme en même temps de l'acide carbonique.

La laccase oxyde aussi l'acide gallique, le tan-

nin, etc. ; mais les réactions qu'elle produit dans ces oxydations n'ont pas encore été étudiées.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Guérin Varry, *Mém. concernant l'action de la diastase sur l'amidon de pomme de terre* (Ann. de ch. et de phys., LX, 1835, p. 31).

(2) J. Baranetzky, *Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen* (Leipzig, 1878).

(3) Brown et Heron, *Beiträge zur Geschichte der Stärke und der Verwandlungen derselben* (Liebig's Annalen, CXC, 1879, p. 165).

(4) Brücke, *Studien über die kohlenhydrate*, etc. (Wien. Akad. Sitzungsab., LXV, Abth. 3, 1872, p. 126).

(5) Em. Bourquelot, *Sur la séparation et le dosage du glycogène dans les tissus* (Jour. des connaissances médicales, mars 1884).

(6) Em. Bourquelot, *Inulase et fermentation alcoolique indirecte de l'inuline* (Journ. de phar. et de ch., [5], XXVIII, p. 9).

(6 bis) G. Düll, *Ueber die Einwirkung von Oxalsäure auf Inulin* (Chemiker Zeitung, XIX, 1895, p. 216).

(7) Winckler (Repert. pharm., [2], XVI, p. 327).

(8) Lehmann, *Ueber das Amygdalin in den Fruchtkernen der Kirschen...* etc. (Jahresb. d. Pharmacogn., 1874, p. 196).

(8 bis) Em. Fischer (Ber. d. d. chem. Gesell., XXVII, p. 2985).

(8 ter) Em. Bourquelot et Hérissé, *Note concernant l'action de l'émulsine de l'Aspergillus niger sur quelques glucosides* (Société de Biologie, séance du 20 juillet 1895).

(9) Hesse, *Ueber das Verhalten der Lösungen einiger Substan-*

zen in polarisirtem Licht. — Amygdalinzucker (Liebig's Annalen, CLXXVI, 1875, p. 114).

(10) Tiemann et Haarmann, *Ueber das Coniferin*, etc. (Ber. d. d. chem. Gesellsch., VII, 1874, p. 608).

(11) Piria, *Recherches sur la salicine* (Ann. de chim. et de phys., [3], XIV, 1845, p. 257).

(12) H. Will, *Ueber einen neuen Bestandtheil des weissen Senfsamens* (Wien. Akad. Sitzungsab., LXI, 1870, Abth. 2, p. 178).

(13) Will et Körner (Liebig's Annalen, CXIX, p. 376 et CXXV, p. 257).

(14) Hofmann, *Synthese des ätherischen Oels der Cochlearia officinalis* (Ber. d. d. chem. Gesellsch., VII, 1874, p. 508).

(15) Hofmann, *Ueber das ätherische Oel von Nasturtium officinale* (même recueil, VII, p. 520).

(16) Hofmann (même recueil, VII, p. 1293).

(16 bis) J. Bertram et K. Walbaum (J. f. prakt. Chemie, 1894, p. 555).

(17) Henninger, *Nature chimique des peptones* (Thèse, Paris, 1878).

(18) Ad. Mayer (ouvrage cité antérieurement, p. 50).

(19) A. Petit, *Recherches sur la pepsine* (Paris, 1881, p. 26).

(20) G. Otto, *Beiträge zur Kenntniss der Umwandlung von Eiweissstoffen durch Pancreasferment* (Zeitschr. f. phys. Chem., VIII, 1884, p. 129).

(21) Karl Mays, *Ueber die Wirkung von Trypsin in Säuren*, etc. (Untersuch. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelb., 1880, p. 378).

(22) Em. Bourquelot, *Sur les caractères pouvant servir à distinguer la pepsine de la trypsine* (Journ. de phar. et de chim., [5], X, 1884, p. 177).

(23) M. Arthus, *Parallèle de la coagulation du sang et de la caséification du lait* (Société de biologie, séance du 22 avril 1893).

(24) Ad. Mayer (Ouvrage déjà cité, p. 59).

(25) M. Arthus, *Recherches sur la coagulation du sang* (Thèse, Paris, 1891).

(26) Dumas, *Sur la composition de l'urée* (Ann. de chim. et de phys., [2], XLIV, 1830. p. 273).

(27) Hikorokuro Yoshida (mém. cité au chapitre précédent).

(28) G. Bertrand (mém. cité au chapitre précédent).

CHAPITRE V

INDIVIDUALITÉ DES FERMENTS SOLUBLES

La plupart des réactions que nous venons d'examiner dans le chapitre précédent peuvent être déterminées par certains agents chimiques. Ces agents sont ceux qui produisent ordinairement les hydratations. C'est ainsi qu'en traitant à chaud l'amidon par l'acide sulfurique étendu, on le transforme en dextrine, maltose et glucose. Avec le sucre de canne, on donne naissance à du sucre interverti. Avec l'amygdaline, il se fait de l'essence d'amandes amères, de l'acide cyanhydrique et du glucose. On obtient les peptones elles-mêmes, ou des corps très analogues, par l'action des acides étendus chauds sur les albuminoïdes. On peut à cet égard formuler la règle suivante : *lorsqu'un acide détermine une de ces réactions, il est capable en général de produire toutes les autres.*

Ces faits nous amènent à nous occuper d'une

question importante à résoudre. Chacun des ferments solubles dont nous avons étudié le mode d'action est-il capable de produire les réactions que nous avons rapportées à d'autres ferments ?

Cette question a été résolue autrefois dans les sens les plus divers, et, actuellement encore, il ne manque pas de bons esprits qui se refusent à admettre qu'une même sécrétion puisse renfermer plusieurs ferments solubles et qui prétendraient volontiers que toutes les réactions que détermine cette sécrétion, si diverses qu'elles soient, sont le fait d'un seul et unique ferment. Ils s'appuient principalement sur ce que l'émulsine, par exemple, possède la propriété de dédoubler un assez grand nombre de glucosides.

La vérité est que la preuve de l'individualité des ferments solubles n'est pas toujours facile à faire, ce qui tient à ce que, comme nous l'avons déjà dit et répété, la séparation de ces composés à l'état de pureté n'a pas été obtenue jusqu'ici. Ce n'est donc qu'indirectement que la question a pu être abordée, et nous allons montrer par quelques exemples que.

toutes les fois qu'on l'a fait, c'est dans le sens de cette individualité qu'elle a été résolue.

On a prétendu que l'invertine, outre sa propriété d'intervertir le sucre de canne, possède encore, comme la diastase, celle de saccharifier l'empois d'amidon. Reportons-nous à la fabrication de la levure de bière qui sert, comme nous l'avons dit, à préparer l'invertine.

On saccharifie à une température convenable de la farine de seigle ou de maïs avec du *malt*, et, après refroidissement suffisant du liquide, on y sème de la levure. Celle-ci se multiplie rapidement et monte à la surface. On l'essore et on la livre au commerce.

Il est évident que la levure ainsi obtenue retient de la diastase, puisqu'elle s'est développée dans un milieu qui en renfermait. Il est également évident que l'invertine préparée avec cette levure retiendra aussi de la diastase et saccharifiera l'empois. Si donc on n'y prend garde, on attribuera à cette invertine une propriété saccharifiante, alors que cette propriété est celle de la diastase qui l'accompagne (1).

La salive doit, comme on sait, ses propriétés saccharifiantes à la diastase. En étudiant l'action de la salive sur le sucre de canne, quelques physiologistes lui ont trouvé la propriété inversive. Ils en ont conclu que la diastase animale peut agir à la manière de l'invertine.

Il y a encore là une circonstance qui a échappé à ces observateurs. Si on prend de la salive fraîche, si on la filtre rapidement au travers d'un filtre en terre poreuse et si on l'additionne ensuite d'une solution de sucre de canne stérilisée, on constate presque toujours, en prenant soin de rester à l'abri des germes de l'air, qu'on peut conserver indéfiniment le mélange sans qu'il se produise d'interversion. Cette même salive ajoutée à de l'empois le saccharifie : elle renferme donc de la diastase et celle-ci n'agit pas sur le sucre de canne.

Mais qu'on prenne de la salive sans précaution, qu'on l'abandonne à l'air après l'avoir additionnée de sucre de canne, celui-ci sera presque toujours interverti. C'est que cette salive se peuple de champignons inférieurs, producteurs d'invertine,

et c'est l'invertine qu'ils sécrètent qui est la cause déterminante de l'inversion et non la diastase de la salive.

On conçoit d'ailleurs que, chez certains individus, la bouche soit le siège d'un développement de microphytes sécréteurs d'invertine, dans lequel cas leur salive est directement inversive (2).

Voici encore d'autres exemples. Il existe des bactéries dont la sécrétion coagule le lait et peptonise la caséine. Doit-on admettre que cette sécrétion renferme un seul ferment possédant cette double propriété, ou bien de la présure qui coagule le lait et de la trypsine qui peptonise le coagulum ? C'est la seconde de ces suppositions qui est conforme à la réalité, comme vient de le démontrer, pour quatre bactéries de la crème, H. W. Conn qui a réussi à séparer les deux ferments (3).

D'après Duclaux (4), lorsqu'on cultive le *Penicillium glaucum* sur une solution de lactate de chaux, le liquide de culture acquiert seulement la propriété d'intervertir le sucre de canne. Sur l'amidon ce liquide intervertit le sucre de canne et saccharifie l'amidon, mais il n'acquiert aucune

propriété protéolytique. Enfin, lorsque la moisissure se développe sur le lait, on voit celui-ci se coaguler d'abord, puis le coagulum se redissoudre. L'opinion la mieux appropriée aux faits est évidemment que le *Penicillium* sécrète de l'invertine dans le premier cas, de l'invertine et de la diastase dans le second et, dans le troisième, de la présure et de la trypsine. On ne comprendrait pas qu'un même ferment possède tantôt une seule propriété, tantôt deux et tantôt davantage.

Diastase, invertine, présure et trypsine ont donc leur individualité propre et l'une ne peut produire les réactions que l'autre détermine.

Il en est de même des autres ferments solubles ; car on démontrerait aisément que toutes les fois qu'on a cru avoir observé le contraire, c'est qu'on avait eu affaire originairement à un mélange de ferments, ou que, pendant l'expérience, il s'en est formé de nouveaux, sécrétés par des champignons inférieurs dont les anciens observateurs ne connaissaient pas la manière de vivre.

Il ressort de là que chacun de ces ferments exerce une ou plusieurs actions tout à fait spéci-

fiques. On peut dire que « *pour effectuer le dédoublement d'un hydrate de carbone, d'un glucoside, ou d'un albuminoïde déterminés, il faut un ferment déterminé* ».

Ces faits établissent une distinction fondamentale entre les fermentations provoquées par les ferments solubles et les réactions chimiques ordinaires, alors même que celles-ci paraissent analogues aux premières.

Ce n'est pas tout. Nous avons vu qu'on rencontre des ferments diastasiques chez la plupart des êtres vivants et dans des organes très variés. Pour parler seulement de ceux qui sont les mieux connus, on en trouve dans la salive et le suc pancréatique des animaux supérieurs, dans la sécrétion du foie chez les invertébrés, dans les graines en germination, etc. On croyait autrefois que chacun de ces ferments constituait une espèce distincte ; et on avait créé pour les désigner des expressions particulières : diastase salivaire, diastase pancréatique, diastase du malt, etc.

Ce que nous avons dit précédemment à propos de certaines propriétés attribuées à tort à la dias-

tase laisse déjà supposer qu'il faut voir dans ces différentes diastases un seul et même corps. Mais j'ai poussé plus loin l'étude de ce sujet.

Lorsque la diastase agit sur l'amidon, il se produit un travail fermentaire particulier consistant, comme nous le savons, dans la transformation de l'amidon en maltose et dextrine. Ce travail est-il le même lorsqu'on emploie l'un ou l'autre des ferments diastasiques dont nous venons de parler ? C'est la question que nous allons examiner (a).

Prenons un gramme d'amidon et supposons que cet amidon transformé totalement en glucose réduise un poids de liqueur cupro-potassique égal à 100. Ce gramme d'amidon transformé d'abord en empois, puis traité par la diastase pendant un temps donné, ne réduira qu'un poids inférieur de liqueur. C'est le chiffre exprimant ce poids que j'appellerai ici le *pouvoir réducteur* présenté par la substance fermentescible au moment de l'essai.

(a) Pour que la comparaison entre les diastases d'origines différentes puisse se faire, il faut que ces diastases soient pures ou du moins qu'elles ne renferment pas de maltase. C'est ce qui a lieu, en général, pour les diastases obtenues par précipitation au moyen de l'alcool, et pour la salive.

Cette notion établie, voici ce qu'on remarque dans l'action diastasique sur l'empois, lorsqu'à la température ordinaire on fait varier la durée de l'action ou les proportions de ferment :

1° Le pouvoir réducteur atteint rapidement un chiffre qui n'est dépassé ensuite qu'avec une extrême lenteur ; en sorte qu'on peut considérer ce chiffre comme un maximum représentant le travail fermentaire achevé. Ce chiffre est de 50 à 51.

2° Les proportions de ferment, si on ne les fait pas varier extrêmement, n'ont pas d'influence sur la valeur finale de ce pouvoir réducteur.

Il s'ensuit qu'il est inutile d'avoir des poids égaux de divers ferments pour pouvoir comparer quantitativement leur activité fermentaire. S'il en était autrement, la comparaison serait impossible, car, nous le savons, les ferments n'ont jamais été isolés à l'état de pureté.

Or, en examinant l'action de la diastase de certains invertébrés, celle de la diastase du malt et celle de la salive sur l'amidon, j'ai constaté que les pouvoirs réducteurs acquis par cet hydrate de carbone sont exprimés par les mêmes chiffres. Ces

ferments diastasiques, quoique d'origines diverses, sont donc identiques.

Travaux de Emil Fischer (5). — Le maltose et le tréhalose sont des sucres isomères (saccharoses) qui, tous deux, donnent par hydratation deux molécules de glucose (dextrose). Ils sont donc très voisins l'un de l'autre. Cependant, comme nous l'avons vu, si la maltase hydrolyse le maltose, elle est sans action sur le tréhalose ; de même, si la tréhalase hydrolyse ce dernier sucre, elle n'agit pas sur le maltose.

Il y a donc lieu de penser que la constitution des corps hydrolysables joue un rôle dans ces phénomènes ; en d'autres termes, qu'un ferment soluble déterminé hydrolyse un corps parce que ce corps a une constitution moléculaire déterminée ; que si l'émulsine, par exemple — et par exception jusqu'ici — peut hydrolyser plusieurs glucosides, c'est que ces glucosides ont une même constitution.

Emil Fischer est allé plus loin. Il a émis cette hypothèse que les ferments solubles, en tant que principes chimiques, et les corps qu'ils hydrolysent ont une configuration analogue (6).

L'invertine et l'émulsine, dit-il en particulier, sont des substances analogues aux matières albuminoïdes; elles possèdent sans doute, comme celles-ci et comme les glucosides, une molécule asymétrique. On s'explique que leur action soit restreinte aux glucosides qu'elles dédoublent, en supposant que c'est seulement lorsque ferment et matière fermentescible ont une constitution géométrique semblable que peut avoir lieu ce rapprochement des molécules qui est nécessaire à la production du processus chimique. Enzyme et glucoside doivent s'ajuster l'un à l'autre, comme une clef à une serrure, pour exercer, l'un sur l'autre, une action chimique.

Emil Fischer s'est surtout appuyé, pour défendre cette hypothèse, sur l'action des deux ferments solubles que nous venons de citer sur divers glucosides d'alcools préparés artificiellement (7).

Ainsi, en chauffant en vase clos à 100° une solution de glucose ordinaire dans l'alcool méthylique additionnée d'acide chlorhydrique, on obtient deux glucosides stéréoisomères de l'alcool méthy-

lique. Ces deux glucosides ont été désignés sous les noms d' α et de β *méthyl-glucosides* : α se rapportant à celui qui a été connu le premier à l'état cristallisé et β à celui qui a été connu le dernier.

Or la solution d'invertine hydrolyse le dérivé α et n'agit pas sur le dérivé β , tandis que l'émulsine hydrolyse le dérivé β sans agir sur l'autre. Comme, d'ailleurs, dans la préparation des glucosides d'alcools avec d'autres alcools, il y aurait toujours formation de deux stéréoisomères et qu'il semble que l'un d'eux est dédoublé par l'invertine seulement, tandis que l'autre l'est uniquement par l'émulsine, on voit qu'on peut considérer tout au moins ceux qui sont dédoublés par un même ferment, l'invertine par exemple, comme ayant une configuration semblable.

Malheureusement, il s'est trouvé que la solution d'invertine dont s'est servi Fischer n'était pas une solution d'un seul ferment, préparée qu'elle était, par digestion dans l'eau pendant 15 à 20 heures à 35°, d'une levure préalablement desséchée à l'air libre ; cette solution renfermait de l'invertine, de la mal-

tase et peut-être encore d'autres ferments, comme le savant chimiste paraît le penser lui-même. On ne voit donc plus dans les faits curieux observés par lui, que de nouveaux arguments en faveur de l'individualité des ferments solubles.

L'hypothèse ingénieuse qu'il soutient répond peut-être à la réalité des faits. Mais, pour peu qu'on y réfléchisse, on reconnaît qu'on ne pourra guère l'étudier que lorsqu'on aura trouvé le moyen de préparer un ferment soluble chimiquement pur, ce qu'on n'a pu faire jusqu'ici.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Em. Bourquelot, *Sur les propriétés de l'invertine* (Journ. de pharm. et de ch., [5], VII, 1883, p. 131).

(2) Em. Bourquelot, *Sur l'identité de la diastase chez les êtres vivants* (Comptes rend. des séances de la Soc. de Biol., [8], II, 1885, p. 73).

(3) H. W. Conn, *Isolirung eines « Lab » Fermentes aus Bakterienkulturen* (Centralbl. f. Bakt. und. Paras., XII, 1892, p. 223).

(4) Duclaux (*Chimie biologique*, 1883, p. 194).

(5) Emil Fischer, *Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme*. I (Ber. d. d. chem. gesellschaft, XXVII, 1894, p. 2985).

— II (même recueil, XXVII, 1894, p. 3479).

— III (même recueil, XXVIII, 1895, p. 1429).

(6) Em. Bourquelot, *Travaux de M. Em. Fischer sur les ferments solubles* (J. de ph. et de ch., [6], II, 1895, p. 327).

(7) Emil Fischer, *Ueber die Verbindungen der Zucker mit der Alkoholen und Ketonen* (Ber. d. d. chem. Gesellschaft, XXVIII, 1895, p. 1145).

CHAPITRE VI

INFLUENCE DES AGENTS PHYSIQUES SUR LES FERMENTS SOLUBLES ET SUR LES FERMENTATIONS QU'ILS DÉTERMINENT.

Tous les ferments solubles perdent leur propriété caractéristique lorsqu'on porte leur solution aqueuse à une température élevée, mais en général notablement inférieure à la température d'ébullition de l'eau. Quelques-uns, en particulier les ferments oxydants connus jusqu'ici, ne la perdent cependant que lorsqu'on maintient un certain temps leur solution à la température de 100°. On a essayé, pour un certain nombre d'entre eux, de déterminer exactement cette température qui a été appelée *température de destruction du ferment*. Je l'ai fait pour trois de ces composés : l'émulsine, la tréhalase et la maltase. Voici, en prenant l'émulsine comme exemple, le procédé que j'ai suivi (1).

On a préparé une solution aqueuse d'émulsine

à 0 gr. 50 p. 0/0 et on a réparti 120 cent. c. de cette solution dans 12 tubes à essai portant des numéros de 1 à 12 (10 cent. c. par tube). Ces tubes ont été placés, en compagnie d'un tube témoin contenant 10 cent. c. d'eau distillée et un thermomètre, dans un vase de Bohême plein d'eau, lequel plongeait lui-même dans l'eau d'un bain-marie.

Le bain-marie était chauffé de telle sorte que la température de l'eau s'élevait environ de 2 degrés par minute. Les tubes ont été retirés successivement à partir du moment où le thermomètre marquait 50°, et cela dans l'ordre suivant : le tube n° 1 à 50°, le n° 2 à 53°, le n° 3 à 56°, le n° 4 à 59°, le n° 5 à 61°, le n° 6 à 63°, le n° 7 à 65°, et ainsi de suite jusqu'au n° 12, qui a été retiré à 75°.

Après refroidissement, on a ajouté dans chaque tube 10 cent. c. d'une solution de salicine à 1 gr. 50 p. 100 cent. c. et on a attendu 24 heures. La température ambiante a varié entre 12 et 15 degrés.

En essayant alors chacun de ces tubes avec la liqueur cupro-potassique, j'ai constaté qu'il y avait eu dédoublement de la salicine dans tous les tubes qui avaient été portés aux températures comprises

entre 50° et 67° inclus. Dans le tube n° 9 (69°), il n'y avait pas trace de glucose.

En dosant ensuite la proportion de glucose formé dans chacun de ces tubes, on a constaté que cette proportion était la même dans les tubes 1, 2, 3 et 4 ; elle était moindre et de plus en plus faible dans les tubes suivants.

Il résulte de là que, dans les conditions de ces expériences, la température de destruction de l'é-mulsine est située entre 67 et 69° et, en outre, que ce ferment commence à s'affaiblir à partir de 60°.

Des recherches analogues ont été faites avec un liquide renfermant, entre autres ferments solubles, de la tréhalase et de la maltase, et cela dans le but d'établir une distinction entre ces deux derniers ferments (2). Le liquide en question n'était autre que de l'eau distillée introduite sous une culture mûre d'*Aspergillus niger* après enlèvement de la liqueur nutritive, et maintenue sous cette culture pendant 48 heures. Dans ces conditions, comme je l'ai indiqué précédemment, les ferments sécrétés par la moisissure entrent en solution dans l'eau sous-jacente.

Comme pour l'émulsine, des portions égales de liquide fermentaire ont été portées à des températures comprises entre 50 et 76°, l'échauffement étant seulement de 1° par minute. Après refroidissement, on les a additionnées de tréhalose pour une série et de maltose pour une autre série; après quoi on les a abandonnées pendant 36 heures à la température du laboratoire et finalement analysées.

De ces analyses il ressort que, dans les conditions de l'expérience, la tréhalase est entièrement détruite à 64°, tandis que la maltase ne l'est que vers 75°. D'ailleurs l'action nuisible de la chaleur se fait déjà sentir à 54° pour la tréhalase et seulement vers 66° pour la maltase.

Ad. Mayer a cherché à déterminer, en suivant à peu près le même procédé que celui que je viens d'indiquer, la température de destruction de l'invertine, de la pepsine et de la présure. D'autres physiologistes se sont occupés du même sujet, soit à propos de ces derniers ferments, soit à propos des autres ferments connus; mais ils n'ont donné que très peu de détails sur le mode opératoire auquel ils ont eu recours.

Quoi qu'il en soit, voici, à titre de documents, les chiffres qui ont été publiés sur ce sujet :

Ferments	Noms des observateurs.	Température de destruction
Invertine... ..	Ad. Mayer (3)	51°
id.	id. (4)	65°
id.	Kjeldahl (5)	70°
Tréhalase.....	Em. Bourquelot	64°
Maltase	id.	75°
Diastase	Brown et Heron (6)	76°
Emulsine.....	Em. Bourquelot	67° à 69°
Pepsine (en s ^{ol} . phy ^{siol} .)	Ad. Mayer (7)	55° à 60°
Trypsine.....	Læw (8)	69° à 70°
Présure.....	Ad. Mayer (9)	66°

A l'examen de ce tableau, on est immédiatement frappé par la différence assez notable qui existe entre les deux déterminations effectuées, par un même expérimentateur, sur l'invertine. En réalité, ces températures ne sont pas constantes et ne peuvent l'être. Nous avons déjà insisté sur ce fait que les ferments solubles, tels qu'on les obtient, sont toujours mélangés à des matières étrangères. Nous verrons que beaucoup de substances possèdent la propriété d'amoindrir l'activité des ferments solubles, et nombre d'observations semblent démontrer

que toute substance jouissant de cette propriété vis-à-vis d'un ferment déterminé, doit abaisser la température de destruction de ce ferment.

D'ailleurs, comme l'a établi Ad. Mayer pour l'invertine, la variation de la concentration suffit, à elle seule, pour faire varier cette température dans certaines limites. Ces réserves faites, il est cependant intéressant de constater que les températures de destruction des ferments solubles sont assez rapprochées des températures auxquelles se coagulent les matières albuminoïdes.

Lorsque le ferment n'est pas en dissolution et qu'il a été convenablement desséché, sa température de destruction est alors beaucoup plus élevée. D'après Salkowski, on pourrait chauffer l'invertine sèche jusqu'à 160° sans qu'elle perde ses propriétés. La trypsine sèche, d'après Al. Schmidt, peut être également portée à 160° et n'est détruite qu'à 170° . La pepsine supporte sans dommage une température de 110° et la diastase une température de 120 à 125° .

Comme on le voit, on n'a pas déterminé d'une façon précise les températures de destruction des ferments solubles pris à l'état sec, mais ces faits

démontrent amplement que ces températures dépassent considérablement celles que nous avons données pour les solutions aqueuses.

Les températures basses ne paraissent pas avoir d'influence nuisible sur les ferments solubles, même lorsqu'ils sont en solution aqueuse. On a refroidi des solutions de diastase bien au-dessous du point de congélation; la diastase avait conservé ses propriétés.

Les ferments solubles exercent déjà leur action à 0° et, de cette température jusqu'à celle de leur destruction, leur activité éprouve des variations très importantes à connaître, tant au point de vue pratique qu'au point de vue théorique. Cette activité croît d'abord avec la température, atteint un maximum, puis décroît, jusqu'à s'éteindre lorsqu'on arrive à la température de destruction. Mais si l'on envisage les produits de la réaction, on est obligé, dans l'étude de cette question, d'examiner en particulier chacun des deux groupes de ferments que nous avons établis dans un chapitre précédent; c'est-à-dire, d'une part les ferments comme l'invertine, dont l'action porte sur des portions successives du

corps fermentescible, et, d'autre part, ceux qui, comme la diastase, font éprouver à la totalité de ces corps des modifications successives.

Voyons d'abord ce qui se passe dans l'inversion du sucre de canne par l'invertine. Nous avons sur ce sujet les expériences de Kjeldahl qui suffisent pour donner une idée du phénomène.

Le chimiste danois (5) a fait agir, pendant une heure, des quantités égales d'une solution d'invertine (10 cent. c.) sur des volumes égaux d'une même solution de sucre de canne à 10 0/0 (50 cent. c.) à différentes températures comprises entre 0° et 70°. Il y a eu interversion à toutes ces températures, sauf à 70°. Les proportions de sucre interverti dans chacun des essais sont relatées dans le tableau suivant :

Température	Sucre interverti 0/0	Température	Sucre interverti 0/0
0°.....	4	50°.....	45
18°.....	13	52° 1/2....	45 1/2
30°.....	23	55°.....	45
40°.....	34	60°.....	34
45°.....	41	65°.....	5
48°.....	44	70°.....	0

Si l'on construisait la courbe de ces résultats, on

verrait que la température à laquelle le phénomène est le plus actif — et nous appellerons désormais cette température, *température optimale* — est située entre 52 et 53°. On verrait en outre que cette courbe monte d'abord assez lentement, puis descend rapidement à partir du maximum. C'est là, pour le dire en passant, une propriété de toutes les courbes représentant l'influence de la température sur les actions physiologiques. Bien que se rapportant à un phénomène unique et déterminé, cette courbe exprime, dans son allure, les changements qui peuvent survenir, par suite des variations de la température, dans l'ensemble des manifestations vitales chez les êtres vivants. On le voit nettement pour les végétaux : leur maximum d'activité correspond à une température donnée; et tandis que la vie est encore possible un grand nombre de degrés en dessous, elle cesse quelques degrés au-dessus de cette température. Pour les animaux, le parallélisme paraît moins frappant; il existe cependant, et il est surtout manifeste chez les animaux à température variable. Dans tous les cas, une chute rapide vers le haut et, par en bas, une extinction lente.

Le phénomène est tout différent avec les acides qui déterminent les mêmes réactions que les ferments. Voici par exemple une série d'observations faites par Ad. Mayer (10) sur l'inversion du sucre de canne par l'acide chlorhydrique. Dans chaque essai, ce chimiste traitait 30 cent. cubes de solution de sucre de canne à 10 0/0 par 2 cent. cubes de HCl à 5 0/0 à une température donnée et pendant un temps déterminé. Les résultats sont réunis dans le tableau suivant :

Température	Durée de l'action	Sucre interverti p. 0/0	
		Total	Par heure
30°....	30 minutes...	6. 1.....	12
40°....	30 » ...	18. 5.....	37
50°....	30 » ...	48.....	96
60°....	30 » ...	85.....	170
70°....	30 » ...	100.....	>200
80°....	30 » ...	100.....	>200
90°....	20 » ...	100.....	>300
100°....	12 » ...	100.....	>500

Il est clair que l'activité de l'acide a ici un caractère tout autre que celui du ferment. Elle croît rapidement aux températures élevées, et l'on sait d'ailleurs que cet accroissement s'accroît encore davantage, au-dessus du point d'ébullition de l'eau.

Dans ce cas, la réaction déterminée en tube scellé s'effectue avec une extrême rapidité.

Les expériences de Kjeldahl que nous avons rapportées plus haut, ont été faites avec de l'invertine de levûre basse. Avec de l'invertine de levûre haute, le même chimiste a trouvé comme température optimale 56°. D'autres observateurs, Ad. Mayer et Barth en particulier, ont trouvé encore d'autres températures. On serait tenté d'en conclure qu'il existe plusieurs invertines. Il n'en est rien. La vérité est que les causes qui font varier la température de destruction d'un ferment soluble font varier, et dans le même sens, la température optimale de son action. Si le ferment se trouve en présence d'un agent nuisible, celui-ci, même à faibles doses, abaisse sa température de destruction et abaisse également la température optimale de son action. Si donc des chiffres différents ont été trouvés pour la température optimale d'un ferment, il faut ici encore, comme pour les températures de destruction, en rapporter la cause à ce que les produits étudiés renfermaient des proportions variables de matières étrangères. La concor-

dance ne pourra exister que le jour où l'on obtiendra des ferments solubles à l'état de pureté. Et le chiffre donné actuellement par un auteur n'a de valeur absolue que pour la préparation dont il s'est servi.

L'examen des résultats publiés par Kjeldahl nous apprend encore — ce qui d'ailleurs a été constaté directement — qu'un ferment soluble commence à perdre de son activité bien au-dessous de sa température absolue de destruction. Pour tous les ferments du groupe de l'invertine, cet affaiblissement paraît tenir à une destruction partielle du ferment. Admettons en effet — ce que nous démontrerons plus loin — qu'un ferment soluble agit proportionnellement à sa masse; comme, avec ces ferments, la réaction ne change pas qualitativement, il faut bien admettre que la masse du ferment a diminué.

Dès lors l'explication des variations d'activité dues aux changements de température est facile. On doit supposer que toute élévation de température favorise le processus fermentaire, comme il en est pour les acides. Mais à partir de 52°, dans

les observations de Kjeldahl, la température joint à cette action une action de plus en plus destructive du ferment dont l'effet est inverse de la première, en sorte que l'élévation de température devient bientôt plus nuisible qu'utile.

Avec la diastase et les ferments solubles qui appartiennent au même groupe, l'influence de la température est plus difficile à interpréter. Cela tient d'une part à ce que, comme nous l'avons dit, la fermentation se fait par phases successives et, d'autre part, à ce qu'on n'a pas encore pu doser tous les produits de la réaction.

On a surtout étudié à ce point de vue les variations de la fermentation diastasique (saccharification de l'empois d'amidon). Nous en parlerons donc avec quelque détail.

Le maltose étant, de beaucoup, le produit le plus important de cette fermentation, on s'est en général contenté de doser ce sucre, pour apprécier les progrès de la réaction, et on a eu recours pour cela à la liqueur cupro-potassique. On l'a même dosé le plus souvent comme glucose, et lorsqu'on a voulu exprimer le travail effectué par la diastase

dans un empois déterminé, on a donné la proportion en centièmes de sucre (calculé comme glucose) contenu dans la matière sèche que renfermait la solution. C'est cette grandeur qu'on a appelée, pour abrégé, *pouvoir réducteur* (a). Soit, par exemple, un liquide renfermant 3 0/0 de matière sèche et 1 0/0 de sucre (dosé comme glucose) ; le pouvoir réducteur sera de 33. Comme on sait d'ailleurs que 2 gr. de glucose réduisent autant que 3 gr. de maltose, il est facile de calculer ce que les chiffres trouvés comme glucose représentent de maltose.

Bien que différents chimistes (b) aient étudié l'influence de la température sur la saccharification de l'empois d'amidon par la diastase, nous ne rapporterons ici que les expériences de Kjeldahl (11), celles-ci ayant été effectuées dans le même esprit que les expériences du même auteur sur l'invertine dont nous avons parlé plus haut.

Kjeldahl a fait agir à différentes températures,

(a) Ce pouvoir réducteur diffère à peine de celui dont j'ai donné plus haut la définition.

(b) Voir *Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose*, par M. Em. Bourquelot, Journ. de l'anatomie et de la physiologie, 1886, p. 62.

pendant quinze minutes, 8 c. c. d'extrait de malt sur 200 c.c. environ d'empois provenant de 10 gr. d'amidon. Les résultats de ces recherches sont les suivants :

Température	Pouvoir réducteur
18°5	17,5
35°	30,5
54°	41,5
63°	42
64°	40
66°5	34
68°	29
70°	18

On voit que la température optimale de la diastase est 63°. De la température ordinaire à 63° l'action du ferment augmente lentement ; plus haut elle décroît rapidement. La courbe qui représenterait l'ensemble de ces résultats aurait donc une apparence analogue à celle de l'invertine. Mais c'est là toute la ressemblance ; car, avec la diastase, le processus fermentaire que l'on détermine au-dessus de 63° diffère de celui que l'on produit au-dessous de cette température. C'est ce que nous allons voir en suivant les progrès de la sac-

charification diastasique à l'aide de l'eau iodée.

Il convient d'abord de rappeler l'emploi de ce réactif. Lorsqu'on ajoute de l'eau iodée à de l'empois liquide (1 à 4 gr. de fécule de pommes de terre pour 100 c. c. d'eau) au moment où on vient de le mélanger avec une solution aqueuse de diastase, on obtient un liquide bleu, dans lequel on voit flotter de petits grains bleu foncé qui ne sont autre chose que les grains d'amidon gonflés et non encore liquéfiés. Au bout d'un temps variable, qui est d'autant moins long que le liquide renferme plus de diastase, si on répète la même opération, on constate que les grains n'existent plus : ils ont été liquéfiés, mais le liquide est toujours bleu. Un peu plus tard, le liquide traité de la même façon prend une teinte bleu violacé ; on a ensuite du violet, du rouge, du jaune, après quoi l'eau iodée ne détermine plus de coloration, alors pourtant que la réaction diastasique est loin d'être terminée.

L'eau iodée peut donc renseigner sur les progrès d'une saccharification d'empois, mais seulement dans les premières phases de la réaction.

Il est d'ailleurs préférable, au lieu d'observer la

saccharification aux températures élevées, de diviser le phénomène, c'est-à-dire de chauffer préalablement la solution de ferment à ces températures et de la laisser ensuite refroidir pour opérer à la température ordinaire. Cornélius O'Sullivan a observé en effet (12), et je l'ai constaté moi-même, qu'un extrait de malt, une fois chauffé à 68°, par exemple, puis refroidi et ajouté à de l'empois à une température inférieure à 63°, détermine exactement les mêmes réactions que si la saccharification avait été effectuée à 68°.

Voici l'une des séries d'expériences que j'ai relatées dans un travail sur ce sujet (13).

L'empois avait été préparé avec 5 gr. de fécule pour 300 cent. c. d'eau. On en a traité 20 cent. c. d'une part, par 5 c. c. d'une solution de diastase à 0,5 0/0 et, d'autre part, par 5 cent. c. de cette même solution de diastase préalablement maintenue à 67° pendant 12 heures (température de la fermentation : 22 à 23°).

Nous donnons dans le tableau qui suit la succession des réactions obtenues avec l'eau iodée pendant la première heure.

Temps écoulé.	Diastase non chauffée (5 c. c.).	Diastase chauffée (5 c. c.).
4'	Grains intacts.....	Grains intacts.....
7'	id.	id.
9'	id.	Grains disparus.....
15'	Grains disparus — violacé	Col. violacée.....
24'	Col. lie de vin.....	» id.
39'	» id. plus faible.	» id.
49'	Col. brun pâle.....	» id.
64'	» jaune très faible....	» lie de vin.....

A partir de la soixante-quatrième minute, le processus s'est continué pour la diastase non chauffée, tandis qu'il n'a pas tardé à s'arrêter pour la diastase chauffée. Dans le premier cas, la réaction étant terminée (au bout de 48 heures), le pouvoir réducteur du produit répondait à celui de 53 centièmes du glucose qu'on aurait pu obtenir par saccharification totale de l'amidon au moyen de l'acide sulfurique étendu. Dans le second cas le pouvoir réducteur répondait seulement à 30,1 centièmes, et l'addition d'une nouvelle proportion de diastase chauffée n'a pas accru ce pouvoir réducteur.

Il ressort de là que l'affaiblissement de la diastase déterminé par les températures supérieures à 63° a pour effet de limiter la réaction à ses pre-

mières phases : celles-ci se succédant toutefois aussi rapidement avec la diastase affaiblie qu'avec la diastase naturelle.

Dans une saccharification effectuée à une température inférieure à 63° , on obtient toujours finalement du maltose et l'achroodextrine qui est à peu près inattaquable par la diastase. Au-dessus de 63° , on obtient aussi du maltose et une dextrine, mais celle-ci est encore attaquable par la diastase naturelle, et elle a un poids moléculaire d'autant plus élevé et plus rapproché de celui de l'amidon que la température de chauffe est elle-même plus rapprochée de la température de destruction du ferment.

Quant à l'action de la température sur le ferment lui-même, on ne peut guère faire que des hypothèses à cet égard. Ainsi, on pourrait admettre une atténuation du pouvoir hydratant de la diastase, ou bien on pourrait considérer celle-ci comme composée de plusieurs ferments se détruisant successivement à partir de 63° à mesure que l'on chauffe davantage.

Les détails que nous venons de donner sur la

diastase nous permettront d'être bref pour les autres ferments solubles appartenant au même groupe.

Au reste l'étude de l'activité de ces ferments, au point de vue qui nous occupe, est assez délicate, parce qu'avec eux il n'y a pas de terme d'action facile à saisir. Lorsqu'on fait agir la pepsine sur de la fibrine ou sur de l'albumine cuite, il n'y a qu'une phase dont le terme puisse être observé à peu près rigoureusement ; c'est celle qui comporte la dissolution de la matière protéique. Et nous savons que cette dissolution ne représente pour ainsi dire que le commencement de la peptonisation.

Quoi qu'il en soit, l'influence de la température sur l'activité de la pepsine a été étudiée par A. Petit. Ce chimiste a constaté que la température optimale, pour de la pepsine agissant dans un milieu acidulé à 3 p. 1.000 de HCl, est 50°, soit avec la fibrine, soit avec l'albumine (14).

D'autres observateurs ont trouvé des températures optimales différentes. Ce sont là des désaccords qui doivent nous étonner moins encore que ceux que nous avons rencontrés pour d'autres ferments solubles. Ici, en effet, intervient une nou-

velle cause de variation qui tient à la proportion d'acide renfermée dans la liqueur digérante. Ainsi Ad. Mayer (15), en faisant agir de la pepsine sur de l'albumine dans de l'eau acidulée à 1, 5 0/0 d'acide chlorhydrique fumant, a trouvé comme température optimale 36° ; tandis que dans une autre série d'expériences — l'eau étant acidulée à 0, 5 0/0 — cette température a monté à 55°.

La pepsine en solution aqueuse, comme la diastase, éprouve un certain affaiblissement si on la chauffe à une température voisine de celle de sa destruction. D'après Finkler (16), elle serait transformée en un nouveau corps qu'il appelle *isopepsine*. Cette modification de la pepsine dissoudrait l'albumine cuite aussi rapidement que la pepsine ordinaire ; mais avec l'isopepsine, le processus ne pourrait dépasser la phase syntonine. L'influence de ces températures élevées paraît donc se rapprocher de celle que nous avons décrite à propos de la diastase.

La peptonisation par la trypsine est également difficile à suivre. On y parvient cependant en mélangeant à une même quantité de lait des doses

égales de ce ferment, en mettant ces mélanges dans des tubes à essais, et en les exposant au bain-marie, à des températures différentes : la décoloration du lait marquant le terme de l'action. Duclaux (17) a trouvé ainsi que la trypsine d'un micro-organisme, qu'il a décrit sous le nom de *Tyrotrix tenuis*, a son maximum d'action vers 30°.

Fleischmann a examiné de très près l'influence de la température sur la coagulation du lait par la présure et il a observé comme température optimale 41° (17). Ad. Mayer a trouvé 39° environ (18). Quelques degrés au-dessus de ces températures, à partir de 47° par exemple, jusqu'à la température de destruction, il n'y a plus qu'une coagulation imparfaite : le coagulum est visqueux. Au-dessous la coagulation est d'autant plus lente à se produire que la température est plus basse. Aux températures inférieures à 20°, Fleischmann n'a même plus réussi à la déterminer.

Cette inactivité de la présure au-dessous de 20° méritait d'être étudiée très attentivement ; elle se présente à nous comme une exception, puisque nous savons que les autres ferments solubles peu-

vent exercer leur action même à 0°. Aussi s'est-on demandé si, en donnant à l'action le temps de se produire, elle ne finirait pas par se manifester. La question a été résolue avec une grande précision par Duclaux (19). Ce chimiste, en opérant à l'abri des infiniment petits, a pu conserver pendant un mois à 15° du lait additionné de présure sans obtenir de coagulation. La présure n'agit donc pas au-dessous de 15°, et par là s'explique cette pratique séculaire que suivent les fabricants de fromage en déterminant la coagulation du lait à des températures voisines de 30°.

Lumière. La lumière ne paraît pas avoir d'influence marquée sur les processus fermentaires. Elle en a au contraire sur certains ferments en solution. D'après Mayer (20) et aussi d'après Duclaux (19, p. 55), une solution aqueuse de présure s'affaiblit notablement lorsqu'on la laisse exposée aux rayons solaires. D'après Fernbach (21), la lumière n'a aucune action sur l'invertine dans le vide, mais diminue rapidement sa puissance en présence de l'oxygène de l'air, surtout si le liquide dans lequel elle est en solution a été préalablement légèrement

acidulé. Cet affaiblissement ou cette destruction progressive de l'invertine devrait donc être rapportée, dans ces conditions, à une oxydation.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Em. Bourquelot, *Les fermentations* (Thèse d'agrégation, Paris, 1889, p. 39).
- (2) Em. Bourquelot, *Transformation du tréhalose en glucose dans les champignons par un ferment soluble : la tréhalase* (Bull. de la Soc. myc. de France, IX, 1893, p. 193).
- (3) Ad. Mayer, *Die Lehre von den chemischen Fermenten* (1882, p. 22).
- (4) Ad. Mayer, *Die Lehre von den chemischen Fermenten* (1882, p. 24).
- (5) J. Kjeldahl, *Nogle Jagttagelser over Invertin* (Medd. fra. Carlsberg Laborat., I, 1881, p. 331).
- (6) Brown et Heron, *Beiträge zur Geschichte der Stärke und der Verwandlungen derselben* (Liebig's Annalen, CIG, 1879, p. 165).
- (7) Ad. Mayer (ouvrage cité, p. 27).
- (8) O. Loew, *Ueber die chemische Natur der ungeformten Fermente* (Pflüger's Archiv, XXVII, 1882, p. 203).
- (9) Ad. Mayer (ouvrage cité, p. 28).
- (10) Id. (id., p. 66).
- (11) J. Kjeldahl, *Recherches sur les ferments producteurs de sucre* (Medd. fra. Carlsberg Laborat., I, 1879, p. 121 ; résumé français).

(12) O'Sullivan, *Action de l'extrait de malt sur l'amidon* (Moniteur scientifique, [3], VI, p. 1218, 1876).

(13) Em. Bourquelot, *Sur les caractères de l'affaiblissement éprouvé par la diastase sous l'action de la chaleur* (Annales de l'Inst. Pasteur, 1887, p. 336).

(14) A. Petit, *Recherches sur la pepsine* (Paris, 1881, p. 7 et 11).

(15) Ad. Mayer (ouvrage cité, p. 73).

(16) Finkler (Pflüger's Archiv, XIV, 1877, p. 128).

(17) Duclaux, *Chimie biologique* (Paris, 1883, p. 163).

(18) Ad. Mayer (ouvrage cité, p. 77).

(19) Duclaux, *Mémoire sur le lait* (Ann. de l'Inst. agronomique, 1874-1880, p. 42).

(20) Ad. Mayer (ouvrage cité, p. 42).

(21) Aug. Fernbach, *Recherches sur la sucrase, diastase inverse du sucre de canne* (Thèse pour le Doctorat ès sciences physiques, Paris, 1890, p. 23).

CHAPITRE VII

INFLUENCE DES AGENTS CHIMIQUES SUR LES FERMENTS SOLUBLES ET SUR LES FERMENTATIONS QU'ILS DÉTERMINENT.

Dans le chapitre précédent, nous avons vu les fermentations déterminées par les ferments solubles être successivement activées, ralenties et finalement arrêtées à mesure que la température s'élève. On sait d'autre part que l'élévation de température exerce une influence analogue sur les fermentations déterminées par les ferments organisés. Sauf pour quelques détails, l'influence de la chaleur est donc la même pour les deux classes de fermentations.

Cela se comprend d'ailleurs aisément, même indépendamment de l'action de la température envisagée en elle-même. Les ferments organisés sécrètent des ferments solubles et ceux-ci sont les agents indispensables à l'aide desquels ils décom-

posent et digèrent les matières alimentaires dont ils vivent. Si la température détruit ces agents, elle enlève par cela même aux premiers les moyens de se nourrir.

En réalité, toute influence qui affaiblit ou détruit un ferment soluble doit affaiblir ou arrêter le développement de l'être qui le produit. A cet égard, les composés chimiques qui arrêtent les fermentations déterminées par les ferments solubles doivent donc être nuisibles aux ferments organisés.

Mais la réciproque n'est pas vraie ; c'est-à-dire que toute cause qui entrave le développement d'un micro-organisme ne nuit pas nécessairement aux ferments solubles.

Un micro-organisme ne fait pas que se nourrir ; il respire, et l'on conçoit qu'il puisse exister des composés qui ralentissent ou suppriment le phénomène respiratoire sans exercer d'influence fâcheuse sur les agents de la digestion. Il existe en effet tout un groupe de composés — dont plusieurs sont classés parmi les poisons de la respiration — qui arrêtent tout développement des ferments organisés et qui, pourtant, employés à faible dose, n'empêchent

pas les ferments solubles d'exercer leur action.

Ces composés paraissent être également indifférents pour tous les ferments solubles et nous pouvons les signaler immédiatement afin de ne plus avoir à nous en occuper. Ce sont : l'acide cyanhydrique, certaines huiles essentielles, l'éther, la créosote (1), le chloroforme (2), le thymol (3), la benzine, l'essence de térébenthine, le phénol (3 et 4), le fluorure de sodium à 1 p. 100 (5).

Comme l'avait pressenti Bouchardat (1) et comme Muntz l'a établi pour le chloroforme, ces différents corps constituent de véritables réactifs permettant de distinguer l'une de l'autre les deux sortes de fermentations.

A côté des composés indifférents, nous en trouverons fort peu qui soient tout à fait nuisibles, mais nous en rencontrerons beaucoup dont l'influence varie avec la concentration. Le plus souvent ils accélèrent l'action des ferments solubles lorsqu'ils sont en faible proportion, et l'affaiblissent ou la paralysent entièrement lorsque la proportion augmente.

Mais ces substances n'agissent pas de la même

façon sur tous les ferments solubles. Telle qui, à doses infinitésimales, active les effets d'un ferment, retarde les effets d'un autre ferment. Il n'est donc pas possible de généraliser et nous devons examiner leur influence successivement dans chaque fermentation.

Invertine. D'après Kjeldahl, dont les recherches datent déjà d'une quinzaine d'années, si l'on ajoute de faibles quantités d'acides à une solution de sucre de canne additionnée d'invertine, la fermentation se trouve activée. Si l'on en ajoute davantage, on atteint bientôt une proportion pour laquelle l'action de l'invertine est ralentie. Pour une proportion plus forte encore, l'action est de nouveau augmentée. Mais ce dernier effet doit être rapporté à l'acide qui intervertit par lui-même le sucre de canne, tandis que les deux premiers sont le résultat de l'influence d'abord activante, puis affaiblissante qu'ils exercent sur l'invertine (6).

La question a été reprise récemment et examinée avec plus de détails, par O'Sullivan et Thompson d'une part (7) et par Fernbach d'autre part (8).

Les premiers se sont bornés à l'étude de l'influence de l'acide sulfurique. De leurs recherches, il ressort que les proportions d'acide les plus favorables à l'action de l'invertine varient avec la quantité de ferment et avec la température de l'expérience.

Plus la quantité d'invertine est grande, plus il faut employer d'acide pour obtenir le maximum d'effet. Ainsi, dans une solution à 0,4 p. 0/0 d'invertine, la proportion d'acide sulfurique la plus favorable est de 12,5 pour un million de solution ; si la solution est à 1,5 p. 0/0, la proportion d'acide doit être augmentée de 15 par million, la température étant de 56°. Si l'expérience est faite à la température de 15°5 et si la solution est à 1,5 p. 0/0 de ferment, la proportion d'acide sulfurique la plus favorable est de 75 par million ; tandis que si l'invertine est à 15 p. 0/0, la proportion doit être élevée à 250 pour un million.

Si l'on dépasse ces proportions d'acide sulfurique même d'une très faible quantité, l'action du ferment se trouve notablement amoindrie. Ainsi, d'après les mêmes observateurs, à 60° C. un excès de

2 parties d'acide seulement pour un million suffit pour rendre la réaction onze fois moins rapide.

Les recherches de Fernbach se rapportent aux acides oxalique, tartrique, succinique, lactique et acétique. Elles ont été faites, à la température de 56° (température optimale), avec l'invertine de l'*Aspergillus niger*. Cet observateur ne s'est pas occupé de l'influence des proportions de ferment sur le phénomène. Voici les proportions de ces acides qui donnent l'effet maximum dans les conditions de ses expériences :

Acide	oxalique	0,066	pour 1.000
»	tartrique	1	id.
»	succinique	2	id.
»	lactique	5	id.
»	acétique	10	id.

Ces proportions diffèrent sensiblement, comme on le voit, de celles qui ont été trouvées pour l'acide sulfurique.

L'action des bases alcalines et celle des sels à réaction alcaline ont surtout été étudiées par Duclaux (9). Les bases alcalines affaiblissent fortement l'action de l'invertine. Avec un millièrne de soude,

l'action de l'invertine devient 25 fois plus faible. Les sels à réaction alcaline, l'arséniate de soude, le borate de soude (10), le salicylate de soude, ralentissent aussi cette action.

Parmi les sels neutres, quelques-uns activent les effets de l'invertine, même lorsqu'ils sont présents à dose relativement élevée. Tel serait le chlorhydrate d'ammoniaque, que Nasse (11) a vu quintupler l'action de l'invertine, alors que ce sel était cependant à la dose de 10 0/0. Mais l'influence des sels neutres est en général moins nette. Ainsi les sulfates de soude, de potasse, de magnésie, qui à la dose de 4 p. 1000 sont des paralysants de l'invertine, activent l'inversion lorsqu'ils sont à la dose de 40 p. 1000. Les chlorures de sodium et de potassium, au contraire, accélèrent l'action lorsqu'ils sont à faibles doses (4 p. 1000) et la retardent à une dose plus élevée. Le chlorure de calcium est un paralysant aux plus faibles doses, et son influence nuisible va en augmentant avec sa proportion (9 p. 180).

Quant au bichlorure de mercure, au nitrate d'argent, qui sont, comme l'on sait, des antiseptiques

puissants, ils ralentissent l'action de l'invertine à des doses très faibles (0,5 p. 1000). Toutefois, employés dans ces proportions, ils ne l'arrêtent pas complètement. Enfin le sulfate de quinine et l'alcool sont aussi des corps nuisibles à l'action du ferment inversif. Avec 5 p. 0/0 d'alcool, l'hydrolyse est moitié moins rapide.

Tréhalase et Maltase. — L'influence de l'acide sulfurique sur l'action de la tréhalase est comparable à ce que nous venons de voir pour l'invertine. De très faibles quantités d'acide (2 à 4 milligrammes de SO^4H 0/0) favorisent cette action. Mais avec des proportions plus fortes, il y a diminution de l'activité fermentaire. Une addition de 0 gr. 2 p. 100 paralyse presque complètement le ferment (12). Il en est de même pour la maltase.

Diastase. — La diastase est un ferment très employé dans l'industrie et qui présente une grande importance au point de vue physiologique. Aussi a-t-on étudié avec beaucoup de soin l'influence que peuvent avoir sur son action les substances chimiques. Mais, parmi ces substances, il n'en est point qui, tout d'abord, ait autant attiré l'attention

que les acides. Cela tient principalement à ce que l'influence des acides sur la fermentation diastasique est liée à une question physiologique d'un grand intérêt : celle de savoir si la diastase salivaire continue à agir dans l'estomac, c'est-à-dire dans un milieu acide.

Les recherches ont porté tantôt sur la diastase de l'orge germé, tantôt sur la salive. Nous nous bornerons à résumer ici les travaux les plus récents.

Kjeldahl s'est servi, pour étudier l'influence des acides sur la réaction diastasique, d'une liqueur d'essai préparée de la façon suivante :

250 gr. d'amidon sont transformés en empois et traités par 200 cent. cubes d'extrait de malt vers 75° ; par conséquent à une température très voisine de la limite d'activité de la diastase. La liquéfaction se fait rapidement. Après une digestion de 20 minutes, le liquide est porté à l'ébullition dans le but de déterminer la destruction de la diastase ajoutée. Il est ensuite refroidi et étendu d'eau jusqu'à 4 ou 5 litres environ. On obtient ainsi une liqueur dans laquelle l'amidon a subi un commen-

cement de saccharification et dont le pouvoir réducteur est voisin de 10. On comprend qu'elle puisse servir à étudier l'action de la diastase dans différentes conditions. Il suffira en effet de tenir compte de la matière sucrée formée durant sa préparation ; l'accroissement de la quantité de sucre donnera la mesure de l'action fermentaire pendant la durée de l'expérience. Lorsque cette liqueur a été filtrée, elle est claire et par conséquent d'un emploi plus commode que l'empois.

A 8 portions de 100 cent. cubes de la liqueur d'essai, Kjeldahl ajoutait différentes quantités d'acide sulfurique normal au 1/40 (1 c. c. = 1 mill. de SO^3) et les traitait ensuite pendant 20 minutes, entre 57 et 59° par 0,75 cent. cube d'extrait de malt. Les accroissements du sucre dans ces 8 portions sont indiquées dans le tableau suivant :

Cent. cub. d'acide sulfurique normal au 1/40	Accroissement du sucre.
0	0,44
1	0,47
2	0,49
2,5	0,48
3	0,43

Cent. cub. d'acide sulfurique
normal au 1/40

Accroissement du sucre.

3,5	0,27
4	0,13
6	0,02
10	0,01

On voit par là qu'une petite quantité d'acide sulfurique, comme Leyser l'avait d'ailleurs déjà constaté (13), active l'action de la diastase, mais que celle-ci décroît ensuite avec une très grande rapidité à mesure que la proportion d'acide augmente.

D'autres acides inorganiques, les acides chlorhydrique, azotique, phosphorique, se conduisent comme l'acide sulfurique, avec cette différence toutefois que leur action est un peu plus faible. Les acides organiques tels que les acides formique, acétique, lactique, butyrique et citrique ont une influence encore plus faible, mais cependant de même ordre.

En définitive, on peut déterminer de grandes variations dans l'action de la diastase en ajoutant de très petites proportions d'acide. Les proportions d'acide qui amènent ces variations sont même si faibles qu'elles sont à peine appréciables par les

réactifs ordinaires. Aussi, pour répéter ces expériences, doit-on prendre des précautions toutes particulières. L'amidon présente presque toujours une faible réaction acide, quelque bien lavé qu'il soit ; l'extrait de malt, dont on peut se servir comme solution de diastase, est lui-même acide. Si donc on ne neutralise pas exactement ces deux produits, il se pourra que les acides auxquels ils doivent leur réaction soient déjà en proportion suffisante pour que toute addition ultérieure d'un autre acide nuise à la fermentation ; et l'on sera porté à conclure à la nocuité absolue de l'acide examiné.

L'ignorance ou l'oubli de ces faits a été la cause d'observations contradictoires sur ce sujet. Mais c'est surtout dans l'étude de l'influence des acides sur l'action de la salive que la question a été résolue dans des sens divers. C'est que, aux difficultés d'expérimentation que nous venons de signaler, s'ajoute encore, pour la salive, la nécessité de tenir compte de l'alcalinité naturelle de ce liquide physiologique.

Ch. Richet, ayant additionné de l'empois d'amidon d'une proportion d'acide chlorhydrique égale

à 2 de HCl p. 1000 c. c., a fait agir sur cet empois une *certaine* quantité de salive fraîche. Il a vu que la transformation de l'amidon était non seulement aussi rapide, mais même plus rapide dans ces conditions que lorsque le liquide est neutre ou légèrement alcalin. Comme la proportion de 2 p. 1000 d'HCl correspond à l'acidité moyenne du suc gastrique, Richet en conclut que la salive doit agir, au milieu du suc gastrique acide, plus énergiquement que dans la bouche (14).

En réalité, cette observation, très exacte pour les conditions dans lesquelles elle a été faite, ne comporte pas une conclusion aussi absolue. Cela ressort des deux séries de recherches suivantes, pour lesquelles j'ai fait varier successivement les proportions d'acide et celles de salive (15).

Ces essais ont été faits en mélangeant tout d'abord l'acide chlorhydrique dilué et la salive filtrée, ajoutant ensuite l'empois.

Dans la première série, on a employé 1 cent. cube de salive et 5 cent. cubes d'un empois liquide (5 gr. de fécule de pommes de terre pour 300 cent. cubes). La seule différence entre chaque essai por-

taut sur la proportion d'acide chlorhydrique. Dans tous les cas, le volume était porté à 20 cent. cubes. L'examen était fait à la teinture d'iode et au microscope au bout de 24 heures et au bout de 48 heures.

Expé- riences.	HCl par litre.	Résultats	
		après 24 h.	après 48 h.
1	0	Saccharif. complète	id.
2	2 gr.	Pas d'action.	Pas d'action.
3	1	id.	id.
4	0,5	id.	id.
5	0,25	id.	id.
6	0,20	id.	id.
7	0,10	id.	id.
8	0,05	Act. presque nulle.	Act. presq. nulle.

Dans l'essai n° 8, l'iode donne une coloration bleue, mais l'examen microscopique du mélange révèle que les grains d'amidon, qui n'étaient que gonflés dans l'empois, se sont liquéfiés. Il y a donc eu un commencement d'action.

Ce résultat concorde sensiblement avec ceux qu'a publiés Kjeldahl, puisque la salive n'a commencé à agir que dans le liquide ne renfermant que 0 gr. 05 de HCl par litre.

Dans la deuxième série d'expériences, j'ai fait varier la quantité de salive, tout en conservant le

même volume de liquide, ainsi que les mêmes proportions d'empois et d'acide chlorhydrique. Ces nouvelles expériences ont été faites comparative-ment à celles qui portent les numéros 7 et 8 dans la série précédente.

Expé- riences.	HCl par litre.	Salive ajoutée.	RÉSULTATS.	
			Après 24 h.	Après 48 h.
(7) <i>a</i> .	0,10	1 c. c.	Pas d'action.	Pas d'action.
(7) <i>b</i> .	0,10	2 c. c.	id.	id.
(7) <i>c</i> .	0,10	3 c. c.	Action faible.	Action faible.
(8) <i>a</i> .	0,05	1 c. c.	Act. presque nulle	Act. presq. nulle
(8) <i>b</i> .	0,05	2 c. c.	Sacch. complète.	Sacch. complète
(8) <i>c</i> .	0,05	3 c. c.	id.	id.

Dans l'essai (7) *c*, l'iode donne une coloration bleue, mais les grains d'amidon sont liquéfiés, comme d'ailleurs dans les essais 8 et (8) *a*. Dans les essais (8) *b* et (8) *c*, la saccharification est complète au bout de 24 heures ; la présence de l'acide chlorhydrique n'a donc pas empêché ici l'action de la diastase.

Ces résultats en apparence contradictoires s'expliquent facilement. La salive étant légèrement alcaline, plus on ajoute de salive, plus on neutralise d'acide chlorhydrique et, pour une certaine quan-

tité de salive, l'acide chlorhydrique peut être neutralisé complètement. Dans ces conditions l'acide n'a plus d'influence sur le processus fermentaire.

Dans des recherches récentes, Chittenden et E. Smith (16) ont repris l'étude de cette question. Ils ont déterminé d'abord l'alcalinité de la salive, qu'ils ont trouvée, pour une moyenne de 15 échantillons, égale à 0,097 p. 0/0 (exprimée en $\text{NaO} \cdot \text{CO}^2$). Ils ont constaté en même temps que la salive neutralisée, non seulement conserve ses propriétés, mais est même plus active que lorsqu'elle n'a pas été neutralisée. Ils ont en outre attiré l'attention sur le rôle que peut jouer, dans ces expériences délicates, la présence des matières protéiques de la salive.

Danilewski (17) avait montré que les acides s'unissent avec certaines matières protéiques pour former des composés acides au tournesol, mais ne donnant pas avec la tropéoline la réaction violette qui caractérise les acides libres. Chittenden et Smith ont cherché quelle était, dans la salive, la proportion de ces matières protéiques. Ils ont trouvé, comme moyenne de huit déterminations,

que 20 cent. c. de salive neutralisée au tournesol et filtrée, contenaient des matières protéiques capables de se combiner à 7 cent. c. 74 d'acide chlorhydrique à 0,4 p. 0/0. Ces chimistes ont comparé ensuite l'action diastasique : 1° de la salive normale ; 2° de la salive neutralisée au tournesol ; 3° de la salive dont les matières protéiques étaient saturées d'acide ; 4° enfin de la salive renfermant de petites proportions d'acide chlorhydrique libre. Ils ont constaté que la deuxième est toujours plus énergique que la première, que la troisième est plus énergique que la seconde si la salive est diluée, et que la quatrième peut encore être plus énergique que la troisième si la salive est plus diluée, mais seulement pour des traces d'acide libre.

Quand la proportion d'acide libre atteint 0 gr. 03 p. 1000, l'action fermentaire de la diastase salivaire est arrêtée presque complètement.

Dans leur ensemble ces résultats concordent avec ceux que Kjeldahl a obtenus avec la diastase de l'orge germé, ainsi qu'avec ceux que j'ai moi-même publiés pour la salive. Ils sont plus complexes que ne paraissait le faire prévoir l'expérience

de Richet et ils ont une grande portée relativement à la question de savoir si la salive agit ou non dans l'estomac. Il est manifeste que si les liquides de l'estomac acquièrent une acidité correspondant à 0,03 p. 1000 d'acide chlorhydrique libre, la diastase ne pourra pas agir; elle sera même détruite, comme je l'ai fait remarquer dans un chapitre précédent. Cependant, durant les premières phases de la digestion, alors qu'il n'y a pas encore d'acide libre, la saccharification commencée dans la bouche pourra se continuer dans l'estomac.

Il faut évidemment rapprocher de l'influence des acides, celle des sels acides, qui sont tous plus ou moins nuisibles à l'action de la diastase. C'est ainsi que dans les recherches de Kjeldahl, si l'on représente par 100 l'accroissement normal du sucre en l'absence de sels, cet accroissement devient après l'addition de

0 gr. 10 d'azotate de plomb p. 0/0	20
» de sulfate de zinc	20
» de sulfate de protoxyde de fer	20
» d'alun	2

Les bases alcalines arrêtent l'action de la dias-

tase (1). Duggan (18) a constaté que 0 gr. 02 pour 1000 d'hydrate de soude réduisent l'action de la diastase à 26 p. 0/0 de celle qu'elle exerce en milieu neutre. Les carbonates alcalins sont aussi des paralysants de la diastase ; l'influence nuisible du carbonate de soude peut être constatée à la dose de 0,50 p. 1000. Il en est de même des sels à réaction alcaline. Les bicarbonates de soude et de potasse sont cependant inactifs (1).

Quant aux sels neutres, leur action est assez variable, comme on peut le voir par les quelques résultats suivants trouvés par Kjeldahl dans les conditions expérimentales que nous avons exposées précédemment. L'accroissement du sucre, comparé à l'accroissement normal, devient après l'addition de :

0 gr. 50 d'arséniate de soude 0/0	20 0/0
0 gr. 50 de NaCl 0/0	90 0/0
Liquide saturé de sulfate de chaux	88 0/0

Duclaux (9, p. 183) a trouvé de son côté que le chlorure de calcium à 1/100 diminue de moitié l'activité de la diastase et que le bichlorure de mercure à 1/1000 la rend très faible.

Kjeldahl a aussi étudié l'influence de quelques produits organiques. L'alcool à 93°, à la dose de 10 cent. cubes 0/0, réduirait de moitié l'accroissement du sucre. L'acide salicylique à 0 gr. 10 0/0 paralyserait complètement l'action de la diastase. Enfin les alcaloïdes végétaux et en particulier la strychnine n'auraient pas d'influence marquée.

La presque totalité des sels et composés organiques dont il vient d'être question nuisent à l'action de la diastase. Il en est autrement, d'après les recherches d'Effront (19), du phosphate d'ammoniac, du phosphate de chaux, de l'alun ammoniacal, de l'alun potassique, de l'acétate d'alumine, de l'asparagine et de quelques matières albuminoïdes qui, à faible dose, favorisent l'action du ferment.

L'action de ces différentes substances sur la fermentation diastasique a été déterminée de deux manières différentes.

1° La diastase a été mise en contact direct avec différentes doses de réactif, avant d'être ajoutée à l'empois d'amidon.

2° La diastase, non traitée préalablement, a été

ajoutée à de l'empois d'amidon qu'on additionnait de ces diverses substances.

Par ces deux méthodes on a obtenu les mêmes chiffres pour l'asparagine, le phosphate d'ammoniaque et l'acétate d'aluminium. Les résultats obtenus avec le phosphate de calcium et l'alun différaient suivant la méthode employée. Peut-être doit-on chercher ici l'explication du désaccord qui existe sur ce point, en ce qui concerne l'alun, entre Kjeldahl et Effront.

Quoi qu'il en soit, voici un tableau dans lequel se trouvent rassemblés les principaux résultats des recherches de ce dernier.

La solution de diastase n'était autre qu'une macération aqueuse de malt sec dans la proportion de 1 pour 40. L'empois d'amidon avait une densité de 1015. Au reste les mêmes expériences ont été répétées avec de la diastase préparée par la méthode de Lintner et ont donné les mêmes résultats.

1 cent. cube de la solution introduit dans 100 cent. c. d'empois a donné (température non indiquée) :

	Maltose pour 100 d'amidon.
Sans addition.	8,63
Avec 0,7 de phosphate d'ammoniaque ($\text{Po}^4\text{H}^2\text{AzH}^4$).	51,62

Avec 0,50 de phosphate de calcium (CaH_4Pho_4) ²). . .	46,12
» 0,25 d'alun ammoniacal.	56,30
» 0,25 d'alun potassique.	54,32
» 0,25 d'acétate d'alumine.	62,40
» 0,02 d'asparagine.	37,00
» 0,05 d'asparagine.	61,20

On remarquera que, en général, les mêmes substances qui favorisent le développement des micro-organismes favorisent également l'action des ferments solubles.

Inulase. — D'après Green (20), l'inulase, comme les ferments dont on a parlé jusqu'ici, est très sensible à de faibles doses d'acides ou d'alcalis qui, ajoutés aux liquides dans lesquels elle exerce son action, affaiblissent son activité. 0,2 p. 0/0 d'acide chlorhydrique ou 1,5 p. 0/0 de carbonate de soude suffisent pour la détruire.

La destruction est plus rapide à une température modérément élevée (40° C.) qu'à basse température (10 à 15° C.). Une trace d'acide chlorhydrique (pas plus de 0,005 p. 0/0) est plutôt favorable ; mais l'accroissement d'activité est si faible qu'on peut dire que ce ferment agit mieux en milieu neutre.

Émulsine et myrosine. — Les chimistes qui ont étudié l'influence des composés chimiques sur l'action de ces deux ferments se sont contentés, pour la plupart, d'opérer à doses élevées et leurs conclusions, bien que présentées sous une forme générale, ne doivent être admises que pour les proportions dans lesquelles les expériences ont été faites. Encore ne peut-on dire, lorsqu'une substance est donnée comme n'ayant pas d'action sur ces ferments, qu'elle n'a pas, par exemple, une influence retardatrice, car les observations auxquelles nous faisons allusion n'ont presque jamais été accompagnées d'essais quantitatifs.

D'après Bouchardat (21), les sels neutres de soude, de magnésie, de potasse, l'acide arsénieux, les bicarbonates de potasse et de soude n'empêchent pas l'action de l'émulsine. L'arséniate de soude, l'émétique, les sulfates de fer, de zinc et de cuivre la ralentissent seulement. Les bases alcalines, l'alcool à 80/0, les acides énergiques la paralysent entièrement. Le borate de soude (Dumas), peut-être à cause de ses propriétés alcalines, arrête l'action de l'émulsine et de la myrosine, tandis que l'acide

salicylique (22) ne paraît pas avoir d'influence sur l'activité de ces deux ferments.

Le chloral, même à la dose de 3 gr. 50 0/0, est tout à fait sans influence sur l'action de l'émulsine. Ce fait observé par Bougarel (3) est fort intéressant. Il tendrait à démontrer que l'émulsine n'est pas une matière albuminoïde analogue aux autres, si toutefois c'est une matière albuminoïde. Elle aurait dû, semble-t-il, être modifiée par le chloral qui entre, ainsi que l'a montré Personne, si énergiquement en combinaison avec les albumines.

Pepsine. — Ce ferment soluble n'exerce son action qu'en solution acide. L'acide chlorhydrique est, comme nous l'avons déjà dit, l'acide qui favorise le plus cette action lorsqu'on emploie les acides en proportions chimiquement équivalentes à 2 gr., 3 p. 1,000 de HCl. Mais, pour chacun des acides, il existe une proportion pour laquelle l'effet produit est maximum. Dans la digestion de la fibrine, cette proportion est, d'après A. Petit, pour :

L'acide chlorhydrique évalué en (HCl), 3 p. 1.000.

Acide bromhydrique id. (HBr), 5 à 10 p. 1.000.

» sulfurique. . . id. (SO⁴H²), 5 à 10 p. 1.000.

Acide orthophosphorique évalué en (PHO^3H^3) .	5 à 10 p. 1.000.
» phosphor. vitreux	Aucun effet de 5 à 60 p. 1.000.
» formique.	10 p. 1.000.
» acétique.	Aucun effet de 20 à 40 p. 1.000.
» oxalique.	20 à 40 p. 1.000.
» lactique.	20 p. 1.000.
» tartrique.	10 à 40 p. 1.000.
» citrique.	20 à 40 p. 1.000.

Dans ses recherches, Petit opérait avec 25 cent. cubes de liqueur acide, 5 gr. de fibrine et 0 gr. 05 de pepsine (durée de l'essai : 12 heures. Température : 50°).

On remarquera ce fait curieux que l'acide phosphorique vitreux s'est montré inactif. Peut-être y a-t-il là une relation avec la propriété que possède cet acide à faibles doses de coaguler l'albumine?

De ce que la présence d'un acide est nécessaire pour que la digestion pepsique se produise, il s'ensuit que, en présence de toute substance alcaline, l'action de la pepsine doit être nulle. Il n'y a donc plus à considérer ici que les composés neutres ou acides.

On doit également à A. Petit des recherches assez étendues sur ce point. Ces recherches ont été faites dans les mêmes conditions que celles qui précèdent, mais toujours en présence de 3 p. 1.000 de HCl (23).

Nous les résumons dans le tableau suivant. Les chiffres de la première colonne représentent les proportions de sels qui n'exercent aucune influence sur l'action de la pepsine; ceux de la seconde représentent, pour quelques-uns de ces sels, les doses qui retardent l'action, et enfin ceux de la troisième représentent les doses qui arrêtent cette action.

	Doses inactives p. 1000	Doses qui retardent p. 1000	Doses qui arrêtent p. 1000
Chlorure de sodium. . . .	10 à 80	»	160
Bromure de potassium. .	10 à 80	»	»
Iodure de potassium. . .	10 à 80	»	»
Sulfate de magnésie. . .	10 à 160	»	»
Chlorhydrate d'ammonia. .	10 à 40	»	»
Sulfate de zinc.	10 à 40	»	»
Sulfate de fer.	2 à 20	»	»
Sulfate de cuivre.	10 à 40	»	»
Protochlorure de fer. . .	2 à 40	»	»
Phosphate de soude. . .	4	10	
Bichlorure de mercure. .	2 à 4	8 à 12	16 à 20
Émétique.	2	4	8

Acétate de soude.	»	»	4	8 à 40
Tartrate de potasse et de soude.	10	»	20	40
Tartrate de fer et de potas.	2	»	4	10 à 20

Les doses consignées dans le tableau précédent n'ont de valeur réelle que pour les conditions dans lesquelles les expériences ont été faites. Si, en particulier, on augmente la proportion de pepsine, il faut, pour retarder l'action de celle-ci, des doses plus élevées de sels.

Ces résultats concordent avec ceux que Wolberg a publiés sur ce sujet à la même époque que Petit, sauf en ce qui concerne le chlorure de sodium. D'après Wolberg, la présence de 5 p. 1.000 de NaCl activerait les effets de la pepsine (24).

En thèse générale, on peut dire que la plupart des sels neutres en solution étendue (jusqu'à 40 p. 1.000) sont sans influence. Ils deviennent nuisibles à la réaction lorsqu'ils sont très concentrés. Il est en outre important de remarquer que l'effet de quelques-uns de ceux qui s'opposent à la digestion de la fibrine tient sans aucun doute à ce que l'acide chlorhydrique, en saturant leur base, met en liberté un acide moins énergique que lui.

A la suite de ces corps, A. Petit en a étudié d'autres très divers ; différents alcaloïdes, des huiles essentielles, l'éther, le chloroforme, la benzine, l'acide phénique. Les alcaloïdes et les huiles essentielles, employés à des doses relativement faibles, il est vrai, sont sans action sur la digestion pepsique. Avec l'acide phénique, on retarde l'effet de la pepsine lorsqu'il y en a de 4 gr. à 10 gr. par litre. Enfin l'éther, le chloroforme et la benzine paralysent la fermentation à la dose de 800 gouttes par litre, mais sont sans action à la dose de 200 gouttes.

Trypsine. — Nous connaissons fort peu de chose relativement à l'influence des agents chimiques sur l'action de la trypsine. Comme nous le savons, ce ferment peut exercer son action en milieu alcalin, neutre ou très peu acide. La réaction qui lui convient le mieux est une réaction légèrement alcaline. On obtient un effet maximum lorsque le liquide renferme de 0,2 à 0,5 0/0 de carbonate de soude. Si la proportion de ce sel augmente, l'activité du ferment diminue. Ainsi, pour une proportion de 4 0/0 de carbonate de soude, la quantité de fibrine digérée tombe à 21 centièmes.

De très faibles doses d'acide paraissent sans influence sur l'action de la trypsine. Des doses plus fortes la retardent ou l'arrêtent complètement. Toutefois, on n'est pas d'accord sur la valeur de ces dernières. Ainsi, tandis que certains physiologistes ont constaté que la digestion trypsique était arrêtée en présence de 0,5 p. 1.000 d'HCl (Kühne), d'autres l'ont vu se continuer en présence de 3 p. 1.000 du même acide (C. Ewald). On ne peut expliquer ces contradictions qu'en admettant que, comme pour la diastase, l'action nuisible de l'acide chlorhydrique peut être empêchée par les matières protéiques présentes dans la liqueur. Ces matières forment avec l'acide une combinaison qui ne s'oppose pas complètement à l'activité du ferment. Par conséquent, lorsque la trypsine est impure et mélangée à beaucoup de matières protéiques, lorsqu'en outre on la fait agir sur une proportion considérable d'albuminoïdes, il faut une dose élevée d'acide pour arrêter son action. Dans tous les cas, comme l'ont constaté Chittenden et Cummins (25), dès qu'il y a de l'acide libre, le ferment est paralysé.

D'après les mêmes chimistes, l'action de la tryp-

sine serait favorisée par la présence de la bile ainsi que par celle du taurocholate et du glychocolate de soude. Ces faits ont un certain intérêt au point de vue physiologique, étant donné que la digestion trypsique se fait dans l'intestin.

Papaïne, trypsines végétales. — Les faits publiés par divers observateurs relativement à l'influence des agents chimiques sur l'activité de la papaïne et des autres trypsines végétales ne sont pas toujours concordants. Ils laissent supposer, en tout cas, ou que les expériences ont été mal conçues, ou que ces ferments diffèrent entre eux et diffèrent en outre de la trypsine animale. Nous nous contenterons de résumer ici, sans insister, les principaux d'entre eux.

D'après Sidney Martin (26), la papaïne agit en effet dans un liquide neutre ; mais son activité est beaucoup plus grande quand on l'additionne d'une petite quantité de carbonate de soude (environ 0,25 0/0). Une plus forte dose de sel alcalin est préjudiciable, de même qu'une faible proportion d'acide (0,05 d'acide chlorhydrique pour 100).

D'après Hirschler (27) qui appelle la papaïne,

papayotine, les choses seraient tout autres ; une légère acidité favorisant l'action du ferment, et une faible alcalinité l'arrêtant complètement. La proportion d'acide chlorhydrique la plus favorable serait 0,05 pour 100. Lorsque la proportion d'alcali dépasse 25 pour 1000, l'action digestive est à peine sensible.

D'après Chittenden (28), la puissance digestive du suc de l'ananas est plus grande en liqueur neutre. Ainsi, l'acidité du suc naturel équivaut à peu près à 0,5 p. 0/0 de HCl, or l'activité d'un tel suc est à celle d'un suc neutralisé exactement comme 3 est à 4. D'autre part, une alcalinité correspondant à 0,5 p. 0/0 de carbonate de soude affaiblit l'activité du ferment qui est complètement annihilée si cette alcalinité s'élève à 1 p. 0/0. Le ferment débarrassé des sels par précipitation du suc à l'aide de l'alcool, est encore plus sensible, puisqu'il est absolument inerte en présence de 0,1 0/0 d'acide chlorhydrique.

Présure. — L'influence des agents chimiques sur l'action de la présure a été fort bien étudiée par Duclaux (29).

Cette influence dépend en quelque sorte de l'action que ces composés exercent par eux-mêmes sur le lait. Lorsqu'ils peuvent déterminer la coagulation du lait, ils aident à l'action de la présure. Ainsi l'acide acétique à la dose de 1/100, d'autres acides plus actifs tels que l'acide lactique et surtout les acides minéraux à des doses encore plus faibles coagulent le lait à la température ordinaire : tous ces acides ajoutés aux très petites proportions accélèrent la coagulation par la présure. L'acide borique, cependant, retarde cette coagulation ; mais il est bon de remarquer que l'acide borique n'est pas un acide franc et qu'il agit comme une base sur certains papiers réactifs. Cette propriété de l'acide borique l'a fait employer par les industriels pour empêcher la coagulation du lait.

Avec les sels neutres, il y a une distinction à établir. La plupart d'entre eux coagulent le lait à la température ordinaire lorsqu'ils sont à des doses suffisamment élevées. Mais quelques-uns, suivant leur nature ou leurs proportions, modifient la caséine. Dans ce dernier cas, le lait, avec présure et sel, se coagule moins vite qu'avec la présure seule.

Avec les sels qui ne modifient pas la caséine, ou qui ne sont pas en proportions suffisantes pour la modifier, la coagulation est plus rapide.

Les plus intéressants, parmi ces sels, sont les sels alcalino-terreux, qui, ajoutés en quantité très minime, accélèrent notablement la coagulation par la présure. Avec 1 gr. de chlorure de calcium par litre, le lait se coagule deux fois plus vite. Les chlorures sont presque aussi actifs.

Par contre, l'action de la présure est très nettement contrariée par l'état d'alcalinité de la liqueur ; que cette alcalinité provienne de l'addition d'une base alcaline, ou d'un sel à réaction alcaline.

Enfin, on a vu ailleurs que les oxalates alcalins et, en général, les sels qui précipitent la chaux du lait, s'opposent à la coagulation de la caséine par la présure. En leur présence il y a bien formation de caséogène, mais celui-ci ne peut passer à l'état de caseum.

Ferments solubles pathogènes. — Nous connaissons encore fort peu de chose relativement à l'action des composés chimiques sur ces composés. Aux faits que nous avons déjà signalés à la page 48, nous ajouterons les suivants.

D'après Roux et Yersin, (30) la toxine diphtérique s'oxyde facilement à l'air, surtout si elle est en même temps exposée à la lumière solaire. Ces savants, ayant exposé à l'air et à la lumière une solution de toxine diphtérique dont 1/8 de cent. cube suffisait pour tuer un cobaye, ont constaté qu'au bout de 5 heures, elle ne produisait plus qu'un œdème local sur ces animaux.

En présence d'un acide même faible, l'activité de la toxine diphtérique est fortement amoindrie. Ainsi, en ajoutant de petites quantités d'acide lactique ou d'acide tartrique à une solution très toxique de cette toxine, on atténue son activité au point que 1 cent. c. du liquide injecté au cobaye ne produit plus d'action. Si, ensuite, on neutralise avec un alcali, on ne rend pas à la toxine son activité première. L'affaiblissement est d'autant plus marqué que le contact a été plus prolongé, comme si une partie de la toxine était détruite. Nous connaissons des faits analogues pour les ferments solubles ordinaires.

Les ferments protéo-hydrolytiques, trypsine et pepsine, détruisent la toxine diphtérique.

Les agents oxydants, comme le permanganate de potasse, la détruisent également.

L'iode, sous forme de trichlorure (Behring) ou en solution dans l'iodure de potassium (Roux et Vaillard) (31), atténue la toxine diphtéritique ainsi que la toxine tétanique et les animaux en supportent alors l'injection à doses mortelles. C'est sur cette propriété qu'est basée, à l'Institut Pasteur, la vaccination des chevaux contre la diphtérie, pour la production du sérum antidiphtérique.

Les faits que nous venons d'exposer dans ce chapitre paraissent tout d'abord très variés. On peut cependant en tirer quelques notions générales.

Ces faits nous montrent surtout que les fermentations déterminées par les ferments solubles sont extrêmement sensibles à la présence de la plupart des agents chimiques. Il n'y a que les substances qui arrêtent le développement des microorganismes parce qu'ils s'opposent à la respiration du protoplasma, qui, d'une façon générale et à faible dose, sont sans influence sur le processus. Quant aux agents actifs, ils n'agis-

sent pas sur tous les ferments ou leur influence est variable suivant le ferment considéré. Les acides arrêtent la digestion trypsique et sont nécessaires à la digestion pepsique ; celle-ci est empêchée par les alcalis qui paraissent accélérer la première. Le chlorure de calcium, aux plus petites doses, paralyse ou retarde l'action de la diastase et de l'invertine ; il favorise au contraire celle de la présure. Nous avons encore là une preuve de la spécificité des ferments solubles.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Bouchardat, *Sur la fermentation saccharine ou glucosique* (Ann. de chim. et de phys., [3], XIV, 1845, p. 61).

(2) Müntz, *Sur les ferments chimiques et physiologiques* (Comptes rendus, LXXX, 1875, p. 1250).

(3) Ch. Bougarel, *De l'amygdaline* (Thèse inaugurale, Paris, 1887, p. 44).

(4) W. Detmer, *Ueber den Einfluss der reaction Amylum...* (Zeitschr. f. physiol. Chem., VII, 1882-83, p. 1).

(5) Arthus et Huber, *Fermentations vitales et fermentations chimiques* (Comptes rendus, CXV, 1892, p. 839).

(6) J. Kjeldahl, *Nogle Jagttagelser over Invertin* (Medd. fra Carlsberg Laborat., I, 1881, p. 331).

(7) O'Sullivan et Tompson, *Invertase : a Contribution to the History of an Enzyme or unorganised Ferment* (Journ. Chem. Soc., 1890, p. 834).

(8) Aug. Fernbach, *Recherches sur la sucrase, diastase inverse du sucre de canne* (Thèse, Paris, 1890, p. 26).

(9) Duclaux, *Chimie biologique* (Paris, 1883, p. 181).

(10) Dumas, *Sur les ferments appartenant au groupe de la diastase* (Comptes rendus, LXXV, 1872, p. 295).

(11) O. Nasse, *Bemerkungen zur physiologie der Kohlehydrate* (Pflüger's Archiv, XIV. 1877, p. 475).

(12) Em. Bourquelot, *Transformation du tréhalose en glucose dans les champignons par un ferment soluble : la tréhalase* (Bull. de la soc. myc. de France, IX, 1893, p. 192).

(13) Leyser (Der Bayrische Bierbrauer, 1869, p. 30 ; d'après Kjeldahl).

(14) Ch. Richet, *Du suc gastrique chez l'homme et les animaux* (thèse, Paris, 1878, p. 116).

(15) Em. Bourquelot, *Sur les caractères pouvant servir à distinguer la pepsine de la trypsine* (Journ. de pharm. et de chim., [5], X, 1884, p. 177).

(16) Chittenden et E. Smith, *The diastatic action of saliva, as modified by various conditions, studied quantitatively* (Chemical News, LIII, 1886, p. 109, III^e éd.).

(17) Danilewski (Centralbl. f. d. med. Wiss., 1880, d'après Chittenden et Smith).

(18) J. R. Duggan, *Ueber die Bestimmung diastatischer Wirkung* (Ber. d. d. chem. Gesellsch., 1886 ; Ref., p. 104 ; tiré de Amer, chem. Journ., VII, p. 306).

(19) J. Effront, *Sur les conditions chimiques de l'action de la diastase* (Comptes rendus, CXV, 1892, p. 1324, et Bull de la soc. chimique 1893, p. 151).

(20) J. R. Green, *On the germination of the tuber of the Jerusalem artichoke Helianthus tuberosus* (Annals of Botany, I, 1888 p. 223).

(21) Bouchardat, *Mémoire sur les fermentations benzoïque, saligénique et phlorétinique* (Comptes rendus, XIX, 1844, p. 601).

(22) Schaer, *Ueber die Veränderung der Eigenschaften der Fermente durch Salicylsäure...* (J. f. prakt. Chem., XII, 1876, p. 123).

(23) A. Petit, *Recherches sur la pepsine* (Paris, 1881, p. 48).

(24) L. Wolberg, *Einfluss einiger Salze und Alkaloïde auf die Verdauung* (Pflüger's Archiv, XXII, 1880, p. 291).

(25) Chittenden et Cummins, *Influence of bile on amylolytic and proteolytic action* (Chem. News, LI, 1888, p. 258, 265 et 279).

(26) Sydney Martin (Journal of Physiology, V, 1884).

(27) A. Hirschler, *Zur Kenntniss der Papaya-Verdauung* (Ungar. Arch. f. Med., I, 5^e et 6^e fascicules, d'après Apotheker-Zeitung, 1893, p. 519).

(28) Chittenden (Trans. of Connecticut Academy, VIII, 1891; cité d'après Green).

(29) Duclaux, *Mémoire sur le lait* (Ann. de l'Inst. agronomique 1879-80, p. 43).

(30) Roux et Yersin, *Contribution à l'étude de la diphtérie* (Ann. de l'Inst. Pasteur, III, p. 281; 1890).

(31) Vaillard, *Sur quelques points concernant l'immunité contre le tétanos* (Ann. de l'Inst. Pasteur, VI, 1892, p. 224).

CHAPITRE VIII

THÉORIE DES FERMENTATIONS DÉTERMINÉES PAR LES FERMENTS SOLUBLES

Berzélius pensait que les décompositions déterminées par les ferments en général devaient être rapportées à des actions de contact. Il les comparait à l'action bien connue de la mousse de platine sur l'eau oxygénée. Mais il s'agit dans ce dernier cas de l'action d'une substance insoluble sur une substance soluble, ce qui enlève de la valeur à la comparaison, car, dans les fermentations que nous considérons ici, le ferment et la matière fermentescible sont, la plupart du temps, tous deux en solution. Il resterait en tout cas à démontrer que les ferments solubles ne manifestent aucune affinité chimique durant l'acte fermentaire.

Liebig supposait que les ferments solubles sont des corps en voie de décomposition qui communiquent leur état de mouvement aux substances renfermées dans le milieu ambiant. Mais rien ne

prouve que ces ferments sont réellement des corps en voie de décomposition, ni qu'une telle propriété soit transmissible aux substances voisines. L'opinion de Liebig est au contraire en opposition avec ce fait que les ferments solubles résistent aux causes les plus puissantes de décomposition, puisque dans des conditions où beaucoup de combinaisons organiques sont rapidement détruites, notamment dans la putréfaction, ces ferments n'éprouvent aucune modification.

Ni l'explication de Berzélius ni celle de Liebig ne peuvent donc plus être défendues aujourd'hui.

Dans l'étude de cette question, il faut envisager à part les ferments solubles oxydants et ceux qui sont hydratants. Voyons comment on peut comprendre l'action des premiers.

Schœnbein attribuait les oxydations déterminées par certains tissus organiques à l'ozone. Il admettait, au moins dans certains cas, que ces tissus renferment des substances capables de transformer l'oxygène de l'air en ozone, c'est-à-dire en oxygène actif, de céder cet oxygène à certains corps oxydables, de fabriquer de nouvel ozone et ainsi de

suite (1). Il les comparait au bioxyde d'azote dans la fabrication de l'acide sulfurique. Les *porte-ozone* de Schœnbein sont, en somme, ce que nous avons appelé des ferments oxydants, et l'on peut admettre, sinon comme un fait établi, du moins comme une hypothèse très soutenable, que les choses se passent comme il le pensait.

Mais la plupart des ferments solubles connus sont des ferments hydratants. Nous avons vu, en particulier, que les actions fermentaires de l'invertine, de l'émulsine, de la diastase et de la pepsine consistent dans l'hydratation de la substance fermentescible. Le ferment étant la cause de cette hydratation, plusieurs chimistes se sont ralliés à une opinion d'après laquelle il participerait transitoirement à la réaction, absorbant de l'eau pour la céder, immédiatement après, à la substance fermentescible. Le phénomène se passerait en deux temps : 1° formation d'une combinaison du ferment soluble avec l'eau ; 2° décomposition immédiate de cette combinaison et absorption de l'eau par la substance fermentescible qui se dédouble. Le ferment étant régénéré à

chaque réaction, une quantité limitée de ce ferment pourrait, théoriquement, amener le dédoublement d'une quantité illimitée de matière fermentescible. Le ferment soluble ne devrait donc pas être détruit durant la fermentation. C'est là un point que nous allons examiner.

Voyons d'abord si l'effet produit par un ferment soluble est proportionnel à la quantité de ferment employé, et prenons comme exemples deux des fermentations les plus connues, celles que produisent l'invertine (A. Mayer) et la diastase (Kjeldahl).

Dans les recherches de Ad. Mayer, des solutions d'invertine renfermant des proportions différentes (1 *bis*) de ferment étaient mélangées à dix fois leurs poids de solution de sucre de canne à 10 0/0.

Après 4 heures de contact, l'analyse a donné les résultats consignés dans le tableau suivant.

Invertine par rapport à 100 de sucre	Sucre interverti pour 100.	
	En totalité	Par heure
1	70,0	17,5
0,5	38,2	9,5
0,25	21,8	5,5
0,12	12,5	3,1
0,06	6,7	1,7

Ces nombres ne représentent pas une proportionnalité complète. Toutefois, l'écart n'est pas considérable, et si l'on ne tient pas compte de l'essai n° 1, dans lequel l'invertine ne trouve plus en dernier lieu que de petites quantités de sucre à intervertir, on peut bien affirmer que l'action de l'invertine est proportionnelle à la quantité de ferment employé.

Pour déterminer le rapport entre la quantité de diastase employée et celle du sucre formé, Kjeldahl (2) traitait plusieurs portions d'empois, contenant chacune 10 gr. d'amidon, par différentes quantités d'extrait de malt. Il opérait à la température de 57°, et arrêtait l'opération au bout de 10 minutes. Les résultats de ses expériences sont les suivants :

Extrait de malt (cent. cubes)	Sucre en centigr. après corrections pour l'extr. de malt	Pouvoir réducteur
Nos 1... 2	0,313	9,6
2... 4	0,596	18,3
3... 6	0,864	26,2
4... 8	1,070	32,0
5... 10	1,190	36,0
6... 12	1,300	39,0

Ici encore nous retrouvons la proportionnalité

pour les petites doses de diastase. Constatons cependant qu'elle n'existe plus dès l'essai n° 3. Doit-on croire, comme Ad. Mayer le suppose, que la solution renferme alors un excès d'agent actif qui ne trouve plus matière à exercer son activité? Cela paraît peu vraisemblable ; car la saccharification est alors encore très éloignée de son terme. La réaction déterminée par la diastase est une de ces réactions complexes dont nous avons parlé, et l'on s'expliquerait parfaitement ce défaut de proportionnalité en admettant que les dernières phases de la réaction s'exécutent plus lentement que les premières.

Quoi qu'il en soit, les fermentations du genre de celles de l'amidon par la diastase paraissent être des phénomènes trop complexes pour pouvoir servir à l'édification d'une théorie des fermentations, et comme, parmi les fermentations plus simples, celle que l'invertine détermine est la mieux étudiée, nous insisterons plus spécialement sur cette dernière.

La proportionnalité de l'effet à la quantité de ferment employé ne préjuge d'ailleurs en rien la

question de savoir si le ferment est ou non détruit en exerçant son action. Mais s'il était démontré que l'effet du ferment est proportionnel au temps, il serait démontré par là que ce ferment ne s'use pas. On ne comprendrait pas un effet proportionnel au temps produit par une cause qui s'use en produisant son effet.

Ad. Mayer a également étudié la question de la proportionnalité de l'action de l'invertine avec le temps. Il s'est servi pour cela d'une solution très étendue de ferment (2 cent. c.), qu'il a mélangée à une solution de sucre de canne à 10 0/0 (20 c. c.). L'expérience a été faite à la température ordinaire.

Temps.	Sucre interverti pour 100.	
	En totalité.	Par heure.
Immédiatement	1	
1 heure	4.6 {	1,0
17 h. 1/2	18.2 {	1,0
22 h. 1/2	23.4 { }	0,8
44 h.	39.8 { }	0,5
95 h.	66.2 { }	0,3
120 h.	74.4 { }	0,35
145 h.	83.2 { }	
169 h.	90.6	

L'effet n'est à peu près proportionnel au temps que

pendant les deux premiers jours; ensuite la réaction se ralentit de plus en plus. Duclaux a fait des recherches analogues sur le même ferment, et il est arrivé aux mêmes résultats.

Voici, d'autre part, une série d'essais effectués par Miquel (3) sur l'uréase: dans un matras de 300 centimètres cubes de capacité, on introduit 150 centimètres cubes d'une solution d'uréase filtrée et 150 grammes d'une solution d'urée pure à 12 p. 100. Le matras est alors immergé au sein d'un bain-marie de 10 litres d'eau, réglé à 48°-50°, température optimale de l'action de l'uréase; puis, tous les quarts d'heure, il est fait un dosage indiquant l'urée disparue.

Temps. Départ	Urée disparue par litre.	
	En totalité.	Par quart d'heure.
	0 gr. 0	»
Après 15 minutes	1 6	1 gr. 6
— 30 —	5 8	4 2
— 45 —	11 0	5 2
— 1 heure	16 2	5 2
— 1 h. 15	21 5	5 3
— 1 30	26 3	4 8
— 1 45	30 8	4 5
— 2 00	34 5	3 7
— 2 15	37 5	3 0

Après	2 h. 30	39 gr. 8	2 gr. 3
—	2 45	41 6	1 8
—	3 00	41 6	» »

En ne tenant pas compte des deux premiers quarts d'heure, pendant lesquels l'élévation graduelle de température de la solution immergée dans le bain devait amener un accroissement d'activité, on voit qu'ici encore, l'effet n'est à peu près proportionnel au temps que pendant les troisième, quatrième et cinquième quarts d'heure, la décomposition allant ensuite en déclinant jusqu'à s'arrêter complètement.

Pour pouvoir admettre la proportionnalité de l'effet au temps, il faut évidemment expliquer le retardement qui se manifeste à la fin de l'expérience.

Laissons de côté la décomposition de l'urée par l'uréase, phénomène dont le ralentissement pourrait bien être dû, comme le pense Miquel, à l'action caustique du carbonate d'ammoniaque sur le ferment, et ne considérons que le ralentissement du dédoublement du sucre de canne à la fin de l'opération.

On peut faire à cet égard trois hypothèses : ou bien le sucre, en excès à l'origine, favorise l'intervention ; ou le sucre interverti à la fin la retarde ; ou enfin le ferment s'use en exerçant son action.

Si l'on met la même quantité d'invertine, 20 milligrammes par exemple, dans 100 cent. cubes de solutions à 10, 20 et 40 0/0 de sucre de canne (à 37°), on observe que pendant les premières heures de l'action, les quantités de sucre interverties dans l'unité de temps sont les mêmes dans les trois liqueurs (Duclaux). La première hypothèse se trouve ainsi écartée, puisque l'invertine produit le même effet quelle que soit la proportion du sucre qui l'entoure.

Mais si on fait agir une même quantité d'invertine d'une part sur une certaine proportion de sucre de canne, et d'autre part sur une égale proportion de sucre de canne additionnée de sucre interverti, on remarque que la diminution de l'effet est bien plus rapide dans le deuxième cas que dans le premier. Il s'en suit que l'accumulation des produits de la réaction doit être une cause du ralentissement de cette réaction.

Ce résultat n'exclut pas d'ailleurs la troisième hypothèse ; le ralentissement pourrait être dû à la fois à l'accumulation des produits de la réaction et à une destruction du ferment. Il a donc fallu examiner cette hypothèse par des expériences directes.

Nous relaterons seulement l'une de celles que Ad. Mayer a publiées sur ce sujet.

20 cent. cubes de solution de sucre de canne à 10 0/0 furent additionnés de 2 cent. cubes de solution d'invertine et maintenus à la température de 30° jusqu'à l'achèvement de l'interversion.

20 cent. cubes de la même solution sucrée furent traités à l'ébullition par 2 cent. cubes d'acide sulfurique étendu, de façon à produire le même résultat. L'acide fut ensuite enlevé en suivant les procédés ordinaires et le volume ramené à 22 cent. cubes. La première solution fut additionnée de 10 0/0 d'eau et de 20 cent. cubes de solution sucrée. — La deuxième fut additionnée de 20 cent. cubes de solution sucrée et de 2 cent. cubes de solution d'invertine.

Il s'agit ici, comme on le voit, de savoir si l'invertine ayant déjà agi produira le même effet que

l'invertine fraîche. On s'est arrangé pour que la cause du ralentissement attribuable aux produits de la réaction fût la même dans les deux cas.

L'expérience a duré trois heures. La première invertine avait interverti 5,8 0/0 du sucre par heure et la deuxième 6 0/0. Il semble donc que l'invertine n'a pas éprouvé d'affaiblissement en exerçant son action.

Ce sont là malheureusement les seuls faits que l'on peut invoquer en faveur de la non-destruction des ferments solubles durant la fermentation. Pour d'autres ferments solubles que l'invertine, pour la pepsine, pour la diastase, on a plutôt observé des limites nettes de leur activité (4 et 5). Il est vrai qu'on a invoqué, comme cause de destruction, des causes étrangères à la fermentation, par exemple des actions oxydantes qui amèneraient peu à peu la destruction totale des ferments; mais ces assertions sont basées sur des probabilités et non sur des preuves positives. Tout ce qu'on peut dire de général sur ce sujet, c'est que l'effet que produisent les ferments solubles est extraordinairement grand par rapport à leur masse.

Ces résultats, peu satisfaisants, il faut bien le dire, ne suffiraient cependant pas pour faire rejeter la théorie des fermentations que nous sommes en train d'examiner.

Dans cette théorie, l'invertine, si nous prenons encore l'invertine pour exemple, absorberait de l'eau pour la céder ensuite au sucre de canne et celui-ci se dédoublerait aussitôt en glucose et en lévulose. L'action de l'invertine, comme celle des ferments oxydants, pourrait être comparée à l'action du bioxyde d'azote dans la fabrication de l'acide sulfurique. On sait que, dans cette fabrication, le bioxyde d'azote ne prend l'oxygène de l'air que pour le transporter sur l'acide sulfureux.

Conformément à cette manière de voir, on a cherché à obtenir d'une façon définitive la combinaison d'invertine et d'eau qui se formerait transitoirement durant la fermentation. On a chauffé, avec de l'eau, de l'invertine préalablement desséchée à 100° ; on l'a desséchée à nouveau ; le poids n'avait pas augmenté.

Des recherches effectuées sur d'autres ferments solubles n'ont pas donné de meilleurs résultats.

Seul, Würtz paraît avoir transformé la papaïne en un produit plus hydraté, en maintenant une solution de ce ferment à 50° pendant plusieurs semaines.

Si donc nous voulons résumer ce qui précède, nous sommes obligés de reconnaître qu'il n'est pas démontré : 1° que les actions produites par les ferments solubles sont proportionnelles au temps ; 2° que le ferment ne s'use pas en produisant son effet, et 3° que le ferment s'hydrate transitoirement durant la fermentation.

Il faut nous rappeler enfin que chaque ferment soluble exerce son action sur une ou plusieurs substances tout à fait déterminées. Voici par exemple l'invertine qui hydrate le sucre de canne et amène son dédoublement ; cette même invertine n'a d'action ni sur le maltose (6), ni sur le lactose (1, p. 111), ni sur le tréhalose (7) et pourtant ces trois derniers sucres appartiennent au même groupe chimique que le sucre de canne et ils sont, comme lui, hydratés et dédoublés par les acides étendus. C'est là une circonstance qui doit paraître peu en harmonie avec la théorie que nous discu-

tons, car lorsqu'on parle d'agents hydratants dans le domaine de la chimie, il s'agit d'agents dont l'action est de nature très générale.

Würtz a soutenu une théorie voisine de la précédente. Cette théorie repose sur les faits suivants (8).

Des matières albuminoïdes plongées dans une solution de papaine fixent d'abord celle-ci et peuvent être lavées à grande eau sans céder le ferment. Mises à digérer ensuite à 40° C dans l'eau pure, elles entrent en dissolution à l'état de peptone, en même temps que la papaine se trouve régénérée et peut, par conséquent, agir sur une nouvelle quantité d'albuminoïde. — La pepsine se comporte d'une manière toute semblable.

Würtz en conclut que l'action du ferment s'explique par une fixation incessante de ce ferment sur la matière albuminoïde, pour former une combinaison passagère que l'eau dédouble en donnant des peptones et en régénérant le ferment.

C'est une théorie semblable à celle de l'éthérification de l'alcool par l'acide sulfurique. L'éthérification a lieu en deux phases : dans la première,

l'acide réagit sur l'alcool en donnant de l'acide éthylsulfurique et de l'eau ; dans la seconde, l'alcool resté libre réagit sur l'acide éthylsulfurique, donne de l'éther et régénère l'acide sulfurique.

La théorie de Würtz serait acceptable s'il était réellement établi qu'en se fixant sur la matière albuminoïde, la pepsine ou la papaïne donnent naissance à une combinaison passagère comparable à l'acide éthylsulfurique dans l'éthérification. Mais la pepsine et la papaïne ne sont pas les seuls ferments qui possèdent la propriété de se fixer sur les albuminoïdes. Tous les autres ferments solubles sont également fixés par eux. Et cependant ils ne les digèrent pas. Cette propriété n'a donc rien à faire avec l'action fermentaire.

Enfin, Ad. Mayer (I, p. 115) a attiré l'attention sur un fait qu'on avait un peu oublié dans les théories précédentes ; nous voulons parler de la possibilité de produire les mêmes effets que ceux que nous obtenons avec les ferments, à l'aide de l'eau seule employée à haute température. Cette circonstance, pense-t-il, tendrait à faire supposer que les ferments solubles agissent en élevant la

température moléculaire des corps fermentescibles.

Ad. Mayer a basé sur ce fait une théorie qui se confond à peu près avec celle que Naegeli a formulée sur le même sujet. Les ferments n'entre-raient pas eux-mêmes en combinaison ; mais ils agiraient, par suite des mouvements de leur molécule, sur des groupes déterminés d'atomes dont ils provoqueraient le déplacement et un groupement nouveau (9).

On peut objecter à cette dernière théorie qu'on ne voit pas très clairement la relation qui existe entre elle et l'action de l'eau à haute température. Dans ces conditions, elle n'a plus d'autre valeur que celle d'une conception ingénieuse à laquelle manque une base expérimentale.

En résumé, c'est encore la première des théories que nous avons examinées qui, malgré les arguments qu'on peut lui opposer, paraît actuellement la plus satisfaisante. Remarquons qu'elle se rapproche singulièrement de la théorie de Schœnbein que nous avons appliquée aux ferments oxydants ; ici le ferment fixerait de l'oxygène, le rendrait actif et le céderait au corps oxydable ; là le ferment

fixerait de l'eau pour le céder ensuite au corps hydrolysable.

Resterait à savoir d'où vient aux ferments cette aptitude à fixer ainsi transitoirement de l'oxygène ou de l'eau et à donner à ces corps une activité telle qu'ils peuvent se fixer ensuite sur d'autres composés. C'est là une question à laquelle il est difficile de répondre. Cependant, si l'on réfléchit que l'on peut, à l'aide de l'électricité, et même de la lumière, changer l'oxygène en ozone, c'est-à-dire en oxygène actif, on est tenté de rapporter les propriétés des ferments solubles à des causes purement physiques.

En réalité, les ferments exercent leur action, comme s'ils mettaient en œuvre une force accumulée dans une matière dont la composition chimique peut d'ailleurs être très variable — force qui doit déterminer une réaction tout à fait spécifique.

L'approvisionnement de cette force se ferait pendant la vie de l'être qui sécrète le ferment, et celui-ci serait ainsi une sorte de reste de l'organisme qui lui a donné naissance.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Schœnbein, *Ueber Ozon und Ozonwirkungen in Pilzen* (d'après un résumé paru dans J. f. prakt. Chemie, LXVII, 1856, p. 496).

(1 bis) Ad. Mayer, *Die Lehre von den chemischen Fermenten* (1882, p. 84).

(2) J. Kjeldahl, *Recherches sur les ferments producteurs de sucre* (Medd. fra Carlsberg Laborat., I, 1879, p. 117. Résumé français).

(3) P. Miquel, *Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée* (Ann. de micrographie, V, 1893, p. 381).

(4) Paschutin (Reichert's Archiv, 1871, p. 305).

(5) Grützner (Pflüger's Archiv, XII, 1876, p. 301).

(6) Em. Bourquelot, *Recherches relatives à la digestion chez les mollusques céphalopodes* (comptes rendus, 4 déc. 1882).

(7) Em. Bourquelot, *Transformation du tréhalose en glucose dans les champignons par un ferment soluble : la tréhalase* (Bull. de la Soc. myc. de France, IX, 1893, p. 192).

(8) Würtz, *Sur le mode d'action des ferments solubles* (Comptes rendus, XCIII, 1881, p. 1104).

(9) Naegeli, *Theorie der Gährung* (1879, p. 27).

FIN



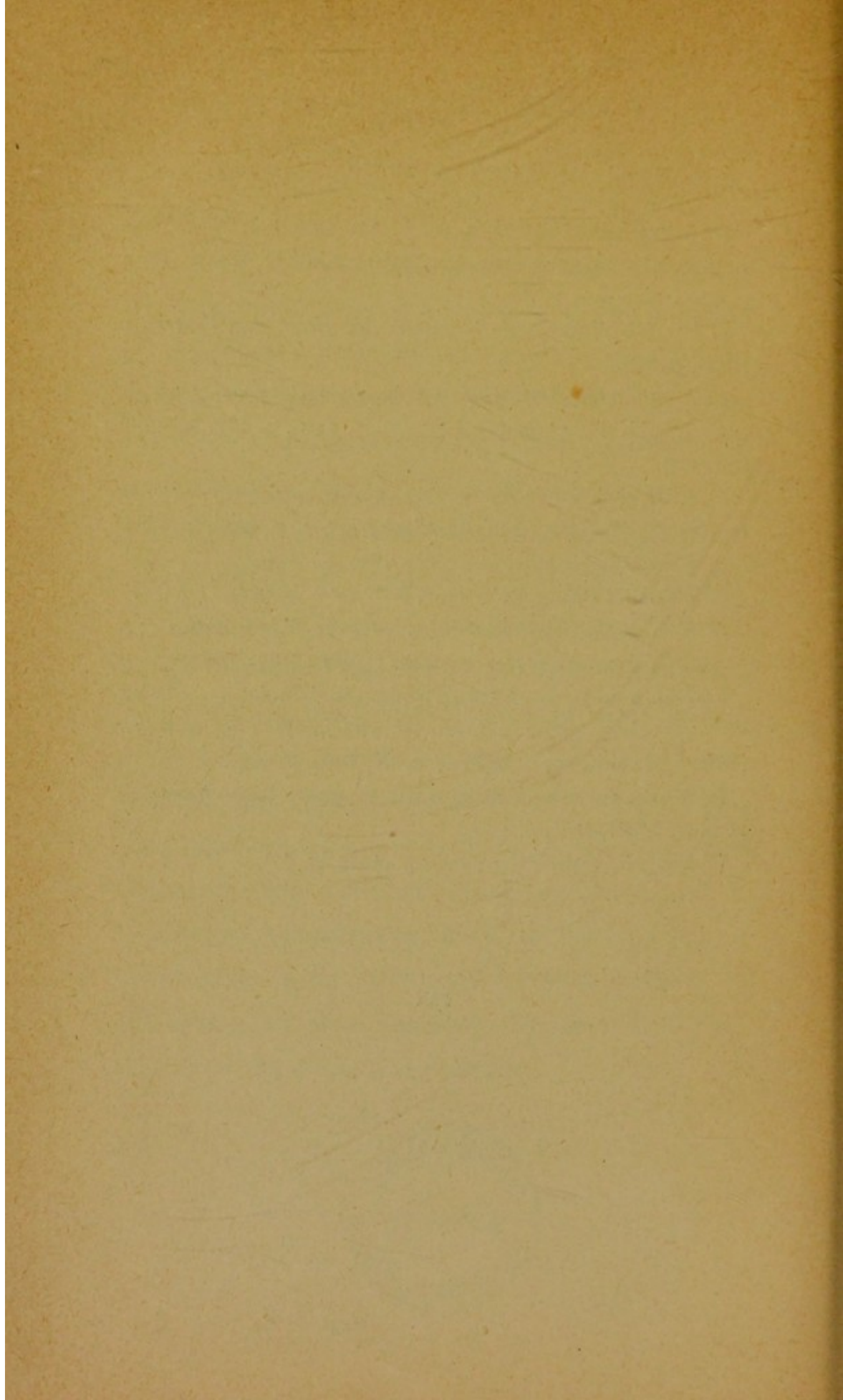


TABLE DES MATIÈRES

	Pages
<i>Chapitre I.</i> — Définition et classification des ferments solubles.	1
<i>Chapitre II.</i> — Présence et siège des ferments solubles chez les animaux et les végétaux.....	8
§ I. — Ferments des hydrates de carbone.....	8
Invertine.....	8
Tréhalase.....	10
Maltase.....	10
Lactase.....	12
Diastase.....	12
Inulase.....	17
Pectase.....	18
Ferments cyto-hydrolytiques.....	19
§ II. — Ferments des glucosides.....	24
Emulsine.....	24
Myrosine.....	30
Rhamnase.....	34
Erythrosyme.....	35
§ III. — Ferments protéo-hydrolytiques.....	35
Pepsine, trypsine et papaïne.....	35
Présure.....	39
Plasmase.....	42
§ IV. — Uréase.....	44
§ V. — Ferments des glycérides.....	45
§ VI. — Ferments solubles pathogènes.....	46
§ VII. — Ferments oxydants.....	49
Laccase.....	49
<i>Chapitre III.</i> — Préparation, caractères généraux et composition chimique des ferments solubles.....	61
§ I. — Préparation des ferments solubles.....	61
Diastase.....	62
Présure.....	63
Pepsine.....	67
§ II. — Caractères généraux et composition chimique des ferments solubles.....	73

	Pages
<i>Chapitre IV. — Réactions déterminées par les ferments solubles</i>	80
§ I. — Ferments solubles hydratants.....	80
Invertine.....	81
Tréhalase et maltase.....	82
Lactase.....	83
Diastase.....	84
Inulase.....	90
Pectase.....	92
Cytases.....	96
Emulsine.....	95
Myrosine.....	99
Rhamnase et erythrosyme.....	102
Pepsine, trypsine, papaïne.....	102
Présure et plasmase.....	110
Uréase.....	114
Lipases.....	116
§ II. — Ferments solubles oxydants.....	116
<i>Chapitre V. — Individualité des ferments solubles</i>	122
Travaux d'Emil Fischer.....	131
<i>Chapitre VI. — Influence des agents physiques sur les ferments solubles et sur les fermentations qu'ils déterminent</i>	136
<i>Chapitre VII. — Influence des agents chimiques sur les ferments solubles et sur les fermentations qu'ils déterminent</i>	161
Invertine.....	164
Tréhalase et maltase.....	168
Diastase.....	168
Inulase.....	182
Emulsine et myrosine.....	183
Pepsine.....	184
Trypsine.....	188
Papaïne.....	190
Présure.....	191
Ferments pathogènes.....	193
<i>Chapitre VIII. — Théorie des fermentations déterminées par les ferments solubles</i>	199

