

ANNALES SCIENTIFIQUES DE L'É.N.S.

VAN TIEGHEM

Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique

Annales scientifiques de l'É.N.S. 1^{re} série, tome 1 (1864), p. 159-218

http://www.numdam.org/item?id=ASENS_1864_1_1__159_0

© Gauthier-Villars (Éditions scientifiques et médicales Elsevier), 1864, tous droits réservés.

L'accès aux archives de la revue « Annales scientifiques de l'É.N.S. » (<http://www.elsevier.com/locate/ansens>) implique l'accord avec les conditions générales d'utilisation (<http://www.numdam.org/conditions>). Toute utilisation commerciale ou impression systématique est constitutive d'une infraction pénale. Toute copie ou impression de ce fichier doit contenir la présente mention de copyright.

NUMDAM

Article numérisé dans le cadre du programme
Numérisation de documents anciens mathématiques
<http://www.numdam.org/>

RECHERCHES

SUR

LA FERMENTATION DE L'URÉE ET DE L'ACIDE HIPPURIQUE,

PAR VAN TIEGHEM,
AGRÉGÉ PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE NORMALE.

Dans une série non interrompue de travaux publiés depuis 1856, M. Pasteur a entrepris l'étude, jusqu'alors si pleine de mystères, des phénomènes connus sous le nom de *fermentations*. Ses expériences ont jeté sur l'origine, la nature et le mode d'action des ferments, ainsi que sur les relations qui les lient parfois à la dissymétrie moléculaire des corps qu'ils détruisent, une lumière nouvelle et inattendue. Leurs résultats sont trop connus pour que j'aie à les rappeler ici; généralisés par l'étude successive de plusieurs fermentations importantes, ils donnent la clef de l'explication de tous les phénomènes du même ordre, et ouvrent pour leur étude une voie féconde. Il faut maintenant, pour marcher dans cette voie, reprendre une à une, dans les idées nouvelles, toutes les fermentations imparfaitement connues jusqu'ici, afin de confirmer et de généraliser, s'il y a lieu, les résultats obtenus par M. Pasteur, en les appuyant de faits nouveaux. C'est ce que j'ai entrepris de faire pour l'urée et pour l'acide hippurique, deux corps dont le rôle est considérable dans l'économie de la nature, puisqu'ils sont les formes sous lesquelles l'azote est éliminé des tissus vivants, et que c'est par les transformations qu'ils éprouvent en dehors de l'organisme que cet azote rentre dans la nature minérale pour y subir bientôt une nouvelle assimilation.

Je divise ce travail en trois Parties. La première traite de la fermentation de l'urée; dans la seconde j'établis que, toutes les fois que l'urée se transforme dans un liquide qui fermente alcooliquement, sa fermentation est directe au même titre que celle du sucre; enfin la troisième contient la fermentation de l'acide hippurique.

Les expériences que je vais rapporter ont toutes été faites dans les laboratoires de l'École Normale. J'en dois la première idée à M. Pasteur; ses bienveillants conseils n'ont cessé de m'être d'un précieux secours dans ces études délicates, qu'il a inaugurées avec tant de bonheur; il a bien voulu vérifier les principaux résultats de ce travail : je lui en exprime ici toute ma reconnaissance.

PREMIÈRE PARTIE.

FERMENTATION DE L'URÉE, DITE AMMONIACALE.

Historique.

L'urine est la voie par laquelle sont éliminées de l'organisme les matières solubles qui passent en excès dans l'économie par la digestion des aliments ou qui résultent de l'accomplissement régulier des phénomènes de la vie. Aussi ce liquide a-t-il, dès la plus haute antiquité, attiré l'attention des médecins, qui recherchèrent dans l'examen exclusif de ses propriétés physiques les caractères empiriques de certaines maladies. L'étude chimique de l'urine, inaugurée par les alchimistes vers le milieu du ^{xvii}^e siècle, amena tout d'abord la découverte du phosphore; mais l'intérêt même qu'excita ce nouveau corps et les idées singulières que les alchimistes avaient répandues sur les propriétés de ses sels concentrèrent longtemps l'attention des observateurs sur l'étude exclusive des phosphates et des autres sels de l'urine; tant qu'on ne vit dans ce liquide qu'une lessive saline, on ne comprit que la partie la moins remarquable de son rôle.

Boerhaave pressentait pourtant que l'urine remplit dans l'organisme une fonction plus importante que l'élimination des matières salines; la formation d'une grande quantité d'ammoniaque pendant l'altération de ce liquide ne lui avait point échappé, et, comme cet alcali est un des produits les plus caractérisés de la putréfaction, il a regardé l'urine comme chargée d'une matière extrêmement putrescible et comme emportant hors de nos corps la cause qui en produirait la destruction si elle y séjournait trop longtemps. C'est la première idée juste que l'on ait eue sur la nature de l'urine et sur la cause prochaine de son altération; mais elle fut à peine accueillie, et tomba bientôt dans un oubli assez profond pour qu'en l'année 1800 un chimiste français, Proust, expliquât encore la formation de l'ammoniaque dans l'urine altérée par l'action directe de l'azote de l'air sur l'hydrogène de certaines matières muqueuses putrescibles : cette combinaison était favorisée, suivant lui, par une douce chaleur et par l'affinité pour l'ammoniaque de l'acide carbonique, dont il croyait l'urine surchargée au moment de son émission (1).

La substance altérable soupçonnée par Boerhaave avait pourtant été reconnue et distinguée des sels de l'urine en 1773 par Rouelle le cadet, qui la désigna sous

(1) Proust, Expériences sur l'urine, *Annales de Chimie*, t. XXXVI, p. 262; 1800.

le nom de *matière savonneuse de l'urine*. Presque oubliée après lui, elle fut retrouvée en 1798 par Cruikshank, en même temps que Fourcroy et Vauquelin en faisaient en France une étude complète, et lui donnaient le nom d'*urée*. Ces chimistes ne se bornent pas à faire connaître son extraction, ses propriétés, sa nature azotée; ils font remarquer, en y insistant beaucoup, que c'est l'urée qui caractérise essentiellement l'urine et qui est la cause de son altération spontanée; que l'urée est la forme sous laquelle l'azote est éliminé de l'organisme et que, « sous ce rapport, les reins deviennent pour le physiologiste le couloir naturel de l'azote, comme les poumons le sont du carbone... C'est du sang arrivant par les artères rénales que cette matière azotée se sépare, et c'est ainsi que ce liquide vital, en perdant la surabondance de ce principe, prend et conserve l'équilibre de composition qui lui est nécessaire (1). » Le rôle de la sécrétion urinaire était dès lors entièrement compris.

On a regardé pendant longtemps l'urée comme un principe propre à l'urine; mais quand les expériences de MM. Prévost et Dumas eurent démontré en 1821 que l'urée préexiste dans le sang et que les reins ne font que l'en séparer à la manière d'un filtre, il devint probable que tous les liquides de l'organisme formés aux dépens du sang contiennent de l'urée. Les recherches dirigées dans ce sens furent en effet couronnées de succès; on rencontra successivement l'urée dans la sérosité du péritoine, dans le liquide des ventricules cérébraux, dans les eaux de l'amnios de la vache, dans la salive, dans les liquides de l'œil, etc. : aussi peut-on dire que, pour se trouver surtout condensée dans l'urine, l'urée n'en est pas moins généralement répandue dans toutes les parties de l'organisme; et cette diffusion ajoute un nouvel intérêt à la transformation de cette substance, dont nous allons nous occuper exclusivement.

On a su dès la plus haute antiquité que l'urine s'altère après quelques jours d'exposition à l'air; mais pendant longtemps on s'est borné à étudier les apparences extérieures de ce phénomène, savoir : la fétidité qui l'accompagne, la grande quantité d'ammoniaque qui le caractérise et l'abondante précipitation de phosphates qui le suit, sans les rattacher à la composition même du liquide. Le seul Boerhaave avait conçu à cet égard une vue plus complète et plus juste, quoique bien vague encore. Les premiers, Fourcroy et Vauquelin attribuèrent l'altération de l'urine à celle de l'urée qu'elle renferme; le résidu de l'urine putréfiée ne contient plus en effet aucune trace d'urée. « C'est cette matière qui a éprouvé le plus grand et le plus singulier changement par la putréfaction; c'est elle qui en a été le foyer et le sujet : elle a donné naissance surtout au carbonate d'ammoniaque, qui la remplace,

(1) FOURCROY et VAUQUELIN, Deuxième Mémoire pour servir à l'histoire naturelle, chimique et médicale de l'urine, *Annales de Chimie*, t. XXXII, p. 152.

et à l'acide acéteux, qui, comme les acides phosphorique et urique, se trouve saturé par cet alcali (1). »

L'étude approfondie qu'ils ont faite de l'urée leur a montré dans les éléments de cette substance une grande mobilité, et ils se sont attachés à mettre en évidence, en l'exagérant encore, la facilité avec laquelle elle se change en carbonate d'ammoniaque sous diverses influences. L'ébullition avec les acides ou les alcalis transforme en effet l'urée en acide carbonique et en ammoniaque. Suivant eux il y a plus : sans que l'affinité chimique intervienne, la simple ébullition de la dissolution peut convertir l'urée; mais ce résultat n'a pas été confirmé.

Un chimiste anglais, W. Prout, qui opérait sur de l'urée très-pure, affirme (2) au contraire qu'elle reste inaltérée dans l'eau bouillante, et les expériences rigoureuses de M. Boussingault ont démontré récemment que la dissolution d'urée n'est pas décomposée par une ébullition rapide, pourvu qu'elle soit régulière et que la flamme ne chauffe pas directement les parois du vase (3). L'erreur de Fourcroy et Vauquelin tenait à l'impureté de l'urée sur laquelle ils opéraient, et qui contenait, de leur propre aveu, de l'acide benzoïque, du chlorhydrate d'ammoniaque, etc.

C'est encore à la même cause qu'il faut attribuer l'altération spontanée qu'ils ont observée sur une dissolution d'urée dans l'eau; cette dissolution, placée dans un flacon mal bouché et abandonnée à une température supérieure à 15 degrés pendant trois mois, a fermenté; des bulles de gaz se sont dégagées, une écume s'est formée à la surface, et la liqueur s'est chargée d'une certaine proportion de carbonate d'ammoniaque : le dégagement gazeux, l'écume, la quantité d'acide acétique formée, prouvent assez que l'urée était impure. Quelques années après (1817), W. Prout a répété cette expérience avec de l'urée pure, et il n'y a pas observé trace de décomposition après plusieurs mois d'exposition à l'air (4). Néanmoins Vauquelin est revenu plus tard (1824) sur ce point important; en opérant sur de l'urée pure, il obtint une formation abondante de carbonate d'ammoniaque, sans dégagement gazeux ni trouble dans la liqueur (5) : mais j'aurai bientôt à reprendre cette expérience pour en montrer l'inexactitude et confirmer l'observation de W. Prout. Quoi qu'il en soit, Fourcroy et Vauquelin avaient conclu de leur expérience que l'urée s'altère dans l'eau beaucoup plus lentement

(1) FOURCROY et VAUQUELIN, Premier Mémoire pour servir à l'histoire naturelle, chimique et médicale de l'urine, *Annales de Chimie*, t. XXXI, p. 57.

(2) W. PROUT, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. X, p. 372; 1819.

(3) BOUSSINGAULT, Recherches sur la quantité d'ammoniaque contenue dans l'urine, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. XXIX, p. 474; 1850.

(4) W. PROUT, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. X, p. 372; 1819.

(5) VAUQUELIN, Note sur la décomposition spontanée de l'urée, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. XXV, p. 423.

que dans l'urine et que, par suite, l'urine doit contenir quelque chose qui facilite la décomposition de l'urée, et en qui réside la cause prochaine de son altération. L'expérience leur montra qu'en ajoutant à la dissolution d'urée impure une certaine quantité d'albumine, la transformation était bien plus rapide et plus complète; ils avaient d'ailleurs, en ajoutant du tannin à l'urine, obtenu un précipité abondant de matière albumineuse. Dès lors l'explication du phénomène leur parut simple : c'est la matière albumineuse qui joue vis-à-vis de l'urée, dans l'altération spontanée de ce liquide, le rôle de ferment; c'est par elle que la destruction de l'urée s'opère. La transformation de l'urée dans l'urine est donc une *fermentation*, « et cette décomposition spontanée de l'urée par une véritable fermentation est à la fois une fermentation acide et une fermentation putride (1). » Il y a en effet formation d'acide carbonique et d'ammoniaque, mais ils se trompent en croyant qu'il se forme en outre une quantité considérable d'acide acétique. Quant à la matière gélatineuse qui constitue le ferment, elle est, suivant eux, dissoute dans l'urine fraîche à la faveur de l'acidité que lui communique le phosphate acide de chaux; dès que l'urée s'altère et donne de l'ammoniaque, cet alcali sature l'excès d'acide, précipite les phosphates, et avec eux la matière gélatineuse, qui trouble l'urine dès qu'elle devient ammoniacale, de sorte que le ferment d'abord dissous se précipite peu à peu à mesure que la quantité d'ammoniaque augmente. C'est ainsi que Fourcroy et Vauquelin comprenaient l'altération spontanée de l'urine.

Vers la même époque, une expérience due à Proust introduisit dans la question un élément nouveau : la nécessité du concours de l'oxygène. « J'ai gardé pendant six ans (1794-1800), dit ce chimiste, un flacon d'urine plein et bouché en cristal; elle n'a éprouvé d'autre changement, durant tout cet intervalle, que celui de se foncer un peu en couleur : le dépôt se fit comme à l'ordinaire; du reste, l'odeur s'en conserva fraîche et sans donner trace d'ammoniaque. Il résulte de là que, quand on soustrait les urines à l'impression de l'air, qu'on supprime par conséquent la part qu'y prend l'oxygène atmosphérique, elles peuvent se garder longtemps, et traverser les alternatives de la température ordinaire sans changer d'état (2). »

Les célèbres expériences de Gay-Lussac confirmèrent et étendirent plus tard ce résultat. « Lorsqu'on laisse l'urine en contact avec une petite quantité d'air, dit Gay-Lussac, elle absorbe l'oxygène assez promptement, et sa décomposition s'ar-

(1) FOURCROY et VAUQUELIN, Deuxième Mémoire pour servir à l'histoire naturelle, chimique et médicale de l'urine, *Annales de Chimie*, t. XXXII, p. 103.

(2) L. PROUST, Faits pour la connaissance des urines et des calculs, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. XIV, p. 259.

rète; mais, si on lui en donne une quantité suffisante, il se forme beaucoup de carbonate d'ammoniaque, et il se dépose presque toujours avec le phosphate de chaux du phosphate ammoniaco-magnésien. »

M. Dumas essaye de préciser davantage le rôle de l'oxygène. « Gay-Lussac, dit-il, a prouvé que le concours de l'oxygène est nécessaire pour que la putréfaction puisse se manifester dans l'urine. Conservée à l'abri de l'air, dans des vases bien bouchés, elle ne perd ni sa transparence, ni son acidité, ni son odeur, et ne laisse déposer qu'un peu d'acide urique. Mais, dès qu'on la laisse en contact avec l'oxygène, ce gaz est absorbé et détermine une véritable fermentation. On peut admettre qu'en se fixant sur les matières extractives azotées que l'urine renferme, et peut-être sur la matière colorante, comme le pense M. Liebig, l'oxygène transforme ces substances en ferments azotés qui se déposent à l'état insoluble. Sous l'influence de ces ferments, l'urée se transforme rapidement en carbonate d'ammoniaque en fixant les éléments de l'eau (1). »

L'oxygène était donc regardé comme l'excitant nécessaire et suffisant de la transformation de l'urée; et, à cet égard, ce phénomène a subi le sort commun de toutes les fermentations. Les expériences de Gay-Lussac ont exercé sur les esprits une influence considérable, et, mal interprétées par leur auteur, elles ont fait méconnaître le véritable rôle de l'oxygène jusqu'au jour où M. Pasteur a démontré que ce gaz, en tant qu'oxygène, ne provoque jamais l'altération des liquides putrescibles, et qu'il n'agit ainsi que quand il est le véhicule des poussières de l'air, lesquelles contiennent toujours les germes féconds des êtres microscopiques.

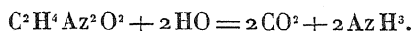
Quoi qu'il en soit, dans les idées où l'on était alors, M. Dumas, reconnaissant que cette altération de l'urée, sous l'influence d'un ferment azoté, pour la formation duquel l'air est nécessaire, réunit tous les caractères des fermentations, la sépara le premier des phénomènes de putréfaction avec lesquels on l'avait jusqu'à confondue, la considéra comme une fermentation distincte, et la rangea à ce titre sous le nom de *fermentation ammoniacale* dans son *Traité de Chimie*.

Dans un travail antérieur (2), cet illustre chimiste a le premier fixé l'équation exacte, vainement cherchée par Vauquelin, suivant laquelle l'urée se change en acide carbonique et en ammoniaque sous l'influence des acides et des alcalis, et, par suite, dans sa décomposition spontanée. Il montre 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 comme 1 est à 2: ce qui prouve que c'est le sous-carbonate d'ammoniaque qui prend seul naissance dans ces réactions

(1) DUMAS, *Traité de Chimie*, t. VIII, p. 538.

(2) DUMAS, Sur la composition de l'urée, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. XLIV, p. 273; 1830.

et qu'il ne se forme pas d'acide acétique comme on l'avait cru longtemps. Or, si du sous-carbonate d'ammoniaque on retranche l'urée, il reste 4 équivalents d'eau, et, comme le sel ammoniacal en contient 2, on peut dire que c'est en s'assimilant 2 équivalents d'eau que l'urée se change en acide carbonique et en ammoniaque :



Se fondant ensuite sur cette réaction, M. Dumas rapproche l'urée de l'oxamide, qu'il venait de découvrir, et la range à côté de ce premier type dans le groupe aujourd'hui si nombreux des *amides*, rapprochement que tout a confirmé depuis.

Après avoir classé la transformation de l'urée parmi les fermentations proprement dites, M. Dumas en fait comprendre toute l'importance. « La fermentation de l'urée, dit-il, joue à coup sûr un grand rôle dans les phénomènes par lesquels la vie végétale et la vie animale se prêtent une mutuelle assistance. C'est en se convertissant en carbonate d'ammoniaque par la fermentation que l'urée devient propre à servir d'aliment aux plantes, et c'est par le concours du mucus que l'urine renferme, et qui se convertit en ferment, que la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque s'opère; de telle sorte que l'urée constitue un corps neutre et innocent tant qu'elle séjourne dans la vessie urinaire, et se convertit en un produit volatil et alcalin dès qu'elle est abandonnée à l'air (1) »

D'après les vues de l'illustre chimiste, cette fermentation a été l'objet d'une série d'expériences accomplies dans son laboratoire par un de ses élèves, M. Jacquemart (2); elles ont conduit aux résultats suivants. Même à une température de 22 degrés, il faut à l'urine exposée à l'air un temps considérable pour fermenter; après quatorze jours, la fermentation n'est pas complète. Une addition de levûre de bière accélère la fermentation, bien que la levûre, mise en contact avec une dissolution d'urée, ne la décompose pas; la colle forte et le carbonate d'ammoniaque agissent dans le même sens avec moins d'efficacité. En ajoutant à l'urine fraîche une petite quantité d'urine entièrement décomposée, la fermentation est achevée dès le troisième jour. Après avoir fait séjourner de l'urine fraîche pendant vingt minutes dans les vases déposés dans les lieux publics pour recevoir les urines, on la filtra à plusieurs reprises et on la mêla à de l'urine fraîche; le premier jour, le liquide se troubla fortement, et le surlendemain la fermentation était complète. Le dépôt blanc qui se forme dans les vases où l'on recueille les urines paraît être le plus énergique des agents de décomposition; recueilli sur un filtre et ajouté à de l'urine fraîche, il la décompose entièrement en vingt-quatre heures. Quant au procédé suivi pour déterminer à un moment donné l'état de fermenta-

(1) DUMAS, *Traité de Chimie*, t. VI, p. 380.

(2) JACQUEMART, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. VII, p. 149, 1843; et *Traité de Chimie*, de DUMAS, t. VI, p. 381.

tion du liquide, il consistait à faire passer dans un tube gradué sur la cuve à mercure un volume connu d'urine, puis un volume connu d'acide sulfurique étendu; le volume de gaz acide carbonique qui se dégage par l'agitation du mélange fait connaître approximativement l'état d'altération du liquide.

Mais ce travail, tout en montrant que le dépôt blanc des urines altérées est le plus actif des agents de décomposition, non-seulement laisse indéterminés le mode d'action et la nature de ce ferment, qu'il regarde comme une matière amorphe et morte, mais affirme encore sa multiplicité; la levûre de bière, la colle forte, l'urine qui a séjourné sur le dépôt, et qui a été filtrée plusieurs fois, paraissent capables, tout comme ce dépôt, quoique à un degré moindre, de décomposer l'urée. Enfin, la différence d'action de la levûre de bière sur la solution aqueuse d'urée et sur l'urine y est signalée comme une chose singulière mais nullement expliquée; je donnerai dans le cours de ce travail l'exacte interprétation de ces expériences.

C'est M. Pasteur qui a mis la question sur son véritable terrain, et qui en a indiqué la solution. Tout en établissant, dans son Mémoire sur les générations dites spontanées, que l'origine des ferments réside non pas dans l'oxygène, mais dans les germes féconds des poussières de l'air, il y fait connaître en passant la vraie nature du ferment de l'urée. Voici en quels termes il s'exprime, après avoir examiné diverses productions organisées de l'urine : « Quant au dépôt qui prend naissance au fond et sur les parois d'un vase d'urine exposée à l'air, il renferme, outre les productions tombées de la surface, des cristaux de nature variable; mais ce que je veux surtout faire remarquer, c'est l'existence d'une torulacée en chapelets de très-petits grains toutes les fois que la liqueur est devenue ammoniacale par la transformation de l'urée. Je suis très-porté à croire que cette production constitue un ferment organisé, et qu'il n'y a jamais transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque sans la présence et le développement de ce petit végétal. Cependant, mes expériences sur ce point n'étant pas achevées, je dois mettre quelque réserve dans mon opinion. » Et plus loin, analysant les productions organisées qu'a développées dans l'urine l'introduction des poussières de l'air, l'auteur ajoute : « Il y avait en outre la torulacée en petits grains réunis sous forme de courts chapelets.... Le diamètre de ces grains était de $0^{\text{mm}},0015$ environ. C'est le ferment organisé que je regarde comme le ferment de l'urine, c'est-à-dire celui qui transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque, et qui, ultérieurement, par le fait de l'alcalinité qui en résulte, amène le dépôt des urates alcalins et du phosphate ammoniaco-magnésien (1). »

(1) PASTEUR, Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LXIV.

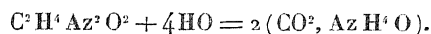
Une observation microscopique de certains dépôts de l'urine a été faite, quelques années avant les expé-

D'après les conseils de M. Pasteur, j'ai entrepris de compléter la solution qu'il n'avait fait qu'indiquer. J'apporte, dans la première Partie de ce travail, la démonstration expérimentale de la corrélation constante et nécessaire qui existe entre la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque à la température ordinaire et la vie et le développement d'une production organisée végétale qui constitue, à l'exclusion de toute autre, le ferment de l'urée.

Dosage de l'ammoniaque et de l'urée.

Avant d'entrer dans le détail des expériences et des résultats auxquels elles conduisent, je dois indiquer, pour n'avoir plus à y revenir, les procédés que j'ai employés pour suivre une fermentation ammoniacale depuis son origine jusqu'à son entier achèvement.

On sait que l'urée se change en carbonate d'ammoniaque en fixant les éléments de l'eau d'après l'équation suivante :



Pour connaître l'état où se trouve, à un moment donné, un liquide où l'urée fermente, il suffit donc de déterminer la quantité de carbonate d'ammoniaque contenue dans une portion connue du liquide; on en déduira la proportion d'urée disparue et celle qui reste dans la liqueur. Dans un certain nombre de cas, il est pourtant nécessaire de connaître directement la quantité d'urée que contient le liquide. Je vais donc rappeler brièvement le dosage de l'ammoniaque et celui de l'urée, dans leur application à la question actuelle.

Dosage de l'ammoniaque à l'état de carbonate. — J'ai employé la méthode précise et rapide des liqueurs titrées. On dose l'ammoniaque en introduisant dans une portion connue du liquide fermenté un volume connu d'acide sulfurique titré suffisant pour qu'il y en ait en excès; l'acide carbonique se dégage; puis on cherche quel est le volume d'une liqueur alcaline titrée nécessaire pour compléter la saturation de l'acide commencée par l'ammoniaque. La liqueur acide s'obtient, à la

riences de M. Jacquemart, par M. Quevenne, dans ses Recherches sur le ferment alcoolique (*Journal de Pharmacie*, t. XXIV, p. 228; 1838) : après avoir établi l'identité de tous les ferments qui produisent, dans les circonstances les plus diverses, l'alcoolisation du sucre, l'auteur ajoute : « Des globules du même aspect que ceux-ci peuvent prendre naissance dans des circonstances indépendantes de la fermentation alcoolique. Ainsi on voit se développer dans les urines abandonnées à elles-mêmes et n'indiquant pas la moindre trace de sucre des globules blancs, ovoïdes, à cercle noir, ayant exactement l'aspect et les dimensions de ceux du ferment, et en possédant aussi les principales propriétés chimiques. » L'observation est exacte en elle-même, mais on n'en pouvait conclure, pas plus que l'auteur ne l'a fait lui-même, que ce fût là le ferment de l'urée : je montrerai plus loin que ce n'est en effet qu'une production accidentelle.

manière de M. Peligot, en pesant 61^{gr},250 d'acide sulfurique distillé, bouilli dans une capsule de platine et refroidi sous une couche de verre; on l'étend d'eau de façon à en faire un litre; 1 centimètre cube de cette liqueur correspond à 0^{gr},0212 d'ammoniaque.

On prépare la liqueur alcaline en dissolvant de la potasse à la chaux dans de l'eau distillée et en l'étendant de manière qu'un volume de liqueur acide exige pour être saturé environ six volumes de liqueur alcaline. On titre d'ailleurs exactement celle-ci avec la liqueur acide; la dissolution de potasse la plus fréquemment employée était telle, qu'il en fallait 66 centimètres cubes pour faire virer au bleu 10 centimètres cubes de liqueur acide additionnés de quelques gouttes de tournesol; 6^{cc},6 de cette dissolution équivalent donc à 0^{gr},0212 d'ammoniaque.

Ceci posé, je suppose qu'on veuille déterminer, à un moment donné, la quantité de carbonate d'ammoniaque contenue dans un liquide où l'urée fermente. On en retire avec une pipette graduée 5 centimètres cubes qu'on verse dans un verre à pied; on y ajoute avec un tube gradué un nombre n de centimètres cubes de liqueur acide, suffisant pour que, tout dégagement gazeux ayant cessé, quelques gouttes de tournesol ajoutées au liquide se colorent en rouge; on verse ensuite avec une burette graduée la dissolution alcaline jusqu'à faire virer au bleu le tournesol rouge. Soit p le nombre de centimètres cubes employés; la saturation de l'acide commencée par l'ammoniaque a été complétée par ce volume de liqueur alcaline: la quantité d'ammoniaque contenue dans les 5 centimètres cubes essayés s'obtiendra donc en calculant l'expression

$$A = (n \times 6,6 - p) \frac{0,212}{66} = 0,0032 (n \times 6,6 - p).$$

De cette quantité d'ammoniaque on déduit la quantité d'urée disparue, $u = A \frac{60}{34}$ et, par suite, celle qui reste, $U - u$; on connaît donc complètement l'état de fermentation du liquide.

Dosage de l'urée. — J'ai appliqué au dosage de l'urée dans ces expériences, toutes les fois qu'il a fallu le faire directement, le procédé des liqueurs titrées dû à M. Liebig (1). Le principe en est qu'une dissolution de nitrate mercurique donne dans une dissolution d'urée un précipité blanc d'un composé d'urée et d'oxyde de mercure $U + 4\text{HgO}$. Si donc, connaissant le titre de la solution mercurique, on n'en verse que ce qui est nécessaire à la précipitation complète de l'urée, la quantité qu'on en aura employée donnera, par un calcul très-simple, la proportion d'urée qui existe dans le liquide; le moyen le plus commode de saisir

(1) LIEBIG, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. XXIX, p. 105.

le moment où toute l'urée est précipitée est de traiter de temps en temps quelques gouttes du mélange dans un verre de montre par quelques gouttes d'une dissolution de carbonate de soude : dès qu'il y a un léger excès d'oxyde de mercure, le carbonate de soude donne un précipité jaune.

La dissolution de nitrate de mercure est préparée en dissolvant 100 grammes de mercure pur dans un excès d'acide nitrique pur, évaporant à consistance sirupeuse et ajoutant de l'eau distillée de manière à former environ 1350 centimètres cubes ; on prend ensuite le titre exact de cette liqueur avec une solution normale d'urée contenant 2 grammes d'urée dans 100 centimètres cubes : la dissolution de nitrate que j'ai employée était telle, que, pour précipiter toute l'urée contenue dans 20 centimètres cubes de liqueur normale, c'est-à-dire 0^{gr},400, il en fallait ajouter 38 centimètres cubes. Il en résulte que si, à 10 centimètres cubes d'un liquide contenant de l'urée, il faut ajouter, pour obtenir la coloration jaune, 17 centimètres cubes de liqueur mercurique, ces 10 centimètres cubes contiendront $17 \times \frac{400}{38} = 178^{\text{mgr}}, 5$ d'urée.

Le dosage ne se fait aussi simplement que quand le titre du liquide essayé n'est pas trop éloigné de celui de la solution normale qui a servi à titrer la liqueur mercurique ; car la coloration jaune n'est donnée par le carbonate de soude que lorsqu'il y a déjà dans la liqueur un petit excès d'oxyde de mercure, 3^{mgr},5 par centimètre cube suivant M. Liebig : de sorte que si le titre est inférieur à 2 pour 100, il faudra une plus grande quantité de nitrate, et on en déduira une proportion d'urée trop forte ; le contraire aura lieu si le titre est supérieur à 2 pour 100. Mais il est facile d'arriver, dans tous les cas, par un calcul simple à la détermination exacte de l'urée (1).

Lorsque l'urée est dissoute, non plus dans l'eau, mais dans l'urine ou dans d'autres liquides contenant comme elle des phosphates et des matières albuminoïdes, il faut commencer par ajouter au liquide à essayer un volume connu d'un mélange à volumes égaux d'eau de baryte et de solution saturée de nitrate de ba-

(1) D'après M. Liebig, pour que 10 centimètres cubes de solution mercurique donnent la coloration jaune avec 100 milligrammes d'urée, il faut qu'ils contiennent 772 milligrammes d'oxyde, tandis que 720 suffiraient d'après le calcul : excès, 52 milligrammes ; chaque centimètre cube de liqueur titrée doit donc contenir un excès de 5^{mgr},2 d'oxyde, qui sert à manifester la coloration jaune. Pour la liqueur dont je me suis servi, 9^{cc},5 suffisent pour donner le jaune, quand le titre est 2 pour 100 : chaque centimètre cube contient donc 81^{mgr},2 dont 76 milligrammes seulement sont combinés à l'urée. Dès lors je suppose qu'à 10 centimètres cubes de liquide fermenté il ait fallu ajouter 2^{cc},7 de nitrate pour arriver au jaune. Le liquide doit contenir $3^{\text{mgr}}, 5 \times 12,7 = 44^{\text{mgr}}, 45$ d'oxyde non combiné ; les 2^{cc},7 de nitrate en contiennent $2,7 \times 81,2 = 219^{\text{mgr}}, 2$: 174^{mgr},8 sont donc combinés. A combien d'urée cela correspond-il ? 720 milligrammes d'oxyde correspondant à 100 milligrammes d'urée, 174^{mgr},8 correspondent à 24^{mgr},3. Les 10 centimètres cubes essayés contiennent donc 24^{mgr},3 d'urée ; nous aurions trouvé 28^{mgr},4 en ne tenant pas compte de la concentration de la liqueur, qui n'est ici que de 0^{gr},25 pour 100.

ryte; la baryte y donne un abondant précipité, et on exécute le dosage sur une portion du liquide filtré.

Il faut aussi que le liquide ne contienne pas de carbonate d'ammoniaque, car l'ammoniaque donne dans la liqueur titrée un précipité blanc de sous-nitrate de mercure; et comme la présence de cet alcali est le cas habituel dans ces expériences, il faut d'abord l'éliminer. Le moyen le plus simple est de faire bouillir 20 centimètres cubes de la liqueur à essayer dans un petit ballon relié à un aspirateur, en faisant traverser le liquide par un courant d'air rapide qui entraîne le carbonate d'ammoniaque; au sortir du liquide l'air traverse, avant de se rendre à l'aspirateur, une éprouvette contenant un volume connu d'acide sulfurique titré qui absorbe l'ammoniaque et en fait connaître la quantité par la variation de titre qu'il éprouve. Quand la liqueur est neutre, on y dose l'urée comme il a été indiqué; il faut avoir soin de ménager l'ébullition pour ne pas transformer l'urée : je me suis assuré d'ailleurs que l'ébullition avec une petite quantité de carbonate d'ammoniaque n'altère pas l'urée.

L'urée ne se transforme pas spontanément dans l'eau.

Il importait de vérifier, au début de ce travail, si l'urée pure dissoute dans l'eau distillée se transforme spontanément, à l'abri de l'air, en carbonate d'ammoniaque, comme paraît l'établir l'expérience de Vauquelin que j'ai signalée plus haut. Dans une Note (1) sur ce sujet (1824), ce chimiste décrit une expérience dans laquelle de l'urée pure dissoute dans l'eau distillée, enfermée dans un flacon parfaitement bouché, s'est transformée peu à peu en carbonate d'ammoniaque; en moins de quatre mois, plus des trois quarts de l'urée avaient disparu : mais, en dosant le carbonate d'ammoniaque formé, il trouve un poids inférieur à celui de l'urée disparue, et les efforts qu'il fait pour s'expliquer d'après cela la manière dont la transformation s'est réalisée restent impuissants. Bien démontrée, cette transformation spontanée de l'urée dans l'eau aurait eu une importance qui n'avait pas échappé à Vauquelin. Mais deux expériences antérieures avaient conduit leurs auteurs à la conclusion opposée. W. Prout a vu une dissolution aqueuse d'urée pure se conserver inaltérée, pendant plusieurs mois, même au contact de l'air; et Proust a pu garder pendant six années un flacon plein d'urine, et qu'il ouvrait de temps en temps, sans qu'elle subit la moindre altération : nul doute que si l'urée se transformait dans l'eau en l'absence de toute force étrangère à la dissolution, cette altération ne se manifestât de préférence dans l'urine, qui est le milieu le plus favorable à sa décomposition.

(1) VAUQUELIN, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. XXV, p. 423.

Quoi qu'il en soit, il est certain que l'expérience de Vauquelin a accrédité l'opinion que l'urée se transforme dans l'eau, opinion reproduite dans tous les Traités de Chimie. J'ai répété cette expérience avec de l'urée très-pure, en me mettant dans des conditions identiques à celles de Vauquelin, et j'ai toujours obtenu des résultats négatifs. Je n'en citerai qu'un exemple. Le 28 juillet 1863, je dissous dans 200 centimètres cubes d'eau distillée 2 grammes d'urée; le liquide remplit entièrement un flacon bouché avec soin et maintenu à l'étuve à une température de 30 à 32 degrés; examiné le 10 avril 1864, le liquide est neutre, limpide, il s'y est développé quelques très-petits flocons blancs qui sont tombés au fond; 5 centimètres cubes exigent pour jaunir 4^{cc},9 de liqueur mercurique, ce qui correspond à 0^{gr},050 d'urée. Il n'y a donc pas eu transformation appréciable de l'urée pendant huit mois et demi de séjour à l'étuve.

L'expérience suivante montre d'ailleurs que, même dans un vase ouvert à l'air, la décomposition de l'urée est encore négligeable après un temps très-long. Le 4 août 1862, on abandonne, dans un vase recouvert seulement d'une feuille de papier, une dissolution de 4 grammes d'urée dans 200 centimètres cubes d'eau. Un an après, le 3 août 1863, le liquide est neutre, il s'y est développé quelques petits flocons de mycélium; on ramène son volume à 200 centimètres cubes, et la moyenne de plusieurs essais montre que 10 centimètres cubes exigent 19 centimètres cubes de liqueur mercurique, ce qui correspond exactement à 0^{gr},200 d'urée; il n'a donc pas disparu d'urée pendant un an d'exposition à l'air; dans cet intervalle, la température a varié de 15 à 25 degrés.

Ces expériences viennent donc confirmer les observations de W. Prout et de Proust.

Il y a d'ailleurs, dans l'expérience de Vauquelin, une autre circonstance incompatible avec l'exactitude de son résultat. Des 2 grammes d'urée qu'il emploie, 1^{gr},58 se sont transformés en donnant 0^{gr},74 de carbonate d'ammoniaque. Si la décomposition eût été complète, on aurait donc obtenu 0^{gr},93 de carbonate, c'est-à-dire que, pendant la conversion, il y aurait perte de plus de moitié: or nous savons que dans cette transformation 2 grammes d'urée donnent 3^{gr},2 de carbonate; il y a augmentation considérable de poids. Ce résultat embarrasse Vauquelin; ne pouvant en trouver la cause dans la quantité très-minime d'eau de cristallisation que l'urée renferme, il a recours à cette singulière explication: « Sans doute il s'est formé de l'eau que nous n'avons pu apprécier; mais l'urée ne contient pas assez d'oxygène pour convertir tout son charbon en acide carbonique et une partie de son hydrogène en eau. Il faut donc admettre dans cette décomposition l'intervention de l'eau dont l'oxygène se serait porté exclusivement sur l'hydrogène de l'urée et son hydrogène sur l'azote; car si la décomposition de l'eau avait lieu d'une manière inverse, nous aurions une augmentation de poids dans les produits au lieu d'une

perte (1). » Le résultat singulier de cette expérience ne peut s'expliquer que par l'impureté de l'urée employée.

Il est donc certain que la cause prochaine de la transformation de l'urée ne réside pas dans une vague « tendance à fermenter inhérente à sa nature, » suivant l'expression de Proust, ni dans le milieu où elle est dissoute, ni dans la température quand celle-ci n'est pas supérieure à 100 degrés; il y a donc beaucoup à rabattre de l'idée exagérée que Fourcroy et Vauquelin s'étaient faite de l'excessive mobilité des éléments de l'urée. L'urée ne se décompose que sous des influences parfaitement définies :

- 1° Une température de 140 degrés dans un tube fermé;
 - 2° L'ébullition avec les acides et les alcalis;
 - 3° L'action d'un ferment spécial.
- C'est l'action de ce ferment que nous allons étudier maintenant.

Observations sur les divers modes d'altération de l'urine.

La première question est la détermination exacte du ferment; elle ne peut être résolue que par une série d'observations suivies sur l'altération de l'urine, dans lesquelles on s'assurera de la présence constante du même ferment chaque fois que l'urée se décompose, et de son absence quand elle reste inaltérée.

M. Pasteur, dans son Mémoire sur les corpuscules organisés de l'atmosphère, a fait le premier, sur l'altération spontanée de l'urine, une série d'observations microscopiques, qu'il résume ainsi :

« On sait avec quelle facilité l'urine fraîche s'altère au contact de l'air atmosphérique. Le plus souvent elle perd son acidité, se trouble, répand une forte odeur ammoniacale et dépose des cristaux de diverses natures. Une étude microscopique attentive permet de reconnaître que le trouble de la liqueur, le dépôt qui se forme au fond du vase, la pellicule qui souvent recouvre peu à peu toute la surface du liquide sont constitués par des productions organisées. Voici les plus fréquentes : la pellicule de la surface du liquide est souvent une membrane mucorée formée de granulations ou mieux d'articles d'une extrême ténuité, on dirait des amas de *bacterium termo* sans mouvement. Cela paraît d'autant plus probable, que dans cette même pellicule fourmille cet infusoire, outre de petites monades se mouvant circulairement avec rapidité. Cette pellicule membraneuse tombe en tout ou en partie dès qu'elle devient assez lourde en quelques points, puis une nouvelle se reforme, laquelle tombe à son tour : de là l'origine de certains dépôts de l'urine en voie d'altération.

» D'autres fois, il se développe à la surface de l'urine des îlots de mucédinées,

(1) VAUQUELIN, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. XXV, p. 426.

surtout le *penicillium glaucum*, qui ne s'y propage cependant que péniblement sans y prendre sa couleur vert-bleuâtre bien franche.

» Enfin, lorsque la température ambiante ne s'élève pas à plus de 15 degrés, l'urine se couvre assez fréquemment d'une pellicule contenue, difficile à déchirer, et qui se reforme aussitôt sans solution de continuité dès que l'on retire la baguette de verre avec laquelle on essaye de disjoindre ses parties.

» Lorsque cette pellicule prend naissance, il arrive assez souvent que l'urine reste acide et ne se trouble pas sensiblement. Cette pellicule est formée par une mucorée remarquable. Ce sont des cellules translucides où le noyau est rarement apparent, se multipliant par bourgeonnement. Le diamètre des cellules varie de 0^{mm},0045 à 0^{mm},0065, sensiblement plus petit que celui des globules de levûre de bière (1). »

M. Pasteur ajoute ensuite, dans les lignes que j'ai déjà citées plus haut, que le dépôt du fond est surtout formé d'un mélange de cristaux et d'une petite torulacée qu'il regarde comme le ferment de l'urée.

Guidé par ces premiers résultats, j'ai fait une série d'observations suivies sur les productions organisées qui se développent dans l'urine exposée à l'air dans des circonstances diverses, afin de m'assurer de la constance du développement de cette petite torulacée chaque fois que l'urée se transforme. Ces observations m'ont conduit à confirmer le résultat général prévu par M. Pasteur. Ne pouvant entrer dans le détail de ces nombreuses études microscopiques, je me bornerai à citer quelques exemples propres à manifester le phénomène dans ses conditions les plus diverses et les plus caractéristiques.

1. Le 19 juillet 1863, 200 centimètres cubes d'urine fraîche sont abandonnés à l'air dans une large éprouvette à pied, recouverte d'une feuille de papier; ce liquide montre dès le lendemain à sa surface une couche de cristaux lenticulaires d'acide urique; les jours suivants ces cristaux augmentent, le liquide se fonce en couleur et l'acidité se maintient; le 26, il est encore limpide, acide, mais le microscope y montre déjà quelques petits globules en chapelets; le 28, le liquide est bien alcalin, un peu trouble, et une goutte contient beaucoup de longs chapelets de petits globules; l'acide urique a disparu, il est remplacé par les urates de soude et d'ammoniaque, le phosphate de chaux et les cristaux de phosphate ammoniacomagnésien; les jours suivants, la quantité d'ammoniaque augmente, et le 31 juillet la fermentation est terminée.

Le phénomène a été dans ce cas aussi simple que possible; une seule production organisée a pris naissance dans le liquide, c'est la petite torulacée en chapelets; elle y est apparue quand l'urine était encore acide et, s'y développant peu à peu,

(1) PASTEUR, Mémoire sur les corpuscules organisés, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LXIV.

elle a fini par remplir tout le liquide de ses longs filaments, en le troublant légèrement; en même temps l'urine est devenue neutre d'abord, puis alcaline en déposant de nombreux cristaux, puis son alcalinité a augmenté rapidement jusqu'à la disparition totale de l'urée; ensuite torulacée et cristaux se sont rassemblés au fond du vase, où ils constituent avec le précipité muqueux primitif un dépôt blanchâtre, et le liquide a repris sa limpidité. Quant au changement de couleur de l'urine, il est produit par la formation d'un composé d'oxydation coloré, comme M. Boussingault l'a montré pour les urines des herbivores; car, dans un vase étroit et profond, l'urine se colore en rouge de plus en plus foncé à partir de la surface, et la coloration se propage de haut en bas; dans un flacon plein et bouché, l'urine conserve sa couleur. C'est là l'explication de l'absorption d'oxygène remarquée par Gay-Lussac; elle n'a aucun rapport avec la fermentation de l'urée.

Mais c'est là, pour ainsi dire, une expérience type qui ne se réalise qu'accidentellement dans ces conditions. L'urine étant éminemment propre au développement des êtres microscopiques, il arrive le plus souvent que des infusoires prennent naissance dans la liqueur qu'ils troublent, et que des productions végétales en recouvrent la surface. Suivant le degré de développement que prendront ces organismes étrangers et la rapidité avec laquelle ils envahiront la liqueur, le développement de la petite torulacée se trouvera plus ou moins ralenti, quelquefois même empêché, et nous verrons en même temps la transformation ordinaire de l'urée être retardée d'autant, et ne se faire parfois qu'au bout d'un temps très-long. On en jugera par les exemples suivants.

2. Le 15 juillet 1862, j'abandonne dans un vase ouvert à l'air 200 centimètres cubes d'urine fraîche pâle; le 18, le liquide est encore limpide et sa couleur s'est foncée en devenant rougeâtre par l'effet de l'oxydation; le lendemain il se trouble fortement en reprenant sa couleur pâle primitive; il y pullule une énorme quantité d'infusoires, monades et bactériums, qui par l'effet de leur respiration ont repris tout l'oxygène absorbé par l'urine, en lui rendant sa couleur; le 21, le liquide est neutre et on y voit beaucoup de chapelets et de petits amas de globules; le 26, la fermentation est achevée: il s'est développé, cette fois, avec la petite torulacée, une grande quantité d'infusoires, sans que pour cela la marche de la fermentation ait été notablement retardée; cet exemple représente assez bien le mode le plus général d'altération de l'urine abandonnée à l'air.

3. Mais il en est souvent tout autrement. Le 15 juillet, je verse dans un vase ouvert et placé à côté du précédent 200 centimètres cubes d'urine provenant de la même source et recueillie en même temps; le 18, le liquide est jaune pâle, fortement troublé par les infusoires qui y pullulent; à sa surface se développent des îlots de *penicillium*, reliés entre eux par une pellicule friable et granuleuse; le 21, le liquide est neutre, et on y voit, au fond, un assez grand nombre de chapelets de

torulacée; le 30, il acquiert une odeur fétide et contient, outre les productions précédentes, de longs vibrions et plusieurs espèces de mycodermes en articles allongés; il est d'ailleurs à peine alcalin; le 1^{er} août, l'acide chlorhydrique commence à dégager quelques bulles d'acide carbonique, ce dégagement reste très-faible jusqu'au 6 août; il augmente ensuite, mais ce n'est que vers le 20 août que la fermentation paraît achevée.

Bien que la transformation ait fini par se produire dans ce liquide, avec développement de la petite torulacée qu'on n'a pas cessé d'y voir à partir du sixième jour, il est évident qu'elle y a été considérablement ralentie par le développement d'une foule d'autres productions : penicillium, mucors, mycodermes divers, infusoires de plusieurs espèces qui ont envahi la liqueur et lui ont donné une odeur fétide; l'oxygène absorbé à mesure par ses productions ne pouvant exercer sur la matière colorante de l'urine son action ordinaire, celle-ci reste jaune pâle : cette remarque permet de distinguer au premier coup d'œil, dans une série d'échantillons d'urine abandonnée à l'air, ceux dont l'altération suit une marche rapide de ceux où elle subit des retards.

4. Enfin, il y a des cas où la fermentation de l'urée dans l'urine se trouve non-seulement ralentie, mais empêchée ou tout au moins suspendue pour un temps très-long; l'urine reste acide, il s'y développe différentes productions organisées, mais on n'y voit pas apparaître la petite torulacée.

Le 15 mars 1863, de l'urine est abandonnée dans un vase ouvert à l'air; le 25, le liquide est acide, pâle, troublé par des infusoires, et sa surface est recouverte par un voile mince très-peu friable qui relie entre eux quelques îlots de penicillium.

Ce voile est formé de globules sphériques, sans granulations, bourgeonnant et dont le diamètre est environ $0^{\text{mm}},004$; c'est la pellicule mucorée signalée par M. Pasteur; les jours suivants, le penicillium envahit peu à peu la surface, et le 15 avril le liquide est acide comme au premier jour. J'ai en vain cherché, pendant tout ce temps, à rencontrer dans la liqueur les petits globules de torulacée; ils n'y existent pas.

L'exemple suivant montrera mieux encore la variété des productions organisées qui se développent sur l'urine qui se maintient accidentellement acide.

Le 16 octobre 1863, j'abandonne à l'air 200 centimètres cubes d'urine fraîche; le 21, elle est limpide, acide; sa surface est recouverte d'un voile mince adhérent au verre et grimpant le long des parois, constitué par des bâtonnets sans granulations rangés parallèlement les uns aux autres; leur longueur est environ $0^{\text{mm}},005$; leur diamètre transversal est de $0^{\text{mm}},0015$ environ (*fig. 1, a, Pl. III*); çà et là quelques flocons de penicillium. Le 2 novembre, les îlots de penicillium se sont développés; ils sont réunis par une pellicule toute différente de la précédente et formée de plusieurs espèces de globules : 1° des globules ovoïdes allongés, granu-

leux, dont les dimensions sont $0^{\text{mm}},005$ et $0^{\text{mm}},011$ (*b*); 2° des globules sphériques ou légèrement ovoïdes sans granulations et dont le diamètre est le plus souvent $0^{\text{mm}},004$, identiques à la mucorée de l'exemple précédent (*c*) (1); 3° des globules parfaitement sphériques (*d*) plus petits, ayant un granule noir au centre ($d = 0^{\text{mm}},0022$); pas d'infusoires dans le liquide; pas de globules de la petite torulacée. Le 10 novembre, le liquide présente le même aspect, mais on commence à y voir, au fond, des chapelets de petits globules; le 12, il est alcalin, laisse déposer des cristaux, et on y trouve un dépôt formé d'innombrables chapelets de torulacée mêlés aux productions tombées de la surface: les jours suivants, la fermentation se poursuit avec ses caractères habituels, mais plus lentement que si la petite torulacée y était seule. Ainsi, dans certains cas, l'urine peut rester longtemps acide, mais c'est qu'alors la petite torulacée ne s'y développe pas, et dès qu'elle y apparaîtrait, ce qui arrive tôt ou tard, c'est le signal de l'altération prochaine de l'urée.

La conclusion générale des observations dont je viens de citer quelques exemples, c'est que toutes les fois qu'il y a transformation de l'urée dans l'urine abandonnée à l'air, il y a en même temps dans le liquide un petit végétal particulier qui vit et se développe; ses globules y apparaissent alors que le liquide est encore acide, et il est la cause prochaine de tous les changements successifs qui vont s'y produire. Chaque fois que cet organisme se développe seul, la conversion de l'urée est rapide, et le mélange de ses globules et de cristaux constitue exclusivement le dépôt qui se forme au fond des vases: l'apparition d'infusoires ne fait que retarder un peu la fermentation; mais s'ils sont en trop grand nombre, et surtout s'il se développe, en même temps que la torulacée, d'autres productions végétales qui lui nuisent et étouffent son développement, la conversion de l'urée qui commence bientôt est lente et ne s'achève que péniblement; enfin, si ces diverses productions étrangères envahissent le liquide avant l'apparition de la petite torulacée, l'urine se maintient longtemps acide, jusqu'à ce que le petit ferment y apparaisse; puis sa conversion se fait avec lenteur. Mais au milieu de toutes ces variations, dont la cause est la diversité des germes de l'air, dont l'ordre d'introduction dans le liquide est livré au hasard, une chose reste constante: c'est la corrélation qui lie la transformation rapide ou lente de l'urée au développement facile ou pénible de la petite torulacée; de sorte que ce petit végétal se présente à nous comme le ferment de l'urée; la matière albuminoïde ne fait que concourir à sa nutrition.

Toutes les expériences ultérieures s'accordent à démontrer cette proposition.

Fourcroy et Vauquelin avaient bien remarqué que, dans leur altération, divers échantillons d'urine étaient loin de se comporter de la même manière, mais ils

(1) Ce sont sans doute les globules de cette pellicule mucorée, tombés de la surface, que M. Quevenne a observés dans certains dépôts d'urine altérée et qu'il croyait identiques à la levûre de bière, dont elle se rapproche en effet par son aspect et ses dimensions.

croyaient que ces variations avaient leur source dans la composition variable du liquide. « De l'urine contenue dans un flacon fermé, disent-ils, se fonce, brunit, noircit même, répand une odeur ammoniacale fétide, dépose d'abord un nuage léger qui devient peu à peu des flocons muqueux plus ou moins colorés. Il se forme, à sa surface ou sur la croûte noircie qui la recouvre, et sur les parois des vases qui la contiennent, des cristaux aiguillés ou en prismes réguliers ou en houppes soyeuses; l'urine alors est ammoniacale, au lieu d'être acide.... Cette altération de l'urine n'a pas toujours lieu de la même manière et sa décomposition varie suivant la nature diversifiée de cette liqueur. Quelquefois, dans un individu où l'urine présente ordinairement les phénomènes qui viennent d'être indiqués, ce liquide, au lieu de répandre l'odeur ammoniacale, se couvre de moisissure verte et blanche, qui augmente pendant quinze ou vingt jours. Au lieu de contenir de l'ammoniaque à nu, elle contient de l'acide et en répand l'odeur. Ce genre d'urines est donc moins altérable que la précédente; elles paraissent être au moins aussi fréquentes que celles qui s'alcalisent; leur différence dépend manifestement de la variation de leurs principes, non pas dans leur nature, car ils sont presque toujours les mêmes, mais dans leur proportion. Ainsi, la matière urinaire, source de la formation de l'ammoniaque, des acides carbonique et acéteux, et cause de l'altérabilité de l'urine, ne produit ou n'éprouve cette altération, cette décomposition, qu'autant qu'elle est mêlée d'une certaine quantité de matière gélatineuse, laquelle lui sert de ferment; si elle n'en contient pas assez, si l'urine moins gélatineuse est par cela même plus colorée, plus odorante, plus chargée de matière urinaire, elle est bien moins fermentescible ou putrescible, se conserve plus longtemps sans changement et avec ses caractères primitifs, elle est plus permanente; celle au contraire qui est moins colorée, plus altérable, plus disposée à la formation de l'ammoniaque, dépose plus promptement des flocons muqueux, donne plus vite un nuage et un précipité. Il nous a paru que l'urine, moins corruptible et moins gélatineuse, en quelque sorte plus urineuse, s'il est permis de le dire, était l'annonce d'une santé forte et le produit d'une digestion complète, tandis que l'urine pâle, plus gélatineuse, plus décomposable, existait plus spécialement chez les sujets plus faibles et dans les cas de forces digestives diminuées. Il est permis de croire que ces deux états divers de l'urine qui en présentent comme deux liquides distincts ou différents seront quelque jour des faits très-utiles pour l'art de guérir, et que la dissolution de tan fournira le moyen de les reconnaître, et de déterminer leur rapport par la nature et la quantité du précipité qu'elle formera dans ces liquides, comparés chez différents sujets ou à diverses époques chez le même (1). »

(1) FOURCROY et VAUQUELIN, Premier Mémoire pour servir à l'histoire naturelle, chimique et médicale de l'urine, *Annales de Chimie*, t. XXXI, p. 57 et 60.

On voit, par ce passage curieux, combien Fourcroy et Vauquelin ont été frappés de la différence que présentent les urines dans leur mode d'altération; mais ils se trompent en l'attribuant à une différence de composition, en en faisant deux liquides distincts, l'un plus altérable, contenant moins d'urée et plus d'albumine, signe d'une santé faible; l'autre plus permanent, contenant plus d'urée et moins d'albumine, indice d'une santé forte. Outre que cette interprétation est purement hypothétique, elle est infirmée par l'observation que j'ai eu plusieurs fois l'occasion de faire, et dont j'ai donné un exemple, de deux portions d'urine provenant de la même émission, jouissant par conséquent d'une composition identique et qui, placées dans des vases différents, se sont altérées l'une rapidement avec production presque exclusive de petits globules, l'autre très-lentement avec développement de moisissures; la cause de ces différences n'est donc pas dans la composition du liquide, mais bien dans les circonstances atmosphériques où il est placé; elle dépend de l'ordre d'apparition des germes de l'air.

Propriétés et préparation du ferment de l'urée.

Le ferment de l'urée que les observations précédentes déterminent et dont elles font pressentir le rôle constitue, avec les cristaux d'urates et de phosphate ammoniaco-magnésien, le dépôt blanc qui se forme au fond des vases où l'urine s'altère. Il est constitué par des globules sphériques où les plus forts grossissements ne permettent de voir ni granulations, ni paroi distincte du contenu. Ces globules forment de longs chapelets à courbures élégantes, qui remplissent tout le liquide pendant que la fermentation suit son cours (*fig. 2*). Quand celle-ci est terminée, ils se rassemblent au fond et les chapelets se brisent; aussi, examiné dans un dépôt un peu ancien, le ferment se présente-t-il en courts chapelets ou en petits amas de globules. Dans les chapelets en voie de développement, les globules des extrémités sont souvent plus petits que les autres; d'autres fois, sur trois globules réunis, celui du milieu est plus gros que les autres et paraît leur avoir donné naissance; les globules restent d'ailleurs à toute époque parfaitement sphériques; leur développement se fait donc par bourgeonnement.

Le diamètre des globules est en moyenne $0^{\text{mm}},0015$, mais varie un peu au-dessus et au-dessous de cette valeur, suivant la nature du liquide où ils se forment; au microscope, on les voit agités, surtout quand ils sont par 2, 3 ou 4, de mouvements browniens très-vifs, ce qui tient à leur extrême petitesse. L'acide sulfurique et la potasse, même concentrés, n'ont aucune action sur eux. La lumière influence ces globules d'une façon curieuse. J'ai souvent remarqué que dans une série de vases rangés dans l'étuve et ne recevant la lumière que d'un seul côté, les dépôts floconneux de ferment se font tous sur la paroi du vase directement éclairée.

Pour préparer une certaine quantité de cette nouvelle levûre, on filtre un échantillon d'urine complètement fermentée et où la transformation a été rapide, c'est-à-dire où la petite torulacée s'est développée à peu près seule. Une certaine quantité des globules passent à travers le filtre, mais la majeure partie y est retenue avec les urates et les phosphates cristallisés; on lave le dépôt avec une solution étendue d'acide chlorhydrique qui dissout les phosphates et précipite l'acide urique des urates: un lavage à l'eau entraîne complètement les nouveaux sels formés. Pour débarrasser le ferment de l'acide urique, on le lave ensuite avec une dissolution de potasse qui dissout et entraîne cet acide; après un nouveau lavage à l'eau on a sur le filtre la nouvelle levûre à l'état de pureté parfaite. Ainsi préparé, ce ferment est jaune rougeâtre, et présente l'aspect extérieur de la levûre de bière: complètement desséché, il devient corné comme elle et se divise sur le filtre en petits fragments fendillés: il est uniquement constitué par les petits globules que je viens de décrire, mais à qui ce traitement a enlevé leurs propriétés vitales. D'un litre d'urine, séparée du dépôt albumineux primitif et filtrée après la fermentation, j'ai obtenu 2 grammes de dépôt sec formé de cristaux et de torulacée; après le traitement par l'acide chlorhydrique, le dépôt ne pesait plus que 1^{er},08, mélange d'acide urique et de ferment; après le lavage à la potasse, le poids de ferment obtenu est 0^{er},42. D'après cela, on peut se faire une idée du poids de globules développé dans cette fermentation.

Quand on n'a besoin que d'une très-faible quantité de globules inaltérés, pour semer le végétal dans un autre liquide, par exemple, il suffit d'extraire avec un tube effilé une petite portion du dépôt du fond; on sépare, si l'on veut, la torulacée des cristaux, en laissant quelques instants le tube vertical et faisant écouler les premières gouttes qui contiennent la plus grande partie des cristaux.

Fermentation de l'urée dans l'urine par ensemencement de son ferment.

Nous avons vu l'urine abandonnée à l'air se comporter de diverses manières, suivant les chances qu'y introduit l'ordre d'apparition des germes de l'atmosphère; maintenant que nous connaissons le ferment de l'urée, nous pouvons faire cesser cette diversité, imprimer au phénomène une marche toujours identique, et déterminer à coup sûr la transformation de l'urée dans l'urine. Quelques exemples feront voir avec quelle régularité on assure le phénomène en s'y prenant ainsi, et serviront en même temps à établir le véritable rôle de ces globules.

La première condition est de soumettre le liquide à une température constante la plus favorable au développement du ferment; on y satisfait en plaçant les vases dans une étuve maintenue à une température de 30 à 35 degrés.

1. Le 29 juillet, à 5 heures, je place à l'étuve un flacon bouché contenant

250 centimètres cubes d'urine fraîche filtrée, à laquelle j'ai ajouté une trace du dépôt blanc extrait d'une urine abandonnée à l'air et dont la fermentation a été rapide; j'ai semé ainsi le petit ferment dans le liquide. Le lendemain, l'urine est alcaline, trouble; à sa surface, une pellicule cristalline; au fond et dans tout le liquide, beaucoup de longs chapelets de petite torulacée en globules bien gonflés: c'est la seule production organisée qui s'y rencontre. Le 31 juillet, à 9 heures, le dosage d'ammoniaque exécuté sur 10 centimètres cubes du liquide donne 0^{gr},074 d'alcali, correspondant à 13 grammes d'urée disparue pour 1000, c'est-à-dire que l'urine a perdu plus de la moitié de l'urée qu'elle renferme. Le 1^{er} août, à 9 heures, 10 centimètres cubes contiennent 0^{gr},104 d'ammoniaque, et le lendemain, le dosage donne le même résultat. La fermentation s'est donc achevée en deux jours et demi, tandis qu'elle dure quinze jours et souvent davantage quand on abandonne l'urine au contact de l'air. En même temps, le ferment s'est développé; il s'est rassemblé peu à peu avec les cristaux au fond du vase en un dépôt blanchâtre; en filtrant le liquide et traitant le dépôt successivement par l'eau acidulée et par la potasse, on obtient finalement 0^{gr},09 de ferment homogène et sec. La presque totalité de ces globules s'est formée dans le liquide, la quantité qu'on y a semée étant impondérable (1).

2. Le 31 juillet, à 6 heures du soir, je mets à l'étuve dans un flacon bouché 200 centimètres cubes d'urine fraîche, à laquelle j'ai ajouté une trace du dépôt blanc de la fermentation dont je viens de rendre compte. Le 1^{er} août, à 4 heures, le dosage de l'ammoniaque effectué sur 5 centimètres cubes donne 0^{gr},029 d'ammoniaque; le liquide est un peu trouble, contient beaucoup de cristaux, et il s'est formé un dépôt blanc au fond du vase. Le 2 août, à 9 heures, 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},053 d'ammoniaque et la fermentation est achevée; en même temps, le liquide s'est éclairci, le dépôt blanc s'est accru, et il est exclusivement formé des globules et des chapelets du ferment mêlés aux cristaux ordinaires. Trente-six heures environ ont donc suffi pour que toute l'urée ait disparu. La rapidité plus grande du phénomène tient à ce que la semence a été extraite d'un

(1) Il est bien évident que le dosage d'ammoniaque par les liqueurs titrées appliqué à l'urine fermentée ne donne pas de résultats rigoureux: on n'apprécie ainsi que la quantité d'ammoniaque qui se trouve à l'état de carbonate; mais une notable quantité de cet alcali a saturé l'acide libre de l'urine, a formé avec l'acide phosphorique le phosphate ammoniaco-magnésien, avec l'acide urique l'urate d'ammoniaque; aussi trouve-t-on, surtout dans les premiers temps de la transformation, une quantité d'ammoniaque bien inférieure à celle que devrait donner la quantité d'urée disparue: ainsi les 0^{gr},104 d'ammoniaque que contenaient 10 centimètres cubes de liquide après la disparition de l'urée ne correspondent qu'à une richesse de 19 pour 1000, chiffre bien inférieur à la proportion d'urée qui existait dans l'urine fraîche. Mais ce qui importe ici, ce n'est pas tant de connaître rigoureusement la quantité d'ammoniaque, que de suivre, par un procédé facile et prompt, la marche progressive de l'altération de l'urine: à ce point de vue, ce procédé donne de bons résultats.

liquide en pleine fermentation, dans lequel, par conséquent, la petite torulacée était en voie de développement; quand on la retire d'un dépôt un peu âgé, elle est moins active.

En semant une faible partie de ce nouveau dépôt dans un autre échantillon d'urine, on y provoque le même phénomène, c'est-à-dire développement rapide et exclusif de la petite torulacée et en même temps transformation rapide de l'urée; un à deux jours suffisent pour qu'elle disparaisse entièrement. On peut donc réaliser ainsi avec certitude une série indéfinie de fermentations ammoniacales à l'abri de l'air; il suffit de provoquer dans le liquide le développement exclusif du petit ferment, en y semant des globules provenant d'une fermentation antérieure: ces globules se développent dans la liqueur avant que l'air y ait apporté d'autres germes, l'envahissent et, par le fait même de l'alcalinité croissante qu'ils communiquent au milieu, empêchent le développement d'autres productions dont l'air pourrait apporter les germes; c'est tout au plus si quelques infusoires se montrent parfois dans le liquide, mais sans troubler le phénomène; le dépôt qui se forme est bien homogène, et par suite très-propre à servir ultérieurement de semence. On est donc affranchi de la lenteur et de l'incertitude qui caractérisent la transformation quand on laisse l'urine exposée à l'influence des germes de l'air, ou plutôt dans une série d'expériences on n'a à subir qu'une seule fois ces fâcheuses conditions. M. Pasteur a, le premier, nettement formulé ces conditions expérimentales: « L'addition préalable d'un ferment déterminé et pur favorise beaucoup, dit-il, la production d'une fermentation unique et correspondante, sans l'assurer dans tous les cas. On peut comparer ce qui se passe dans les fermentations à ce que nous offre un terrain dans lequel on ne place aucune semence: on le voit bientôt chargé de plantes et d'insectes divers qui se nuisent mutuellement (1). »

Il est maintenant facile de donner aux expériences de M. Jacquemart leur véritable interprétation. Si le dépôt blanc des urines putréfiées est *le plus énergique des agents de décomposition*, c'est qu'il contient toujours une très-grande quantité de globules du petit végétal, plus ou moins mélangés d'autres productions; ajouter une partie de ce dépôt à de l'urine fraîche, c'est y faire vivre, agir et se développer ces petits globules; aussi la transformation peut-elle être complète au bout de vingt-quatre heures.

Que l'urine fraîche, mise en contact avec ce dépôt et filtrée ensuite, provoque dans d'autre urine une altération très-rapide, c'est ce qui doit arriver; car nous savons qu'en raison de leur petitesse extrême, les globules du ferment ne sont

(1) PASTEUR, Mémoire sur la fermentation appelée lactique, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LII, p. 414.

jamais complètement arrêtés par le filtre, et ce qui en reste dans le liquide suffit à servir de semence. Enfin, si la levûre de bière ajoutée à l'urine en accélère la transformation, c'est qu'elle sert de véhicule aux germes de la petite torulacée et les amène dans le liquide plus tôt qu'ils n'y seraient arrivés par l'intermédiaire de l'air; aussi, quand on sème le ferment, la levûre de bière n'exerce-t-elle plus aucune influence sur la rapidité du phénomène, comme il est facile de s'en assurer par des expériences comparatives.

Cette régularité, cette certitude avec laquelle on réalise la transformation prompte et complète de l'urée dans l'urine en y provoquant le développement de ces petits globules à l'exclusion de toute autre production organisée, jointes à la conservation des propriétés vitales du ferment dans une série indéfinie de fermentations successives, nous montrent qu'il y a corrélation intime entre la vie et le développement de ce petit végétal d'une part, et la transformation de l'urée d'autre part, et nous permettent d'affirmer que le ferment de l'urée n'est pas une matière amorphe et morte, en voie d'altération, mais bien une matière organisée vivante, en voie de développement. Ces petits globules constituent donc le ferment de l'urée au même titre que la levûre de bière est le ferment alcoolique du sucre.

Fermentation de l'urée dans l'eau de levûre.

Pour pouvoir assigner avec plus de certitude encore le rôle physiologique de ce ferment tel que nous venons de le définir, il est indispensable d'établir que si, dans un liquide approprié à son développement et contenant une proportion connue d'urée, on sème la petite torulacée, en même temps qu'elle se développera l'urée se changera en carbonate d'ammoniaque.

Le milieu nutritif dont M. Pasteur s'est le plus souvent servi dans ses expériences sur les fermentations est l'eau de levûre, c'est-à-dire l'eau qui tient en dissolution les principes albuminoïdes et minéraux de la levûre de bière; ce liquide convient aussi fort bien à la nutrition du ferment de l'urée. On le prépare en maintenant la levûre de bière pendant quelque temps en ébullition avec l'eau; il est bon de l'employer très-étendue, afin que la quantité de phosphate ammoniacomagnésien formé soit faible et que le dosage de l'ammoniaque en soit peu altéré: 25 grammes de levûre suffisent pour 1 litre d'eau.

Urée dans l'eau de levûre à l'air. — Quand on abandonne à l'air une dissolution d'urée pure dans l'eau de levûre, il arrive quelquefois que le liquide devient promptement alcalin et que l'alcalinité augmente rapidement jusqu'à disparition complète de l'urée; toutes les fois qu'il en est ainsi, l'examen microscopique du liquide y révèle un grand nombre de chapelets de la petite torulacée.

Le 1^{er} décembre, dans 150 centimètres cubes d'eau de levûre placée dans un

vase ouvert à l'air, on dissout 2 grammes d'urée; le liquide est légèrement acide. Le 12 décembre, il est fortement alcalin, une pellicule cristalline en recouvre la surface, et le liquide est rempli de très-beaux chapelets de torulacée, mêlés à des infusoires; il s'est formé au fond du vase un dépôt blanc constitué par des petits globules, des infusoires morts et des cristaux; la presque totalité de l'urée a disparu. La dissolution d'urée dans l'eau de levûre se comporte donc quelquefois vis-à-vis des germes de l'air comme l'urine, qui n'est elle-même, pour ainsi dire, qu'une dissolution d'urée dans un milieu albuminoïde et minéral. Le même organisme végétal se développe dans cette urine artificielle, et corrélativement à son développement on voit le même phénomène s'accomplir.

Dans les observations relatives à l'urine nous avons vu que ce liquide abandonné à l'air est loin de subir toujours le mode d'altération le plus favorable à la destruction de l'urée qu'il renferme, et nous avons rattaché ces différences à l'ordre variable suivant lequel y apparaissent et s'y développent les germes apportés par l'air. Mais ce qui n'est pour l'urine qu'une exception, assez fréquente il est vrai, devient ici le cas le plus général. Le plus souvent, en effet, la liqueur se trouble dès les premiers jours, de nombreux infusoires y fourmillent, des pellicules mucorées granuleuses en recouvrent la surface, des mycodermes se développent dans le liquide, la torulacée de l'urée n'y apparaît que plus tard, et, trouvant le liquide envahi, elle ne s'y développe que péniblement; aussi le liquide reste-t-il neutre ou faiblement alcalin pendant des mois entiers. Les chances de destruction de l'urée en dissolution dans l'eau de levûre abandonnée à l'air sont beaucoup moins favorables que dans l'urine, et on en comprend bien la raison; la composition propre du milieu nutritif formé par l'eau de levûre favorise un certain nombre de productions organisées, parmi lesquelles ne figure pas le ferment de l'urée; en ajoutant à ce milieu de l'urée, corps neutre et innocent, on le rend propre au développement de la petite torulacée sans lui enlever ses qualités antérieures; il arrive donc souvent que les productions favorisées se développent les premières et nuisent assez puissamment au ferment de l'urée lors de son apparition pour l'empêcher de s'accroître et maintenir ainsi la neutralité du milieu, condition la plus favorable à leur propre développement. La destruction de l'urée n'a lieu que si la petite torulacée, arrivée la première, prend assez le dessus pour déterminer promptement une alcalinité gênante pour les autres productions et qui la favorise beaucoup elle-même.

Malgré ces variations inévitables, il reste donc vrai de dire que toutes les fois que l'urée se transforme dans l'eau de levûre abandonnée à l'air, c'est qu'il y a dans le liquide vie et développement du petit végétal, et que, réciproquement, jamais nous ne rencontrons ces petits globules sans qu'il y ait en même temps fermentation correspondante de l'urée.

Urée dans l'eau de levûre avec semences. — Il est d'ailleurs facile de faire disparaître ces variations en semant les globules, comme nous l'avons fait pour l'urine. La transformation se produit alors avec une régularité, une rapidité et une constance qui la rendent tout à fait comparable à ce qu'elle est dans l'urine sous les mêmes conditions. Les expériences suivantes mettront en évidence ce fait important.

Le 20 juillet 1863, à 4 heures, je dissous 2 grammes d'urée dans 150 centimètres cubes d'eau de levûre, que je place à l'étuve dans un flacon bouché, après y avoir ajouté une petite quantité d'un dépôt d'urine fermentée : examiné le 22 juillet, à 2 heures, le liquide est fortement alcalin; 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{sr}},020$ d'ammoniaque, correspondant à $0^{\text{sr}},038$ d'urée disparue sur $0^{\text{sr}},066$; il y a destruction de plus de moitié; le liquide est trouble, et il est rempli de longs chapelets de la petite torulacée. Le 23, à midi, 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{sr}},036$ d'ammoniaque, ce qui indique $0^{\text{sr}},064$ d'urée disparue; la fermentation est achevée; il s'est formé un dépôt blanc constitué exclusivement par la petite torulacée mêlée à des cristaux; en moins de trois jours, sous l'influence du développement des petits globules, l'urée s'est complètement transformée.

Un grand nombre d'expériences faites dans les mêmes conditions ont toujours conduit au même résultat, à quelques différences près, dans la rapidité du phénomène; elle atteint son maximum quand la semence est bien homogène et retirée d'un liquide où les globules sont encore en voie de développement, c'est-à-dire où la fermentation est en train de s'accomplir; trente-six à quarante-huit heures, quelquefois même un jour, suffisent alors à la destruction complète de l'urée. J'aurai l'occasion d'en citer d'autres exemples.

Ces nouveaux globules, qui se sont formés dans l'eau de levûre en y accomplissant la transformation corrélatrice de leur développement, sont-ils propres à déterminer la fermentation de l'urée dans un milieu semblable? En d'autres termes, peut-on réaliser une série indéfinie de fermentations successives dans des dissolutions d'urée dans l'eau de levûre sans recourir à l'urine, en retirant à chaque fois la semence du dépôt formé dans l'expérience précédente? La série d'expériences dont je vais rendre compte répond affirmativement à cette question.

1. Le 15 octobre, à 3 heures, je dissous 5 grammes d'urée dans 250 centimètres cubes d'eau de levûre, que je place à l'étuve, en y ajoutant une trace de dépôt de la fermentation rapportée plus haut. Le 16, liquide trouble, alcalin, rempli de longs chapelets de ferment. Le 17, à 10 heures, 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{sr}},055$ d'ammoniaque correspondant à la disparition de $0^{\text{sr}},097$ d'urée; les 5 centimètres cubes essayés en contenaient $0^{\text{sr}},100$ à l'origine; la fermentation est donc achevée. Examiné au microscope, le dépôt blanc est formé de la petite torulacée en courts chapelets ou en petits amas, mêlés à des cristaux; durée, quarante-trois heures.

2. Le 20 octobre, à 3 heures, dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre on dissout 2 grammes d'urée, on y ajoute des semences de l'expérience précédente. Le 22, à 11 heures, le liquide est fortement alcalin, 5 centimètres cubes contenant $0^{\text{gr}},013$ d'ammoniaque. Le 24, à 4 heures, 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{gr}},039$ d'ammoniaque, et le 26, à 10 heures, la même quantité de liquide donne $0^{\text{gr}},056$ d'ammoniaque, ce qui indique $0^{\text{gr}},099$ d'urée disparue; la fermentation est achevée. Examiné de temps à autre au microscope, le liquide a montré constamment, outre les nombreux chapelets de la petite torulacée, un mycoderme en articles allongés et des infusoires; c'est à ces productions étrangères qu'il faut attribuer la marche un peu lente de la transformation qui a mis près de six jours à s'achever.

3. Le 26 octobre, à 4 heures, je dissous 2 grammes d'urée dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre, et j'y sème les globules de la fermentation précédente. Le 28, à 4 heures, 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{gr}},020$ d'ammoniaque, et le liquide est rempli de chapelets du ferment. Le 29, à 4 heures, 5 centimètres cubes donnent $0^{\text{gr}},055$ d'alcali, correspondant à $0^{\text{gr}},097$ d'urée disparue; la fermentation est achevée; le dépôt blanc est constitué par les chapelets du ferment, des cristaux et un mycoderme en bâtonnets rangés parallèlement les uns aux autres, qui se développe souvent à la surface, sous forme d'une pellicule très-mince, bleuâtre, qui grimpe le long des parois du flacon et finit par tomber au fond du liquide; durée, trois jours.

4. Une trace de ce dépôt a été ajoutée le 2 novembre, à 2 heures, à une dissolution de 2 grammes d'urée dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre; le lendemain, la torulacée remplit tout le liquide et le dosage d'ammoniaque effectué à 3 heures donne, pour 5 centimètres cubes, $0^{\text{gr}},055$, correspondant à la disparition de $0^{\text{gr}},097$ d'urée, sur $0^{\text{gr}},100$ qu'ils contenaient à l'origine; la transformation de l'urée est complète au bout d'un jour.

En semant ces nouveaux globules dans d'autres liquides, j'ai répété un grand nombre d'expériences pareilles à celles que je viens de décrire, sans avoir jamais remarqué de ralentissement constant dans la transformation; la propriété vitale des globules ne s'épuise pas.

Il est donc très-aisé de réaliser dans l'eau de levûre une série indéfinie de fermentations ammoniacales, en se servant à chaque fois, comme semences, des globules extraits de la fermentation précédente; le point de départ peut être, si l'on veut s'affranchir complètement de l'urine, une fermentation ammoniacale produite en abandonnant à l'action des germes de l'air une dissolution d'urée dans l'eau de levûre. La dissolution d'urée dans l'eau de levûre constitue donc une espèce d'urine artificielle plus simple que l'urine, puisqu'elle ne contient pas d'acides urique et hippurique, et plus commode pour l'expérimentation, puisqu'on y

connaît, sans dosage préalable, la proportion d'urée, et qu'on peut l'y faire varier à volonté (1).

Les globules du ferment de l'urée développé dans l'eau de levûre sont un peu plus petits que ceux qui vivent dans l'urine; leur diamètre descend à $0^{\text{mm}},0012$ et $0^{\text{mm}},0011$, tandis qu'il s'élève souvent dans l'urine à $0^{\text{mm}},0016$ et $0^{\text{mm}},0018$: toutes ses autres propriétés demeurent les mêmes. Cette différence de grandeur doit tenir à ce que le milieu, moins favorable que l'urine, ne permet pas aux globules d'atteindre la taille qu'ils possèdent dans ce liquide.

Le poids de ferment développé dans l'eau de levûre est aussi plus faible que dans l'urine, à égalité de proportion d'urée. L'expérience suivante a été réalisée dans le but d'obtenir une notable quantité de ferment. Le 24 décembre, à 6 heures, je dissous 25 grammes d'urée dans un litre d'eau de levûre assez étendue et j'y ajoute des semences d'une urine en fermentation. Le 26 décembre, à 8 heures du matin, le liquide est fortement alcalin, un peu trouble, un léger dépôt blanc recouvre le fond du vase; il est formé de cristaux et de chapelets de ferment; 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{gr}},070$ d'ammoniaque, correspondant à $0^{\text{gr}},123$ d'urée disparue sur $0^{\text{gr}},125$ qu'ils contenaient à l'origine: la fermentation est achevée. 25 grammes d'urée ont disparu en trente-huit heures; on voit par là avec quelle rapidité une quantité considérable d'urée se transforme dans l'eau de levûre, quand on y provoque le développement exclusif de ces petits globules. Je filtre le liquide à limpidité parfaite sur un filtre taré; le dépôt sec pèse $0^{\text{gr}},18$; après un lavage à l'eau acidulée qui dissout les cristaux, il pèse $0^{\text{gr}},11$; c'est le poids du ferment: pour 100 grammes d'urée détruite, il se formerait donc $0^{\text{gr}},44$ de globules de ferment; dans l'urine le poids est, nous l'avons vu, bien plus considérable.

La faculté qu'on possède de faire varier à volonté les proportions d'urée contenue dans l'eau de levûre permet de rechercher à quel degré d'alcalinité l'action du ferment s'arrête. On sait que les liqueurs acides favorisent l'apparition et le développement des productions organisées végétales, mucédinées, mycodermes, torulacées, etc., tandis que les milieux légèrement alcalins sont plus propres à la vie des infusoires; mais cette remarque est loin d'être générale. M. Pasteur a établi que le ferment butyrique du sucre est un infusoire, et voici que la fermentation ammoniacale est produite par une torulacée. Ce ferment paraît s'accommoder

(1) Dans une série d'expériences successives, la rapidité du phénomène varie notablement; un jour suffit dans un cas; dans un autre, il faut cinq et six jours; l'examen microscopique du ferment rend compte de ces différences: dans le premier cas, le ferment est bien homogène; dans l'autre, il est mélangé d'autres productions qui nuisent à sa nutrition et ralentissent son action; il peut même arriver que l'homogénéité du ferment aille en s'altérant de plus en plus; la durée de la transformation va toujours en croissant alors, mais le plus souvent le temps de la transformation oscille entre les limites que j'ai signalées.

aux conditions les plus diverses; souvent il commence à se développer dans des liqueurs acides (urine des carnivores, eau de levûre), et par la transformation qu'il y détermine il les rend neutres, puis alcalines, et l'alcalinité peut y devenir très-forte sans que le ferment cesse de se développer et d'accomplir sa fonction; ainsi dans une urine de carnivore contenant 30 grammes d'urée par litre, il y a, après la fermentation, environ 48 grammes de carbonate d'ammoniaque, près de 5 pour 100. D'autres fois, le ferment prend naissance dans des liqueurs bien alcalines (urine des herbivores); dans une urine d'herbivore contenant 30 grammes d'urine et 15^{gr},5 de bicarbonate de potasse par litre, il y a, après la fermentation, 63^{gr},5 de carbonates alcalins, plus de 6 pour 100.

Les expériences suivantes montrent que la petite torulacée agit encore dans des liqueurs beaucoup plus chargées de carbonate d'ammoniaque.

Le 31 octobre, à 3 heures, je dissous dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre 5 grammes d'urée, et après y avoir ajouté des globules d'une bonne fermentation, je mets le liquide à l'étuve dans un flacon bouché; 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},250 urée. Le 3 novembre, à 3 heures, le liquide est fortement alcalin, un dépôt floconneux de ferment s'est formé sur les parois et sur le fond du vase. 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},087 d'ammoniaque, correspondant à 0^{gr},153 d'urée disparue. Le 5 novembre, à 11 heures, 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},138 d'ammoniaque, urée disparue 0^{gr},247; la fermentation est achevée. A ce moment, le liquide contient 8 grammes pour 100 de carbonate d'ammoniaque; mais on n'a pas atteint la limite au delà de laquelle le ferment cesse d'agir.

Le 31 octobre, à 3 heures, je dissous 10 grammes d'urée dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre, j'y sème le ferment; le 3 novembre, à 11 heures, le liquide est limpide, fortement alcalin; il s'est formé au fond un léger dépôt blanc, et sur les parois des taches floconneuses constituées par les chapelets de ferment mêlés à des cristaux.

5 ^{cc} contiennent 0 ^{gr} ,108 d'amm. Urée disparue 0 ^{gr} ,190. En 24 h. 0 ^{gr} ,067.					
Le 4 novembre, à 3 h., 5 ^{cc}	»	0 ^{gr} ,151	»	»	0 ^{gr} ,265. » 0 ^{gr} ,063.
Le 5 » » 5 ^{cc}	»	0 ^{gr} ,184	»	»	0 ^{gr} ,324. » 0 ^{gr} ,060.
Le 6 » » 5 ^{cc}	»	0 ^{gr} ,194	»	»	0 ^{gr} ,342. » 0 ^{gr} ,018.

Le lendemain, même résultat, il y a arrêt; le reste de l'urée ne se transforme pas; il en a disparu 6^{gr},5 sur 10 grammes qu'on y avait dissous; au moment de l'arrêt, le liquide contenait 10^{gr},4 de carbonate d'ammoniaque, c'est-à-dire 10,4 pour 100; la marche de la transformation a d'ailleurs été sensiblement uniforme jusqu'à sa cessation complète.

Dans une autre expérience semblable, 8^{gr},2 d'urée ont disparu sur 10 grammes, et, au moment où le ferment a cessé d'agir, le liquide contenait 13^{gr},12 de car-

bonate d'ammoniaque, plus de 13 pour 100; c'est l'alcalinité la plus forte à laquelle le ferment ait résisté dans ces expériences; de nouvelles semences introduites à ce moment dans le liquide n'ont produit aucun effet, comme on devait s'y attendre.

A cette dose élevée, non-seulement le carbonate d'ammoniaque empêche actuellement l'action du ferment, mais il détruit en lui les propriétés vitales et le rend impropre à servir désormais de semence, comme le prouve l'expérience suivante. Le 12 novembre, je dissous 1 gramme d'urée dans 100 centimètres cubes de levûre et j'y ajoute une partie du dépôt de la première des deux fermentations dont je viens de rendre compte; le 29 novembre, le liquide est à peine alcalin; en dix-sept jours, la transformation de l'urée est peu sensible; il en résulte que les semences introduites n'avaient aucune vertu. On peut d'ailleurs montrer, sur le liquide lui-même, que le ferment qui s'y trouve a perdu pour toujours ses propriétés; on sature l'ammoniaque en y ajoutant peu à peu une dissolution étendue d'acide sulfurique, jusqu'à ce que la liqueur ne soit plus que faiblement alcaline, on l'étend d'eau pour que le sulfate d'ammoniaque ne gêne pas, et on remet le vase à l'étuve. Quelques jours après, on retrouve le liquide dans le même état; le ferment qui s'y trouve est donc inactif; mais si l'on y ajoute de nouvelles semences, on voit l'alcalinité augmenter progressivement jusqu'à destruction complète de l'urée.

Ainsi, le ferment de l'urée se développe et joue son rôle chimique dans un liquide riche en carbonate d'ammoniaque, tant que la proportion de ce sel ne dépasse pas 10 pour 100 environ; au delà, il cesse d'agir et perd ses propriétés vitales (1). Pour arriver à détruire par ce ferment toute l'urée contenue dans un liquide très-riche, qui en renfermerait 20 pour 100 par exemple, il serait donc nécessaire de neutraliser de temps en temps la liqueur et de s'arranger de façon qu'elle ne renferme jamais plus de 5 pour 100 de carbonate d'ammoniaque. On pourrait encore, à l'imitation de la méthode pratiquée pour la fermentation lactique, maintenir toujours le liquide neutre ou faiblement alcalin, en ajoutant à l'eau de levûre, dès qu'elle sera devenue alcaline, une certaine quantité d'acide urique en poudre. Cet acide est très-peu soluble, mais il se dissoudra peu à peu dans l'ammoniaque, au fur et à mesure de la production de cet alcali, pour donner de l'urate d'ammoniaque peu soluble; il y aura dégagement d'acide carbonique et la liqueur restera faiblement alcaline. On arrive au même résultat en profitant de la volatilité du carbonate d'ammoniaque; on fait traverser le liquide à 35 degrés pendant la fermenta-

(1) C'est ici le lieu de rappeler l'action nuisible que le carbonate d'ammoniaque, même à très-faible dose, exerce, d'après les expériences de MM. Gratiolet et Cloëz, sur la végétation des plantes submergées. Des quantités très-minimes de ce sel, dissoutes dans l'eau où ils vivent, tuent ces végétaux; on voit par là combien est différente la nutrition de ces êtres microscopiques qui peuvent vivre et prospérer dans un milieu si riche en carbonate d'ammoniaque.

tation par un courant d'air rapide qui entraîne une partie du carbonate d'ammoniaque formé, et l'empêche de s'accumuler dans la liqueur et d'y atteindre la proportion où il devient nuisible. Nous verrons plus loin des expériences où le liquide se maintient neutre de lui-même, par suite de complications secondaires.

En résumé, toutes les expériences dont je viens de rendre compte établissent que, dans l'eau de levûre comme dans l'urine, la transformation de l'urée est corrélatrice de la vie et du développement de globules qui constituent un ferment végétal particulier à l'urée (1).

Fermentation de l'urée en dehors des matières albuminoïdes.

M. Pasteur a établi, le premier, que les fermentations peuvent s'accomplir en dehors de toute matière albuminoïde complexe dans un milieu formé d'eau, de sucre, d'un sel d'ammoniaque et de phosphates; cet argument décisif, en montrant la puissance de vie et d'organisation des ferments, a mis hors de discussion leur nature organisée. C'est un ordre d'expériences qu'on devra toujours réaliser désormais dans l'étude des fermentations. Le choix des substances cristallisées, ajoutées dans l'eau au corps qui fermente, pourra varier dans chaque cas particulier, mais devra toujours être tel, que le ferment trouve dans le milieu l'azote, le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et les matières minérales sous une forme assimilable.

Pour l'étude particulière de la fermentation ammoniacale, je vais établir un ensemble de faits correspondant à ceux que M. Pasteur a démontrés pour les fermentations alcoolique, lactique, butyrique, tartrique, etc.

1. *Urée dans l'eau avec ferment.* — Ajoute-t-on une très-petite quantité de dépôt à une dissolution d'urée dans l'eau distillée, la fermentation commence, mais ne tarde pas à s'arrêter. *Expérience* : Le 14 juillet, je mets à l'étuve dans un flacon fermé 100 centimètres cubes d'eau contenant 2 grammes d'urée, après y avoir ajouté une trace d'un dépôt d'urine fermentée. Le 22 juillet, le liquide est alcalin, et 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},006 d'ammoniaque, correspondant à 0^{gr},200 d'urée disparue pour tout le liquide; mais la transformation s'arrête là, et le 14 octobre le dosage d'ammoniaque donne le même résultat : en ajoutant de nouvelles semences, on voit l'alcalinité augmenter un peu, puis la fermentation s'ar-

(1) De ce que l'eau de levûre est éminemment propre aux expériences relatives à la fermentation ammoniacale, il ne faut pas conclure que tous autres liquides, tenant comme elle en dissolution des substances albuminoïdes et minérales, puissent servir au même degré. En faisant bouillir quelques instants de l'eau sur du foin, on obtient, après filtration, un liquide albumineux, contenant des matières minérales, et pour-tant ce milieu paraît peu propre à concourir à la nutrition du ferment de l'urée. Si l'on y dissout de l'urée, et qu'on y sème du ferment, d'autres productions organisées infusoires, etc., se développent, mais la petite torulacée ne s'y multiplie pas, et l'urée reste longtemps inaltérée, quoiqu'elle finisse par s'y transformer.

rêter de nouveau. Le peu de ferment introduit commence donc par agir; mais, ne trouvant pas dans le liquide d'aliments à son développement, il s'épuise bientôt.

En ajoutant à la dissolution une notable proportion du dépôt, la fermentation continue plus longtemps, et une assez grande partie de l'urée se transforme, mais elle s'arrête encore; enfin, si l'on introduit dans une dissolution de 2 grammes d'urée dans 100 centimètres cubes d'eau tout le dépôt provenant de la transformation de 100 centimètres cubes d'urine, la fermentation est active et le surlendemain l'urée a disparu; dans ce cas, on a introduit non-seulement une très-grande quantité de ferment, mais aussi des cristaux de phosphates et des matières albuminoïdes, auxquels ces globules sont mêlés et qui leur ont fourni un aliment suffisant; les choses se passent à peu près comme quand on ajoute à de l'eau sucrée une notable quantité de levûre de bière.

2. *Urée dans l'eau avec phosphates et semences.* — Dans l'eau pure, la fermentation de l'urée ne s'achève donc qu'à la condition d'y ajouter une forte proportion de ferment. En ajoutant des phosphates à la dissolution d'urée on voit, sous l'influence des semences du ferment, la fermentation commencer, se poursuivre plus loin que dans le cas précédent, mais sans s'achever. *Expérience* : Le 20 juillet, je mets à l'étuve 150 centimètres cubes eau contenant 3 grammes d'urée, 0^{gr},1 de cendres frittées de levûre de bière, et des semences de la petite torulacée. Dès le lendemain, le liquide est alcalin, la fermentation se poursuit avec lenteur, et le 29 septembre 5 centimètres cubes contiennent 0^{gr},036 d'ammoniaque, correspondant à 0^{gr},063 d'urée disparue sur 0^{gr},100; puis il y a arrêt, et la liqueur évaporée le 21 octobre donne le reste de l'urée; au bout de deux mois, les deux tiers à peine de l'urée ont disparu, le liquide s'est peu troublé, le ferment s'est à peine développé.

3. *Urée dans l'eau avec sucre, phosphates avec semences.* — Ajoutons du sucre au milieu précédent et nous verrons la transformation s'accomplir plus rapidement et s'achever; le liquide se trouble, on y voit de nombreux chapelets du petit ferment en voie de développement, qui se rassemblent peu à peu au fond du vase, en un léger dépôt blanc; seulement, il arrive dans ces expériences ce que M. Pasteur a remarqué souvent dans les fermentations alcooliques accomplies dans ces conditions, c'est-à-dire que la naissance fortuite de la levûre lactique vient compliquer le phénomène. Je vais en donner un exemple.

Le 4 novembre, je mets à l'étuve un flacon fermé, contenant 100 centimètres cubes d'eau, 2 grammes d'urée, 1 gramme de sucre, 0^{gr},05 de cendres de levûre, et des semences d'une bonne fermentation dans l'eau de levûre. Le 10, le liquide est trouble, alcalin, il y a dégagement d'acide carbonique; le liquide est plein de beaux chapelets de la petite torulacée, mêlés à des chapelets d'articles étranglés qui constituent la levûre lactique (*fig. 3*); le dégagement gazeux est dès lors très-

facile à comprendre : le sucre et l'urée fermentent à la fois, le carbonate d'ammoniaque est décomposé par l'acide lactique, il se forme du lactate d'ammoniaque et du bicarbonate d'ammoniaque d'abord; puis, s'il se produit en un temps donné plus d'acide lactique qu'il n'en faut pour convertir le carbonate formé dans ce temps en bicarbonate, il y a dégagement d'acide carbonique. Les deux levûres se ressemblent par leur dimension et leur aspect général, mais elles se distinguent facilement, car tandis qu'un chapelet de levûre ammoniacale est toujours constitué par des globules parfaitement sphériques, un chapelet de levûre lactique est formé d'articles étranglés au milieu ayant la longueur de deux globules; mais l'étranglement n'est jamais une séparation complète. Les jours suivants, l'alcalinité augmente, le dégagement gazeux cesse, la fermentation ammoniacale se produit seule, et le 16 novembre, 5 centimètres cubes de liquide contiennent $0^{\text{gr}},047$ d'ammoniaque à l'état de carbonate, ce qui correspondrait à $0^{\text{gr}},083$ d'urée disparue sur $0^{\text{gr}},100$; mais cela tient à ce que toute l'ammoniaque, passée à l'état de lactate, échappe au dosage, et la fermentation ammoniacale est achevée. Ainsi, en douze jours, toute l'urée a disparu, et il y a eu en même temps développement considérable de petits globules. Le sucre facilite donc beaucoup le développement de la torulacée, et en même temps la transformation de l'urée; il constitue la source où l'être microscopique puise son carbone, l'urée fournit l'azote et les cendres de levûre les matières minérales. Mais la présence du sucre amène un phénomène secondaire dont il faut tenir compte; cela se présente surtout pendant les premiers jours, car une fois que le liquide a atteint un certain degré d'alcalinité, la fermentation lactique s'arrête.

Toutes les fois que la dissolution d'urée contient ainsi du sucre, des phosphates et de bonnes semences, la transformation de l'urée s'y accomplit régulièrement, quoique avec plus de lenteur que dans l'eau de levûre; elle s'y achève le plus souvent, et en même temps les semences se développent et donnent un dépôt blanc de petits globules.

Ces globules de ferment ammoniacal, formés dans ce milieu, peuvent-ils servir de semences et déterminer la fermentation de l'urée dans un milieu semblable? L'expérience montre que non. Ainsi, le 20 novembre, j'ajoute à 100 centimètres cubes d'eau, contenant 1 gramme d'urée, 1 gramme de sucre et des phosphates, des semences d'une bonne fermentation accomplie dans un milieu semblable. Le 20 décembre, le liquide est à peine alcalin, 5 centimètres cubes ne contiennent que $0^{\text{gr}},002$ d'ammoniaque; en un mois, il n'a disparu qu'une quantité insensible d'urée. La même impuissance se révèle dans les globules de levûre de bière qui se sont formés dans une fermentation alcoolique accomplie dans un milieu contenant du sucre, un sel d'ammoniaque et des phosphates.

Le diamètre des globules de la petite torulacée formés dans ce milieu varie de $0^{\text{mm}},0010$ à $0^{\text{mm}},0012$, notablement plus petit que celui qu'atteignent ces globules

dans l'urine et même dans l'eau de levûre. Ce milieu est en effet assez peu favorable au développement de ce petit ferment pour qu'il n'y prenne jamais spontanément naissance; en effet, si l'on abandonne à l'air une dissolution d'urée dans l'eau contenant du sucre et des phosphates, sans y rien semer, le liquide se trouble dès les premiers jours par l'apparition de nombreux infusoires, la levûre lactique s'y développe et détermine l'acidité de la liqueur; le ferment de l'urée n'y apparaît pas. Examiné huit mois après, le liquide est très-faiblement alcalin et on y retrouve toute l'urée qu'on y a mise. On comprend maintenant pourquoi, dans les expériences où l'on sème le ferment de l'urée, la levûre lactique se développe en même temps et vient troubler parfois le phénomène principal.

En résumé, l'urée dissoute dans l'eau sucrée contenant des phosphates se transforme complètement en carbonate d'ammoniaque, sous l'influence des semences de la petite torulacée, et il y a en même temps développement des globules et formation d'un dépôt blanc qui en est constitué; mais la lenteur avec laquelle s'accomplit la fermentation dans ce milieu, l'impuissance où se trouvent les globules qui s'y sont formés de servir de semence dans un milieu semblable, la dimension plus faible des globules, l'absence de fermentation quand on expose ce milieu à l'air pendant longtemps, tout atteste que ce milieu est beaucoup moins propre que l'eau de levûre à la nutrition du ferment de l'urée, tandis qu'il est au contraire très-bien approprié à la levûre lactique et aux infusoires. Néanmoins, nous retrouvons ici comme dans l'urine, comme dans l'eau de levûre, la corrélation qui lie la transformation de l'urée à la vie et au développement de ce petit ferment végétal.

Sous le nom de *fermentation ammoniacale* il faut donc comprendre à la fois l'acte chimique, transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, et l'acte physiologique, développement du ferment végétal, que toutes les expériences précédentes montrent coexistants et corrélatifs (1).

Urées composées.

L'analogie de constitution qui rapproche les urées composées de l'urée normale m'a porté à rechercher si l'éthylurée ne subirait pas dans des conditions analogues un dédoublement semblable. J'ai dissous dans 100 centimètres cubes d'eau de

(1) Pour ce qui est de l'influence de certaines substances nuisibles sur le développement du ferment ammoniacal, j'ai vérifié que l'oxyde de mercure, le bichlorure de mercure, l'acétate de cuivre empêchent la fermentation. Ce qu'il y a de curieux, c'est que l'essence de térébenthine ne l'empêche qu'à très-forte dose. 10, 15, 20 gouttes d'essence ont été ajoutées à 100 centimètres cubes d'urine où l'on a semé le ferment, et cinq jours après la fermentation est complète. Même en recouvrant l'urine d'une couche d'essence de 1 centimètre d'épaisseur, il y a encore eu fermentation partielle.

levûre 1 gramme d'urée et 1 gramme d'éthylurée et j'y ai semé le ferment de l'urée. Le lendemain, 5 centimètres cubes contiennent $0^{\text{sr}},028$ d'ammoniaque correspondant à $0^{\text{sr}},049$ d'urée disparue; le liquide est trouble, rempli des cha-pelets du ferment. Les jours suivants, le dosage d'ammoniaque donne toujours le même résultat; il ne s'est donc formé d'ammoniaque que celle qui correspond à la totalité de l'urée; l'éthylurée n'a pas pris part à la fermentation. Ce corps ne se dédouble donc pas sous l'influence du ferment de l'urée, sans doute parce qu'il n'est pas propre à céder son azote au ferment, ce qui paraît confirmer les résultats négatifs obtenus d'une autre manière par M. Ville. L'éthylurée dissoute dans l'eau de levûre où l'on sème le ferment de l'urée ne se transforme pas davantage. Mais ce ne sont là que des résultats négatifs, auxquels il ne faut pas accorder beaucoup d'importance, car il se pourrait fort bien que dans d'autres conditions, sous l'influence d'un ferment mieux approprié à sa constitution, l'éthylurée subît un dédoublement analogue à celui de l'urée. Les expériences de M. Boussingault ne nous montrent-elles pas que la somme d'azote assimilable d'un terrain varie beaucoup suivant les végétaux? Des composés azotés, inaptes à fournir de l'azote à certaines plantes, peuvent donc en donner à d'autres douées d'un pouvoir d'assimilation plus énergique. De ce point, comme de toutes les expériences dont j'ai rendu compte, il ressort une confirmation, dans ce cas particulier, des vues de M. Pasteur, qui regarde les fermentations comme des actes de nutrition accomplis dans des conditions spéciales.

DEUXIÈME PARTIE.

LA FERMENTATION DE L'URÉE EST TOUJOURS DIRECTE.

Historique.

On sait que M. Cagniard de Latour a introduit dans l'étude des fermentations une idée nouvelle que les travaux récents de M. Pasteur ont démontrée et généralisée. Pour lui, les globules de levûre de bière sont organisés, se reproduisent par bourgeonnement, et la fermentation alcoolique qu'ils engendrent est un effet de leur végétation. D'autre part, M. Liebig, rejetant cette idée, a imaginé une théorie presque universellement adoptée jusqu'aux travaux de M. Pasteur, et qui avait la prétention d'embrasser, dans un énoncé général et simple, l'ensemble des phénomènes de fermentation. Cette théorie est habilement développée en beaucoup

d'endroits de ses ouvrages; il la résume ainsi : « Les faits que nous venons d'exposer démontrent l'existence d'une cause nouvelle qui engendre des décompositions et des combinaisons : cette cause n'est autre chose que le mouvement qu'un corps en décomposition communique à d'autres matières dans lesquelles les éléments sont maintenus avec une très-faible affinité. Les matières qui amènent ces décompositions n'agissent pas en vertu de la nature chimique qui leur est particulière, mais simplement en ce qu'elles sont les mobiles d'une action qui s'étend au delà de la sphère de leur propre décomposition.... Nous observons que les produits qui se sont formés dans les fermentations changent avec la température, ainsi qu'avec l'état de transformation dans lequel se trouvent les particules de l'agent de la fermentation. Il est évident que le nouvel arrangement qu'apportent dans les atomes la nature et les propriétés des produits nouvellement formés se trouve dans un rapport tout à fait déterminé avec le mode, la direction et l'intensité du mouvement qui agit sur eux. Toutes les matières organiques deviennent des agents de fermentation ou des ferments dès qu'elles passent à l'état de décomposition.... Tous les phénomènes de fermentation, pris dans leur ensemble, démontrent le principe établi depuis longtemps par Laplace et Berthollet : « qu'un » atome mis en mouvement par une force quelconque peut communiquer son » mouvement à un autre atome qui se trouve en contact avec lui. » C'est là une loi générale de dynamique qui conservé son caractère d'universalité partout où la résistance qui s'oppose au mouvement ne suffit pas pour le détruire. Comme cause nouvellement reconnue du changement des formes et des propriétés dans les combinaisons chimiques, cette loi est l'acquisition la plus importante et la plus durable dont l'étude de la fermentation ait enrichi la science (1). »

Si le système de M. Liebig est l'expression de la vérité, il devra suffire, pour décomposer certains corps faciles à transformer, de les ajouter à une fermentation alcoolique en train; le mouvement dont le sucre est le siège se communiquera au corps introduit et pourra le décomposer, bien que le mouvement primitif d'altération du ferment ne puisse se communiquer directement à cette substance; et, en retour, si un fait de ce genre est bien constaté quelque part, il apportera aux idées de M. Liebig un appui singulier. Une décomposition en apparence de cette nature a été observée, et on y a attaché, avec raison, l'importance qu'elle méritait. M. Dumas a vu en effet que l'urée se change en carbonate d'ammoniaque lorsqu'on l'introduit dans de l'eau sucrée à laquelle on ajoute de la levûre de bière; et, comme la levûre est impuissante par elle-même à transformer l'urée, on a dit que cette conversion est le résultat du mouvement communiqué à l'urée par la décom-

(1) LIEBIG, *Traité de Chimie organique*, introduction, p. 29. — Id., *Lettres sur la Chimie*, traduction française, XIV^e lettre, p. 180.

position du sucre, qui elle-même a sa source dans le mouvement d'altération de la levûre. Ainsi interprété, ce fait a acquis une très-haute importance au point de vue de la théorie de M. Liebig. M. Dumas y insiste beaucoup dans son *Traité de Chimie*; en traitant de la fermentation en général, après avoir montré comment la levûre de bière transforme le sucre, comment les plus petites quantités de lait aigri, de pâte de farine ou de jus de betterave aigris, de chair ou de sang putréfiés, occasionnent les mêmes altérations dans du lait, de la pâte de farine, du jus de betterave, de la chair, du sang non altérés, il ajoute : « De plus, et cette circonstance n'est pas la moins extraordinaire, si on met dans un liquide qui contient une substance en fermentation une autre substance qui ne serait pas altérée seule, celle-ci est décomposée sous l'influence de la première. En effet, si on met de l'urée en présence de la levûre de bière, elle n'éprouve aucun changement, tandis que si on l'ajoute à du sucre en train de fermenter, elle se convertit en carbonate d'ammoniaque; il y a donc deux modes de décomposition, l'un direct, l'autre secondaire. » Et plus loin, en résumant les réactions diverses que l'on confond sous le nom de fermentations, l'illustre chimiste ajoute qu'aux « produits principaux de la réaction peuvent se trouver mêlés des produits secondaires qui participent à la réaction par influence, comme c'est le cas des mélanges d'urée et de sucre (1). » Ailleurs la même idée est formulée d'une manière plus générale encore. En parlant de la fermentation des sucres : « Que si ces sucres, dit M. Dumas, se trouvent mêlés de certaines matières organiques, l'influence du ferment peut s'étendre sur elles. Impropres à l'entretenir vivant ou du moins agissant, elles peuvent en être décomposées quand il agit. De là bien des phénomènes sans doute dont la connaissance est à peine pressentie aujourd'hui (2). »

Quant à M. Liebig, dans le premier écrit où il ait soutenu ses idées (publié dans les *Annales de Chimie et de Physique* en 1839) il a rapporté ce fait en l'appuyant d'expériences personnelles, mais sans y insister beaucoup. Voici comment il s'exprime à cet égard : « M. Dumas me fit part, en automne 1837, qu'il était parvenu à transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque en la mettant en contact avec du ferment à une température élevée. Ce fait remarquable ne fut pas publié, un médecin anglais ayant démontré immédiatement après dans l'urine d'un diabétique la présence de l'urée dont il avait déterminé le poids après avoir détruit le sucre par la fermentation. Lorsque je fis préparer du sucre de diabète, provenant de l'urine d'un malade à l'hôpital de Giessen, il s'est trouvé que l'eau mère de l'urine dans laquelle la plus grande partie du sucre avait cristallisé donna par l'addition d'acide nitrique une grande quantité d'urée; on la mélangea avec du

(1) DUMAS, *Traité de Chimie*, t. VI, p. 312 et 313.

(2) DUMAS, *Traité de Chimie*, t. VI, p. 307.

ferment (1 partie de sirop pour 5 parties d'eau) et on l'abandonna à une température de 40 à 45 degrés; au bout de cinq jours la fermentation était terminée et le mélange donna par la distillation de l'alcool chargé d'ammoniaque. L'eau mère ne donna plus de nitrate d'urée par l'acide nitrique.

» Des expériences que j'ai faites avec une solution sucrée en fermentation, à laquelle on avait ajouté de l'hippurate de soude, de l'asparagine et d'autres substances encore, font voir que ces substances disparaissent lorsqu'on laisse la fermentation s'accomplir à des températures définies; du moins, à 35 degrés, une solution sucrée à laquelle j'avais ajouté de l'urée (1 partie pour 32 de sucre) ne m'en donna plus après qu'elle eut fermenté (1). »

Le résultat de l'expérience du médecin anglais rapportée par M. Liebig prouve que la transformation de l'urée dans la fermentation alcoolique, pour se produire quelquefois, est loin d'être constante, et enlève, par conséquent, à l'interprétation que l'on donnait de ce fait une partie de sa valeur, car on ne voit pas pourquoi le mouvement de décomposition où se trouve le sucre tantôt se communiquerait à l'urée et tantôt ne s'y communiquerait pas; mais ce qui est surtout digne de remarque, c'est que dans les écrits postérieurs où M. Liebig a de nouveau développé sa théorie, il ne soit plus fait mention de cette expérience dont la haute importance ne pouvait lui échapper. Ainsi, dans l'Introduction du *Traité de Chimie organique*, publié un an après la publication du premier Mémoire (1840) où se trouve reproduit en partie le premier travail, l'auteur a supprimé le passage que je viens de citer; dans les *Lettres sur la Chimie*, l'étude des fermentations occupe trois lettres, sans qu'il soit nulle part question de ce fait. Ce silence me paraît significatif (2), il montre le peu de confiance qu'avait M. Liebig dans l'exactitude de ce fait, qui, bien vérifié, n'aurait pas manqué d'être rappelé par lui aussi souvent que sa théorie, à laquelle il aurait apporté une preuve convaincante prise dans un phénomène de la même nature que ceux qu'elle prétend expliquer, condition que ne réalise aucun des arguments apportés dans cette discussion.

(1) LIEBIG, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. LXXI, p. 182.

(2) Ce n'est pas à dire pour cela que M. Liebig ait abandonné ses idées sur la communication du mouvement dans les fermentations; elles se trouvent au contraire reproduites, quoiqu'un peu modifiées et appuyées sur d'autres faits, dans ses *Nouvelles Lettres sur la Chimie*. « Si l'on considère, dit-il, que l'effet de la levûre ne se borne pas au sucre, mais qu'il s'étend aussi à d'autres matières qui, par leur contact avec la levûre, éprouvent une métamorphose semblable à celle du sucre; que, dans l'eau sucrée en fermentation, le tannin se convertit en acide gallique, l'acide malique du malate de chaux en acides succinique, acétique et carbonique,... » (LIEBIG, *Nouvelles Lettres sur la Chimie*, traduction française, p. 32; 1852.) Ce qui est constant, c'est que le fait relatif à l'urée n'y est plus invoqué. Je me réserve d'étudier, dans un travail sur la transformation du tannin, dont je m'occupe en ce moment, cette prétendue conversion du tannin en acide gallique sous l'influence de la fermentation alcoolique du sucre.

Quoi qu'il en soit, l'existence d'une classe de fermentations secondaires était regardée comme un fait accrédité dont toute théorie de la fermentation devrait désormais rendre compte; on y attachait donc avec raison une très-grande importance, et il faut avouer qu'il était singulièrement favorable aux idées de M. Liebig. Aussi l'a-t-on souvent invoqué dans les discussions relatives aux fermentations. M. Pasteur devait donc, dans les idées nouvelles que ses expériences tendaient à établir, s'en préoccuper gravement. Dès ses premières observations, il put se convaincre de son inexactitude quant à l'interprétation du phénomène, et il l'infirmait nettement dans ces termes: « Ce que je puis affirmer, dans tous les cas, c'est l'inexactitude d'un fait qui a été souvent cité dans les discussions auxquelles ont donné lieu les théories relatives à l'origine des fermentations. Ce fait bien connu, consisterait dans la décomposition de l'urée sous l'influence de la fermentation alcoolique du sucre. Toutes les fois que j'ai vu l'expérience réussir, la levûre de bière s'est trouvée mêlée à la torulacée en chapelets dont je viens de parler, et, lorsque la levûre de bière restait homogène, sans mélange d'aucune autre production particulière, l'urée n'avait éprouvé aucune altération. Le fait qui précède, mieux étudié, concorde donc avec les idées nouvelles que j'ai émises dans ces dernières années au sujet de l'origine des fermentations proprement dites (1). »

J'apporte dans cette partie de mon travail les preuves expérimentales de l'inexactitude de ce fait; les expériences que je vais décrire s'accordent à établir que, dans quelque condition qu'elle s'opère, la fermentation de l'urée est toujours directe au même titre que la transformation du sucre par la levûre de bière, et que la prétendue classe de fermentations secondaires n'existe pas.

Influence de la non-homogénéité des ferments.

Urée dans l'eau avec levûre de bière. — « Je rappelle, dit M. Dumas, que l'urée pure et la levûre de bière, mises en présence, ne donnent pas signe de décomposition, même après plusieurs jours; il n'en est plus de même de la levûre de bière ajoutée à de l'urine en nature. » Les expériences suivantes confirment ces deux propositions et expliquent la différence des deux modes d'action de la levûre.

Le 28 novembre 1862, je mets à l'étuve 125 grammes d'eau contenant 1 gramme d'urée et 1 gramme de levûre fraîche. Le 5 décembre, le liquide est limpide et neutre. Le 12, il est légèrement alcalin, fétide, troublé par de nombreux infusoires vibrions; le dépôt du fond est formé de globules de levûre

(1) PASTEUR, Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LXIV.

très-granuleux mélangés avec des granules solides, provenant de la destruction des enveloppes d'un certain nombre de globules de levûre par les infusoires : cette putréfaction partielle de la levûre explique la fétidité du liquide et sa faible alcalinité; mais l'urée n'a pas disparu. Examiné le 5 avril 1863, le liquide est alcalin, mais 5 centimètres cubes ne contiennent que 0^{gr},004 d'ammoniaque. Le dépôt du fond ne contient plus un seul globule de levûre, tous ont perdu leurs membranes, et leurs granules solides réunis en amas, et mélangés à des grains d'amidon provenant de la falsification de la levûre, constituent le dépôt. Ainsi, toute la levûre a été détruite par les infusoires avec formation d'ammoniaque, mais l'urée n'a pas subi d'altération, et on n'a jamais rencontré son ferment dans le liquide.

Urée dans l'eau de levûre ou dans l'urine, avec levûre de bière. — Si l'on ajoute de la levûre de bière à une dissolution d'urée dans l'eau de levûre, il en est quelquefois autrement. Le liquide devient peu à peu alcalin et l'urée disparaît; mais si nous examinons une goutte du liquide, nous y trouvons des chapelets de la torulacée de l'urée; c'est donc à cause du développement de son ferment dans la liqueur que l'urée se transforme; la levûre de bière n'a agi que comme véhicule du ferment. C'est là l'explication de l'expérience de M. Jacquemart, dont j'ai parlé plus haut, et, ce qui le prouve encore mieux, c'est que le même fait peut se produire d'une manière inverse.

Sucre dans l'eau avec ferment de l'urée. — Le 28 novembre 1862, j'ajoute à une dissolution de 4 grammes de sucre dans 100 grammes d'eau une petite quantité du dépôt d'une urine fermentée; dès les premiers jours, de petites bulles gazeuses se dégagent; le 12 décembre, le dégagement est actif, le liquide est trouble, acide, alcoolique, et le fond du vase est recouvert de taches blanches, saillantes, qui sont exclusivement formées de globules translucides, ovoïdes, bourgeonnants, dont le diamètre est de 0^{mm},005 : c'est de la levûre de bière extrêmement jeune d'aspect; après quelques jours, le dégagement gazeux s'arrête, bien qu'il reste beaucoup de sucre, la levûre ne trouvant plus dans ce milieu les éléments d'un développement plus considérable. Ainsi, en semant dans de l'eau sucrée la torulacée de l'urée extraite d'une fermentation ammoniacale, on y a déterminé une fermentation alcoolique avec formation d'une quantité correspondante de levûre de bière, tandis que le ferment de l'urée ne s'est pas développé; l'explication est toute simple. Le dépôt semé contenait, mêlés aux petits globules, quelques globules de levûre de bière qui, introduits dans de l'eau sucrée avec quelques cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien et un peu de carbonate d'ammoniaque, se sont développés et ont fait fermenter une partie du sucre.

A cause de la non-homogénéité du ferment, on provoque donc quelquefois, en semant une production, le développement d'une production différente dont la

semence contenait les germes, et cela arrive quand le nouveau milieu, non approprié au premier ferment, est propre au développement du second; il faut donc, avant de rien conclure, examiner avec soin les productions organisées qui se sont développées dans le liquide où s'est produit un phénomène connu.

Examinons maintenant ce qui se passe quand dans un milieu albuminoïde, tenant en dissolution de l'urée et du sucre, on sème l'un ou l'autre des deux ferments, ou tous les deux ensemble, et encore quand on ne sème ni l'un ni l'autre. Je ne citerai, pour chaque cas, qu'une seule des nombreuses expériences que j'ai réalisées.

1^o *Dissolution d'urée et de sucre dans l'eau de levûre ou dans l'urine, avec levûre de bière.* — Le 20 octobre, à 5 heures, on a dissous dans 100 centimètres cubes d'eau de levûre 1 gramme d'urée et 2 grammes de sucre, et, après y avoir ajouté gros comme une tête d'épingle de levûre de bière, on a placé le liquide à l'étuve dans un flacon muni d'un tube abducteur plongeant dans l'eau. On a pris soin de retirer 10 centimètres cubes du mélange pour y doser l'urée par le procédé de M. Liebig; on y ajoute 5 centimètres cubes d'un mélange à volumes égaux d'eau de baryte et de solution de nitrate de baryte, et à 12 centimètres cubes du liquide filtré contenant 8 centimètres cubes de la liqueur mise en expérience il faut ajouter 7^{cc},6 de la solution titrée de nitrate de mercure pour amener la coloration jaune par le carbonate de soude : ces 8 centimètres cubes contiennent donc 80 milligrammes d'urée, ce qui s'accorde avec la pesée. — Le 21 octobre, le dégagement gazeux est actif; le 23, il se ralentit, le liquide s'éclaircit par le dépôt de la levûre; il est franchement acide. J'en prends 10 centimètres cubes que je traite comme il vient d'être dit, et à 12 centimètres cubes de liquide filtré contenant 8 centimètres cubes du liquide fermenté il faut ajouter 7^{cc},5 de nitrate de mercure pour obtenir le précipité jaune; le dosage de l'urée donne donc exactement le même résultat qu'avant la fermentation alcoolique. — D'autre part, on verse 20 centimètres cubes du liquide fermenté dans un petit matras sur 5 grammes de chaux hydratée; on met ce matras en communication, d'un côté avec l'air extérieur par un tube droit qui plonge dans le liquide, de l'autre avec une éprouvette à pied contenant 5 centimètres cubes de dissolution titrée d'acide sulfurique, et reliée elle-même avec un aspirateur. On chauffe le matras au bain-marie à 40 degrés et, maintenant cette température constante, on fait passer un courant d'air rapide à travers l'appareil au moyen de l'aspirateur; après une heure et demie d'expérience, on verse le contenu de l'éprouvette dans un verre à pied, en la lavant avec soin, on y ajoute quelques gouttes de tournesol, et on trouve que, pour ramener au bleu, il faut ajouter 32^{cc},8 de la dissolution titrée de potasse. Les 5 centimètres cubes de liqueur sulfurique auraient exigé avant l'expérience 33 centimètres cubes pour être neutralisés; il n'y a donc dans le liquide qu'une quantité

très-faible d'ammoniaque qu'il faut attribuer à la décomposition des sels ammoniacaux de l'eau de levûre.

L'acidité du liquide, le dosage de l'urée et celui de l'ammoniaque s'accordent donc à montrer qu'il n'a pas disparu trace d'urée pendant la fermentation alcoolique du sucre. D'ailleurs, l'examen attentif du dépôt montre qu'il est formé exclusivement de globules de levûre sans mélange de petite torulacée.

Avec l'urine, l'expérience conduit au même résultat, mais d'une manière plus saisissante, et avec des conséquences plus curieuses.

Le 7 août 1863, à 5 heures, j'ajoute à 100 centimètres cubes d'urine fraîche 5 grammes de sucre et gros comme un petit pois de levûre de bière; le liquide est placé à l'étuve dans un flacon à tube abducteur. J'effectue le dosage de l'urée sur un échantillon de cette urine. A 10 centimètres cubes j'ajoute 5 centimètres cubes de liqueur barytique, et à 9 centimètres cubes de liquide filtré contenant 6 centimètres cubes d'urine il faut ajouter $14^{\text{cc}},4$ de nitrate mercurique, qui correspondent, vu le titre, à $151^{\text{mgr}},4$ d'urée; ce qui fait une richesse de $25^{\text{gr}},2$ pour 1000. Le lendemain la fermentation alcoolique marche bien; le 11 août le dégagement gazeux est presque terminé, la levûre s'est rassemblée au fond, et le liquide est limpide et franchement *acide*. J'en retire 10 centimètres cubes, j'y ajoute 10 centimètres cubes de liqueur barytique, et à 12 centimètres cubes de liquide filtré contenant 6 centimètres cubes d'urine il faut ajouter $14^{\text{cc}},4$ de nitrate mercurique pour avoir le précipité jaune; c'est exactement le chiffre obtenu dans le dosage de l'urine fraîche; l'urée n'a donc pas disparu dans l'urine sous l'influence de la fermentation alcoolique du sucre. Examiné après deux mois et demi de séjour à l'étuve, le 23 octobre, le liquide est limpide et franchement *acide*; à sa surface s'est développé un mycoderme en globules ovoïdes, ayant une enveloppe très-mince, quoique nettement distincte, et à l'intérieur un gros noyau solide. Ces globules sont disposés en chapelets et bourgeonnent: leur diamètre = $0^{\text{mm}},0037$. (Voir *fig. 4, a.*) Au fond se trouve un dépôt blanc de levûre de bière en globules parfaitement conservés, associé à des grains rouges d'acide urique, mais où on ne peut trouver les petits globules du ferment de l'urée. A 10 centimètres cubes du liquide j'ajoute 10 centimètres cubes de liqueur barytique, et à 12 centimètres cubes du liquide filtré contenant 6 centimètres cubes d'urine il faut ajouter $14^{\text{cc}},6$; il n'y a donc pas eu transformation de l'urée dans ce liquide depuis que la fermentation alcoolique est terminée, c'est-à-dire depuis deux mois et demi. D'autre part, je dose l'ammoniaque par le procédé indiqué pour l'expérience précédente. Après avoir mis 20 centimètres cubes de liquide dans le matras avec 4 grammes de chaux, et 5 centimètres cubes de liqueur sulfurique titrée dans l'éprouvette, je fais passer un courant d'air à travers le liquide maintenu à 40 degrés, pendant une heure et demie; le papier de tournesol rouge, placé dans le tube qui relie le

matras à l'éprouvette, a bleui dès les premiers instants; après la fin de l'expérience il faut, pour neutraliser l'acide de l'éprouvette, 31^{cc},8 d'une solution de potasse telle que, pour saturer 10 centimètres cubes de la liqueur acide, il en faille 68 centimètres cubes. S'il n'y avait pas eu d'ammoniaque dégagée, il aurait fallu 34 centimètres cubes de solution alcaline; la différence 2^{cc},2 correspond à $\frac{22 + 0,0212}{68} = 0^{\text{gr}},007$ d'ammoniaque. Or, l'urine fraîche contient des sels ammoniacaux dont M. Boussingault a dosé l'ammoniaque avec une extrême précision; la moyenne des nombres obtenus a été pour 20 centimètres cubes d'urine 0^{gr},023. La quantité d'ammoniaque déterminée dans notre expérience est beaucoup plus faible, ce qui tient à ce que l'affinité de l'ammoniaque libre pour l'eau ne peut être entièrement vaincue par un courant d'air qui traverse le liquide chauffé à 40 degrés, l'expérience durât-elle cinq heures, comme l'a démontré M. Boussingault; pour expulser la totalité de l'ammoniaque, il faut déterminer l'ébullition dans le vide.

Quoi qu'il en soit, il résulte évidemment de ce dosage qu'il ne s'est pas formé d'ammoniaque pendant la fermentation alcoolique, ni pendant les deux mois et demi qui ont suivi ce phénomène; l'urée n'a donc pas fermenté.

Examiné le 5 mai 1864, le liquide est limpide, acide, odeur fraîche; plus de pellicule à la surface; le dépôt du fond est formé de deux zones très-distinctes.

La zone supérieure est constituée exclusivement par ce mycoderme en globules à noyau solide, qui est tombé de la surface où il formait une pellicule; la zone inférieure est formée de la levûre de bière développée pendant la fermentation alcoolique; les globules en sont bien conservés, mais fortement granuleux. Je n'y vois pas trace de globules du ferment de l'urée. Voilà donc une expérience où, grâce à la fermentation alcoolique qu'on y a excitée aussitôt après son émission, de l'urine est restée inaltérée pendant neuf mois.

La fermentation alcoolique du sucre, avec développement exclusif de globules de levûre de bière, n'entraîne donc nullement la transformation de l'urée, même dans l'urine où sa conversion est la plus facile; au contraire, il suffit de déterminer, dans un échantillon d'urine, la fermentation alcoolique en y ajoutant du sucre et une trace de levûre de bière, pour que l'urée y demeure inaltérée pendant un temps considérable, si on n'y permet pas l'accès libre de l'air. L'acidité de la liqueur favorise le développement des pellicules mycodermiques (le *mycoderma vini* s'y développe souvent) qui couvrent la surface, et le liquide se trouve protégé au moins pour un certain temps contre le développement de la petite torulacée, et par conséquent contre la transformation de l'urée.

Au lieu de semer, comme nous venons de le faire, dans la dissolution de sucre et d'urée une trace de levûre de bière, si l'on en ajoute une forte proportion, plu-

sieurs grammes, par exemple, le résultat peut quelquefois être tout différent, bien que la conclusion à en tirer reste la même; il peut y avoir disparition d'urée; c'est dans ces conditions qu'ont été faites les expériences sur lesquelles repose l'interprétation que nous combattons, et nous pouvons nous rendre compte de l'erreur où l'on est tombé. Il est certain qu'on augmente ainsi les chances d'impureté de la levûre, tandis qu'on les annule à peu près par l'ensemencement. Il pourra donc arriver que la levûre introduite contienne des globules du ferment de l'urée, et que ces globules se développent en engendrant le phénomène qui leur est corrélatif, la transformation de l'urée; ce développement ou bien sera étouffé par celui de la levûre de bière, et une faible partie seulement de l'urée disparaîtra, ou bien se fera parallèlement à celui de la levûre, et les deux fermentations seront simultanées; mais, dans ce dernier cas, la fermentation du sucre dévie de sa marche première, comme nous le verrons plus loin, en étudiant le cas auquel celui-ci se rattache.

Disons tout de suite que, même dans ces conditions, la disparition de l'urée est loin d'être le résultat ordinaire. Bien plus souvent elle est nulle ou insignifiante, la levûre étant bien homogène, ou les quelques globules de petite torulacée qu'elle contient étant étouffés par son propre développement. L'expérience suivante vient à l'appui de cette assertion.

Le 30 juillet, on a placé à l'étuve dans un flacon muni d'un tube abducteur 100 centimètres cubes d'eau, 5 grammes de sucre, 2 grammes d'urée, 1 gramme de levûre de bière. Le 3 août, la fermentation alcoolique est terminée, le liquide est acide, et le dosage de l'urée par le nitrate de mercure exécuté comme je l'ai indiqué plus haut indique 19 à 20 milligrammes d'urée par centimètre cube; il n'a donc pas disparu d'urée pendant la fermentation alcoolique, la levûre est d'ailleurs parfaitement homogène. Les jours suivants il se forme à la surface du liquide une pellicule de *mycoderma vini*. Examiné le 24 octobre, le liquide est toujours acide, limpide, sa surface est couverte de la même pellicule, et le dépôt du fond est formé de globules de levûre bien conservés. 20 centimètres cubes du liquide traités par la chaux de la manière que j'ai indiquée ont ramené le titre de l'acide de 20,4 à 18,7; différence 1^{co},7, correspondant à 0^{sr},005 d'ammoniaque, quantité très-faible et attribuable aux sels ammoniacaux de la levûre; il n'y a donc pas eu transformation sensible de l'urée ni pendant la fermentation alcoolique, ni après trois mois de séjour à l'étuve. Étudié le 5 avril 1864, le liquide est acide, odeur un peu butyrique. Le dépôt du fond est formé de deux couches distinctes. La couche supérieure est constituée par le mycoderme tombé de la surface (*fig. 4, a*). La couche inférieure est formée par les globules de levûre de bière *b* bien conservés, mais leurs granules sont très-développés, et leurs parois, amincies, sont très-transparentes. Ces globules sont mêlés à une petite quantité d'autres productions : 1^o des globules étranglés du ferment lactique *c*; 2^o des infusoires butyriques *d*; 3^o quelques

courts chapelets de globules *e* identiques au ferment de l'urée. Il y a quatre ferments distincts dans le champ; on voit donc quelle complication peuvent offrir ces phénomènes et avec quelle facilité l'examen microscopique des ferments les met en évidence.

Dans les expériences précédentes les liquides étaient enfermés dans des flacons bouchés; mais si on les place sous les mêmes conditions dans des vases largement ouverts à l'air, le phénomène se complique. La fermentation alcoolique s'opère d'abord simplement comme dans les exemples cités; mais très-peu de jours après que le dégagement gazeux a cessé, la fermentation ammoniacale se déclare et se complète; il y a en même temps apparition et développement de la petite torulacée qui envahit tout le liquide. L'expérience suivante montre la succession des deux phénomènes. Le 14 octobre 1863, j'ajoute à 150 centimètres cubes d'urine fraîche 5 grammes de sucre et gros comme un pois de levûre fraîche; le liquide est placé à l'étuve dans un vase imparfaitement fermé par un couvercle en verre; dès le lendemain, le dégagement gazeux est considérable; le 17 octobre il est terminé, le liquide est acide, limpide, la levûre s'est rassemblée au fond du vase; l'examen microscopique n'y montre pas de ferment de l'urée. Dans cette première période, l'expérience est identique aux précédentes, l'urée n'a pas disparu; mais le 19 octobre, le liquide est de nouveau troublé, il est rempli de chapelets de la petite torulacée, très-alcalin; 5 centimètres cubes contiennent 0^{sr},023 d'ammoniaque; la fermentation ammoniacale marche avec développement de son ferment; le 21 octobre, toute l'urée a disparu, le liquide s'est éclairci et le dépôt blanc du fond est formé de deux couches superposées et nettement distinctes: la couche supérieure est formée exclusivement des chapelets du ferment de l'urée, la couche inférieure de levûre de bière. Quand on prend sans précautions une partie de ce dépôt complexe pour l'étudier au microscope, il se fait dans les premiers instants un départ curieux entre les deux ferments; les globules de levûre de bière tombent tout de suite sur la face supérieure du verre, tandis que les chapelets de la petite torulacée, moins denses, restent suspendus dans le liquide: de sorte qu'on peut, en changeant de point, observer tour à tour chacun des deux ferments parfaitement isolés; leur position relative est d'ailleurs en rapport avec leur ordre de développement. Dans les expériences de ce genre, la fermentation alcoolique se déclare donc tout d'abord sous l'influence de son ferment qu'on a introduit dans le liquide, sans qu'il y ait transformation de l'urée; puis, cette première phase accomplie, la liqueur se comporte comme de l'urine fraîche, acide, exposée à l'air; les germes de la petite torulacée s'y développent, et l'urée s'y transforme entièrement: les deux phénomènes sont donc bien distincts, successifs et directs au même titre.

2^o *Dissolution de sucre et d'urée avec ferment de l'urée.* — Nous allons voir la même succession, un peu moins distincte peut-être, se produire en sens inverse, si nous

semons le ferment de l'urée dans une dissolution d'urée et de sucre appropriée à son développement.

Le 26 octobre, à 150 centimètres cubes d'eau de levûre j'ajoute 5 grammes de sucre, 2 grammes d'urée, et des semences d'une urine en fermentation; le tout est mis à l'étuve dans un flacon bouché. Le lendemain, le liquide est trouble, rempli de beaux chapelets de petite torulacée, très-alkalin; 5 centimètres cubes contiennent 0^{sr},010 d'ammoniaque; le 28, l'alkalinité augmente, 5 centimètres cubes contiennent 0^{sr},017 d'ammoniaque; le 29, il y a dégagement d'acide carbonique et diminution de l'alkalinité; il s'est donc formé un acide qui a saturé une partie de l'ammoniaque en chassant l'acide carbonique; la liqueur contient d'ailleurs le ferment lactique mélangé au ferment de l'urée; le sucre fermente donc lactiquement en même temps que l'urée; il se forme du lactate d'ammoniaque, tandis que l'acide carbonique se dégage.

L'alkalinité du milieu ne permet pas à la levûre de bière de s'y développer; elle est plus favorable au contraire au ferment lactique; les jours suivants, le dégagement gazeux continue, l'alkalinité diminue lentement, et la levûre lactique se développe; puis, la fermentation ammoniacale terminée, la transformation du sucre se poursuit; le 6 novembre, le liquide est acide, le dégagement d'acide carbonique a cessé, tout le carbonate d'ammoniaque se trouvant changé en lactate. Le dépôt est formé d'innombrables chapelets de ferment de l'urée, mêlés à la levûre lactique; la petite torulacée atteint dans cette expérience un développement qu'elle n'acquiert pas dans la dissolution d'urée dans l'eau de levûre. Ce résultat est dû à la présence du sucre.

En semant le ferment de l'urée dans l'urine sucrée, on arrive au même résultat. Il arrive souvent que la fermentation lactique se développe de très-bonne heure, de sorte que les transformations du sucre et de l'urée s'accomplissent simultanément avec dégagement d'acide carbonique et développement de leurs ferments respectifs; ces deux fermentations parallèles, donnant l'une un acide, l'autre un alkali, se contre-balancent de façon que le liquide oscille entre une faible alkalinité et une faible acidité; la fermentation lactique s'opère donc dans d'excellentes conditions; l'action de la levûre ammoniacale sur l'urée est une source de carbonate d'ammoniaque qui joue le rôle connu du carbonate de chaux, et il paraît aussi que cette nature de milieu convient très-bien à la fermentation ammoniacale, puisque son ferment s'y développe avec une abondance qu'il n'atteint pas dans l'eau de levûre et même dans l'urine non sucrée.

Ces expériences établissent qu'en excitant la fermentation de l'urée dans un milieu sucré, on détermine la fermentation lactique du sucre avec développement de la levûre correspondante, et que souvent les deux phénomènes s'équilibrent de manière à maintenir à peu près la neutralité du milieu, circonstance qui paraît

également favorable aux deux fermentations. Admettons pour un instant que dans la fermentation alcoolique du sucre la disparition de l'urée, quand elle a lieu, soit secondaire, ne serons-nous pas tout aussi fondés, dans le cas présent, à dire que dans la fermentation ammoniacale en présence du sucre la transformation de celui-ci est secondaire? Mais nous voyons que dans l'un comme dans l'autre cas les fermentations simultanées ou successives sont toujours directes, c'est-à-dire qu'elles sont toujours accompagnées de la vie et du développement du ferment qui leur est particulier.

3° *Dissolution d'urée et de sucre abandonnée à l'air sans addition de ferment.* — Voyons maintenant ce qui arrive quand on expose à l'air, sans y ajouter de semences, une dissolution d'urée et de sucre dans un milieu albuminoïde propre au développement des ferments.

Le 26 octobre, je dissous 5 grammes de sucre dans 150 centimètres cubes d'urine fraîche, et je mets la dissolution à l'étuve dans un vase ouvert à l'air. Le lendemain, le liquide est fortement alcalin, une pellicule cristalline recouvre la surface, des flocons se déposent sur les parois; le liquide est plein de beaux chapelets de ferment de l'urée; il n'y a pas de dégagement gazeux. Les jours suivants, la fermentation ammoniacale continue seule avec développement exclusif de son ferment: le 29, l'urée a entièrement disparu, sans que le sucre ait fermenté, puisqu'il ne s'est pas dégagé de gaz, et le liquide conserve le même aspect les jours suivants.

L'urine sucrée s'est donc comportée dans cette expérience comme de l'urine ordinaire où la fermentation se serait déclarée promptement; l'urée seule y a fermenté avec développement de son ferment, et le liquide a acquis rapidement une alcalinité assez forte pour que le ferment lactique ne puisse s'y développer.

Mais le phénomène est loin d'être toujours aussi simple. Le 14 octobre, j'abandonne à l'étuve, dans un vase ouvert à l'air, 150 centimètres cubes d'urine fraîche où j'ai dissous 5 grammes de sucre. Le lendemain, dégagement considérable d'acide carbonique, le liquide est neutre; examiné au microscope, il contient beaucoup de chapelets de la petite torulacée et un assez grand nombre de bâtonnets étranglés de levûre lactique rangés aussi en chapelets; pas de levûre de bière, le sucre et l'urée fermentent donc en même temps; il se forme du lactate d'ammoniaque et de l'acide carbonique, tandis qu'entre ces deux actions contraires la neutralité se conserve pendant quelque temps; pourtant, le 20 octobre, le liquide est fortement alcalin, le dégagement gazeux a cessé quoiqu'il reste du sucre, la fermentation ammoniacale a pris le dessus, et la forte alcalinité qu'elle a communiquée au liquide a paralysé l'action du ferment lactique. Le dépôt du fond est d'ailleurs constitué par un mélange des deux ferments où domine beaucoup la torulacée de l'urée.

Il arrive quelquefois que le sucre commence à fermenter alcooliquement avec

développement de globules de levûre de bière, avant l'apparition du ferment de l'urée, quand le milieu est légèrement acide. Ce sont en effet les conditions favorables à la fermentation alcoolique; mais dès que la petite torulacée apparaît dans le liquide, la transformation de l'urée qu'elle engendre le rend bientôt neutre, puis faiblement alcalin; dans ces nouvelles conditions, défavorables à la levûre alcoolique, la décomposition du sucre dévie de sa marche première, le ferment lactique se développe concurremment avec le ferment ammoniacal, qui finit par l'étouffer à son tour en augmentant l'alcalinité du milieu.

La succession de phénomènes que montre cette analyse confirme les observations de M. Pasteur sur l'influence du caractère des milieux (1). « La pureté d'un ferment, dit-il, son homogénéité, son développement libre sans aucune gêne, à l'aide d'une nourriture très-bien appropriée à sa nature individuelle, voilà l'une des conditions essentielles des bonnes fermentations. Or, à cet égard, il faut savoir que les circonstances de neutralité, d'alcalinité, d'acidité ou de composition chimique des liqueurs ont une grande part dans le développement prédominant de tels ou tels ferments, parce que leur vie ne s'accommode pas au même degré des divers états des milieux. » C'est ainsi que dans l'eau de levûre sucrée, la levûre de bière se développe spontanément et la fermentation est alcoolique, parce que la liqueur est légèrement acide. Rend-on, au contraire, l'eau de levûre neutre en y ajoutant du carbonate de chaux, ou alcaline en y ajoutant de la magnésie, le ferment lactique ordinairement associé au ferment butyrique s'y développe et donne du lactate de chaux ou du lactate de magnésie.

4° *Sucre et urée dans l'eau de levûre avec semences des deux ferments.* — Nous allons retrouver la même succession de phénomènes en examinant le dernier cas qu'il nous reste à étudier : celui où dans une dissolution de sucre et d'urée on sème à la fois la levûre de bière et la torulacée de l'urée.

Le 26 octobre 1863, je mets à l'étuve un flacon contenant 100 centimètres cubes d'eau de levûre, 2 grammes d'urée, 5 grammes de sucre, gros comme une tête d'épingle de levûre fraîche, et une petite partie du dépôt d'une urine fermentée. Le lendemain, le liquide est trouble, alcalin, 54 pour 100 de l'urée ont disparu, pas de dégagement gazeux; la fermentation alcoolique ne s'est pas déclarée, bien qu'on ait semé son ferment, et nous savons qu'elle ne se déclarera plus; le liquide est plein de beaux chapelets de la torulacée de l'urée, la levûre de bière est réunie au fond, elle est frappée d'inactivité. Le 28, quelques bulles d'acide carbonique se dégagent, et l'alcalinité diminue; en même temps l'examen attentif du liquide y montre le ferment lactique mêlé aux chapelets. L'alcalinité diminue les jours suivants, et, le 3 novembre, le liquide est neutre.

(1) PASTEUR, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LII, p. 414.

Ainsi, le ferment de l'urée, en rendant promptement le milieu alcalin, a empêché bientôt la levûre de bière de se développer et de transformer le sucre en alcool et en acide carbonique; il a d'abord agi seul, puis le ferment lactique s'est développé dans le liquide, bien qu'on ne l'y ait pas semé, et les deux fermentations ont été simultanées; puis la fermentation lactique continue après la disparition totale de l'urée, jusqu'à ce que le milieu soit devenu acide, circonstance qui arrête bientôt le développement de son ferment. Quelquefois la fermentation ammoniacale a le temps de s'achever complètement avant que le ferment lactique s'introduise dans le liquide pour transformer le sucre : les deux phénomènes sont alors bien distincts et successifs.

D'autres fois la fermentation alcoolique s'accomplit pendant quelque temps, en même temps que la fermentation ammoniacale, jusqu'à ce que le liquide soit bien alcalin, puis elle s'arrête; le ferment lactique apparaît, et ainsi de suite.

Ainsi, qu'on sème ou non la levûre de bière dans une dissolution d'urée et de sucre où l'on a introduit le ferment de l'urée, le résultat est le même, puisque ce ferment est inactif, et que le sucre, en présence de la fermentation ammoniacale, se détruit lactiquement.

Nous savons maintenant avec exactitude, d'après le résultat des expériences dont je viens de rendre compte, ce qui se passe dans les expériences d'où l'on a cru pouvoir conclure la transformation secondaire de l'urée. A de l'urine sucrée, par exemple, on ajoute de la levûre de bière: la fermentation alcoolique se déclare d'abord; puis, le ferment de l'urée venant à se développer dans le liquide, que ses germes soient apportés par l'air ou par la levûre, l'urée se détruit et le milieu devient neutre et alcalin; alors la levûre de bière cesse d'agir; la levûre lactique se développe; on continue, il est vrai, à observer un dégagement d'acide carbonique, mais il provient, désormais, de la décomposition du carbonate d'ammoniaque formé par l'urée et de la formation du lactate d'ammoniaque. Trois fermentations distinctes ont donc lieu dans cette expérience qui paraissait si simple, et toutes les trois, sont directes au même degré, puisqu'elles ont lieu toutes les trois avec développement de leurs ferments particuliers.

En résumé, toutes ces expériences où le sucre et l'urée ont été mis en présence de leurs ferments dans le même milieu, et sous des conditions diverses, conduisent à ces deux conclusions précises :

1° La fermentation alcoolique, quand elle se produit seule avec développement exclusif de son ferment, ne transforme jamais l'urée ;

2° Toutes les fois que l'urée se transforme dans un liquide sucré, c'est que le ferment qui lui est particulier, et dont nous avons établi les propriétés, vit et se développe dans la liqueur; et, quand cela arrive, la fermentation alcoolique, si

elle avait lieu, cesse bientôt pour faire place à la fermentation lactique, dont le ferment apparaît dans le liquide dès qu'il est alcalin.

Elles donnent en outre une idée de la complication que peuvent atteindre ces sortes de phénomènes, quand plusieurs substances susceptibles de se transformer par des ferments différents se trouvent dissoutes dans le même milieu, et de l'attention minutieuse avec laquelle il importe de suivre à la fois l'examen chimique des produits et surtout l'étude microscopique des ferments. Elles montrent enfin que, quelque nombreuses que soient ces fermentations simultanées, elles sont toujours *directes*, c'est-à-dire qu'elles se font sous l'influence de la même cause qui les provoque quand elles s'opèrent isolément dans les circonstances normales. La prétendue classe de fermentations *secondaires* n'existe pas.

Conclusion et importance du rôle du ferment de l'urée dans la nature. — La conclusion la plus générale qu'on puisse tirer de l'ensemble des faits exposés dans les deux premières Parties de ce travail peut s'exprimer ainsi : Toutes les fois que l'urée, dans un milieu quelconque, se convertit en carbonate d'ammoniaque sans que cette transformation puisse se rapporter à l'action des acides, des alcalis ou d'une température très-élevée, c'est que dans ce milieu vit et se développe un petit organisme végétal formé de globules sphériques rangés en chapelets. Toutes les conditions qui gênent ou favorisent le développement de ce petit végétal gênent ou favorisent à un égal degré la conversion de l'urée ; enfin, ce corps reste indéfiniment inaltéré, même dans les liquides les mieux appropriés, quand, par une cause quelconque, ces petits chapelets ne s'y développent pas ; ils ne peuvent être suppléés dans leur rôle par aucune autre production organisée ; ils constituent donc ce que nous appelons le *ferment ammoniacal*, au même titre que la levûre de bière est le ferment alcoolique du sucre, les articles étranglés le ferment lactique, les vibrions le ferment butyrique, etc., etc.

La considération suivante fera mieux ressortir l'importance du rôle que joue ce petit ferment dans l'économie de la nature. On sait, depuis Fourcroy et Vauquelin, que l'urée est la forme sous laquelle l'azote des tissus est éliminé de l'organisme animal ; cette urée ne devient assimilable aux plantes qu'à la condition d'être convertie en sel ammoniacal à sa sortie de l'organisme ; le rôle en est échu au petit végétal que nous avons étudié ; il est l'intermédiaire obligé entre l'animal et le végétal supérieurs. Tous les produits de sécrétion de l'organisme contiennent de l'urée ; mais, à ne parler que de l'urine qui en est la source la plus abondante, il a été reconnu qu'en moyenne un homme émet par jour 1 kilogramme d'urine qui contient de 28 à 30 grammes d'urée ; la quantité quotidienne d'urée est de 28 grammes environ ; soit, pour la population totale du globe, en l'estimant à un milliard d'habitants, 28 millions de kilogrammes d'urée par jour. En outre, tous les mammifères émettent une urine très-riche en urée, et le nombre en est

immense à la surface du globe; ici les évaluations précises font nécessairement défaut. En ne tenant compte que de la race humaine, ces 28 millions de kilogrammes d'urée sont transformés à mesure, par le petit ferment, en carbonate d'ammoniaque, et nous savons que par litre d'urine, c'est-à-dire par 28 grammes d'urée transformée, il se développe environ 0^{sr},40 de globules. 400 000 kilogrammes de ferment se forment donc chaque jour à la surface du globe aux dépens de l'urine humaine seule, en fournissant à la vie végétale 45 millions de kilogrammes de carbonate d'ammoniaque, terme dernier des métamorphoses des substances azotées. Sous cette forme, l'azote pourra être assimilé par les plantes, soit directement, soit en s'oxydant d'abord sous l'influence des matières poreuses du sol et d'autres causes encore assez peu connues, et en se convertissant en nitrates.

Ce dédoublement de l'urée en acide carbonique et en ammoniaque avec fixation d'eau, que nous produisons dans les laboratoires par l'action d'une température élevée, par l'ébullition avec les acides et les alcalis, se trouve donc accompli dans la nature par une force toute différente en harmonie avec les conditions naturelles, inconnue dans son essence, mais liée nécessairement à la vie et au développement d'un être organisé microscopique.

C'est le premier exemple d'une fermentation de ce genre; je vais en apporter un second.

TROISIÈME PARTIE.

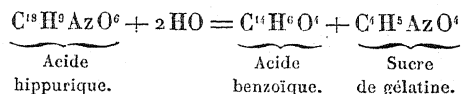
FERMENTATION DE L'ACIDE HIPPURIQUE.

Historique.

Rouelle le cadet (1777), Fourcroy et Vauquelin, et après eux un grand nombre d'observateurs, ont reconnu dans l'urine des animaux herbivores et de l'homme un acide particulier, différant de l'acide urique et présentant toutes les propriétés de l'acide benzoïque. Fourcroy et Vauquelin ont réussi à l'extraire des urines de vache assez abondamment pour suppléer à celui du benjoin dans les usages pharmaceutiques. M. Liebig a établi, en 1830, que l'acide qui caractérise l'urine fraîche des herbivores n'est pas de l'acide benzoïque, comme on le croyait, mais bien un acide azoté, inconnu jusqu'alors, qu'il appela *acide hippurique*. La présence de cet acide en petite quantité dans l'urine humaine fut constatée plus tard par M. Liebig; il s'y montre en relation directe avec le régime herbivore, car il disparaît quand on soumet l'individu à une alimentation exclusivement carnivore; on sait d'ailleurs, par les expériences récentes de M. Cl. Bernard, que dans l'urine des animaux herbivores soumis à l'abstinence on ne rencontre plus d'acide hippu-

rique. C'est que dans ces conditions l'animal se nourrit aux dépens de sa propre substance: il devient carnivore; son urine ne contient plus ni acide hippurique, ni carbonates alcalins; l'acide urique y apparaît au contraire et sa réaction est acide. L'acide hippurique est donc, dans des conditions de régime spéciales, mais fréquemment réalisées, une des formes sous lesquelles l'azote est éliminé de l'organisme animal, et les transformations qu'il subit dans l'urine après son émission peuvent offrir un grand intérêt. C'est par sa transformation dans l'urine, sous l'influence de la chaleur, que M. Dumas a expliqué, quelques années après la découverte de M. Liebig (1834), l'erreur que l'on n'avait cessé de commettre avant elle. « Les chimistes qui ont eu l'occasion de préparer l'acide hippurique, dit-il, ont pu s'apercevoir de la difficulté qu'on éprouve à éviter que l'urine de cheval ne se modifie par l'évaporation au point de fournir, au lieu d'acide hippurique, de l'acide benzoïque pur, ou au moins un mélange des deux acides. Ainsi, quand l'évaporation a marché un peu vite pendant quelques instants, l'acide hydrochlorique ne précipite plus que de l'acide benzoïque; cet accident nous est arrivé plusieurs fois, malgré les soins que nous mettions à l'évaporation, et il paraît bien vraisemblable qu'en annonçant qu'on retirait de l'acide benzoïque de l'urine des animaux herbivores, MM. Fourcroy et Vauquelin ne s'étaient pas trompés, ainsi que le pense M. Liebig, et que l'acide qu'ils ont obtenu et décrit était bien de l'acide benzoïque et non pas de l'acide hippurique. » L'acide benzoïque ne préexiste donc pas dans l'urine, il est le résultat de la transformation de l'acide hippurique. Mais cette conversion, comme le fait remarquer M. Dumas, ne peut s'accorder avec la composition de l'acide hippurique « qu'autant qu'il se formerait un produit particulier qui n'aurait pas été reconnu (1). »

Les expériences de M. Dessaignes (2) (1846) ont déterminé ce nouveau produit, fixé l'équation du phénomène et précisé quelques-unes des influences sous lesquelles il s'accomplit. Quand on fait bouillir de l'acide hippurique cristallisé avec l'acide sulfurique ou la potasse, il se transforme en effet en acide benzoïque et en un sucre azoté identique par toutes ses propriétés avec le sucre de gélatine découvert par Braconnot. Le dédoublement s'opère avec fixation de 2 équivalents d'eau, en vertu de l'affinité de l'acide pour le sucre auquel il se combine, ou de l'alcali pour l'acide benzoïque, et suivant l'équation



(1) DUMAS et PELIGOT, Recherches de Chimie organique sur l'huile de cannelle, l'acide hippurique et l'acide sébacique, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. LVII, p. 305; 1834.

(2) DESSAIGNES, Nouvelles recherches sur l'acide hippurique, l'acide benzoïque et le sucre de gélatine, *Annales de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. XVII, p. 50; 1846.

On comprend maintenant pourquoi, dans l'évaporation trop rapide de l'urine de cheval, qui contient une assez forte proportion de carbonates alcalins, l'acide hippurique se convertit en acide benzoïque.

Ce dédoublement peut aussi s'accomplir par l'ébullition avec certains chlorures, le chlorure de zinc, par exemple. M. Dessaignes est, d'ailleurs, parvenu, en combinant la glycollamine à l'acide benzoïque naissant, à reproduire l'acide hippurique. Cette synthèse se produit dans l'organisme. On sait en effet, depuis les expériences du D^r Ure, que l'acide benzoïque introduit dans les aliments se combine dans le corps à un principe azoté et est rejeté à l'état d'acide hippurique. On voit dans ces réactions l'acide hippurique se comporter comme un acide amidé, se dédoublant avec fixation d'eau en un autre acide et en une base azotée qui remplace l'ammoniaque; cet acide appartient donc, comme l'urée, au groupe des amides. Là ne se borne pas l'analogie de ces deux corps.

On sait en effet, depuis M. Liebig, que les urines qui ont subi la fermentation ammoniacale ne contiennent plus d'acide hippurique, mais que cet acide s'y est entièrement transformé en acide benzoïque, qui sature les mêmes alcalis. L'acide hippurique éprouve donc pendant l'altération de l'urine une transformation identique à celle que provoque son ébullition avec les acides et les alcalis, et tout à fait analogue à la conversion de l'urée en acide carbonique et en ammoniaque dans le même milieu. Cette transformation est attribuée, d'une manière vague, par les auteurs qui la signalent à *certaines ferments* contenus dans l'urine des herbivores, sans que personne ait jamais déterminé la nature de ce ferment, ni cherché les liens de ce phénomène avec la conversion de l'urée qui s'opère simultanément dans les conditions naturelles. Je devais donc, après avoir étudié la fermentation de l'urée, rechercher sous quelle influence s'opère le dédoublement des hippurates à la température ordinaire.

C'est le sujet de la troisième Partie de ce travail.

Observations sur l'altération de l'urine des animaux herbivores.

L'urine des animaux herbivores est rendue alcaline par le bicarbonate de potasse qu'elle renferme; elle est riche en hippurate de potasse. D'après les analyses de M. Boussingault, l'urine de cheval contient, pour 1000 parties, 31 d'urée et 4,74 d'hippurate de potasse et l'urine de vache 18,48 d'urée et 16,51 d'hippurate de potasse. Quand on abandonne cette urine à l'air, après l'avoir filtrée pour la débarrasser des carbonates de chaux et de magnésie qu'elle tient en suspension, elle se trouble après quelques jours, laisse déposer des cristaux de diverse nature, et son alcalinité s'accroît par la formation du carbonate d'ammoniaque. L'examen microscopique du liquide montre, dans une goutte quelconque prise

au milieu de la masse, une quantité énorme des globules en chapelet qui constituent le ferment de l'urée; le liquide en est rempli; la petite torulacée y atteint un développement qu'on ne lui trouve jamais dans l'urine des animaux carnivores; son diamètre y est un peu plus considérable, il est en moyenne de $0^{\text{mm}},0017$. Ces globules se trouvent parfois mélangés de quelques autres productions végétales dont la présence est accidentelle; la seule production constante, c'est le ferment de l'urée tel que les expériences précédentes l'ont fait connaître. Dès que la fermentation ammoniacale est terminée, l'addition de l'acide chlorhydrique dans le liquide évaporé donne un précipité complètement soluble dans l'éther; c'est de l'acide benzoïque sans mélange d'acide hippurique; l'addition du même acide dans l'urine fraîche doucement évaporée donne au contraire un précipité très-peu soluble dans l'éther, qui est l'acide hippurique. En même temps donc que l'urée se change en carbonate d'ammoniaque, l'acide hippurique se dédouble en acide benzoïque et en glycollamine, bien qu'on n'ait jamais isolé ce dernier corps des sels de l'urine.

On accélère beaucoup cette transformation et on la rend plus sûre en semant dans l'urine fraîche les globules de la petite torulacée qui peuvent être retirés indifféremment d'une urine d'herbivore, d'une urine humaine ou d'une dissolution d'urée dans l'eau de levûre : un à deux jours de séjour à l'étuve suffisent alors pour que l'acide hippurique soit transformé.

Le ferment de l'urée se prépare plus abondamment avec ce genre d'urines; on filtre, on lave à l'acide chlorhydrique, puis à la potasse, et on a le ferment à peu près pur; 2^{lit}, 500 d'urine de vache ont fourni par ce traitement environ 2 grammes de ferment sec, coloré en jaune rougeâtre. Le liquide filtré, concentré et traité par l'acide chlorhydrique, donne un précipité abondant d'acide benzoïque impur; on fait bouillir ce précipité dans un lait de chaux avec du noir animal; le liquide incolore qui passe à la filtration est une dissolution de benzoate de chaux; on en précipite l'acide benzoïque; on redissout le précipité dans l'eau bouillante, et l'acide pur cristallise par refroidissement : tel est le procédé que l'on suit pour préparer, au moyen des urines fermentées, la presque totalité de l'acide benzoïque du commerce. Quant au premier liquide filtré, il contient, outre les sels transformés de l'urine, le chlorhydrate de glycollamine, qu'il est très-difficile d'en séparer. La fermentation de l'urine comprend donc deux phénomènes distincts et simultanés : la transformation de l'urée sous l'influence de la vie et du développement d'un ferment particulier en acide carbonique et ammoniacque, et la conversion des hippurates en benzoates et glycollamine. Ce dédoublement de l'acide hippurique est-il opéré, comme celui de l'urée, par le développement des mêmes chapelets de globules, ou ne serait-ce pas un autre ferment qui le provoque? Telle est la question à résoudre. La présence exclusive, dans l'urine de cheval qui fermente,

de la petite torulacée de l'urée, le développement considérable qu'elle y atteint, rendaient probable la corrélation entre la vie de ce ferment et la transformation de l'acide hippurique; mais il était nécessaire, pour la rendre évidente, de séparer les deux phénomènes, et d'opérer, en dehors de l'urine, sur un hippurate cristallisé dissous dans un milieu approprié. La plupart des expériences ont été réalisées sur l'hippurate d'ammoniaque.

L'hippurate d'ammoniaque ne s'altère pas dans l'eau.

J'ai dû m'assurer tout d'abord, comme je l'ai fait pour l'urée, que les hippurates dissous dans l'eau et abandonnés à l'étuve ne se dédoublent pas, même après un temps assez long. Le 13 novembre 1863, je dissous dans 100 centimètres cubes d'eau 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque, et je mets la dissolution à l'étuve dans un flacon bouché; deux mois après, le liquide est un peu trouble, il s'y est développé des infusoires, et sa surface est recouverte par une mince pellicule mucorée; l'évaporation douce de la liqueur filtrée laisse au fond de la capsule une masse sirupeuse cristallisant très-difficilement, et complètement soluble dans l'alcool; il ne s'est donc pas formé de glycollamine, qu'on reconnaîtrait à son insolubilité dans l'alcool; le résidu sec pèse d'ailleurs exactement 2 grammes. Ainsi, quand on n'ajoute rien à sa dissolution aqueuse, l'hippurate d'ammoniaque ne se transforme pas.

Mais il en est tout autrement quand on ajoute à la dissolution de ce sel une certaine quantité de dépôt retiré d'une urine en fermentation; le dédoublement s'opère alors, et il est complet au bout de quelques jours. Je vais en donner un exemple, qui me servira en même temps à indiquer le mode de séparation des produits.

Le 13 novembre, on dissout 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque cristallisé dans 100 centimètres cubes d'eau distillée, et on y ajoute 2 centimètres cubes environ du dépôt d'urine fermentée, mélange de cristaux et de ferments; le 21 novembre, le liquide filtré est évaporé à siccité dans une capsule tarée. Le résidu salin recouvre toute la surface de la capsule, ce qui indique qu'il a commencé de bonne heure, et c'est un caractère qui montre tout de suite que la transformation a eu lieu; car l'hippurate d'ammoniaque, étant excessivement soluble dans l'eau, forme au fond de la capsule un résidu sirupeux, tandis que le benzoate et la glycollamine moins solubles forment sur les parois une couche cristalline; le résidu cristallin pèse 2^{gr}, 18; on le traite par l'alcool, qui dissout le benzoate et l'hippurate, s'il y en a, et, après plusieurs lavages successifs, laisse dans la capsule une matière blanche, cristalline, sucrée, qui est la glycollamine; séché à l'étuve, ce résidu pèse 0^{gr}, 74; redissoute dans l'eau, cette substance cristallise en tables

hexagonales ou rhomboïdales. D'autre part, la solution alcoolique évaporée dans une capsule tarée laisse un résidu jaunâtre, cristallin, qui pèse 1^{gr},41. Une portion de ces cristaux redissoute dans l'eau et traitée par l'acide chlorhydrique donne un précipité blanc qui, recueilli sur un filtre et séché, se sublime sans laisser de résidu noir, ni dégager de gaz cyanhydrique, ce qui est le caractère de l'acide benzoïque pur, tandis que l'acide hippurique donne aussi dans le tube une sublimation d'acide benzoïque, mais avec résidu rouge-brun et dégagement d'acide prussique. Le résidu de la solution alcoolique est donc formé de benzoate d'ammoniaque sans mélange d'hippurate et la transformation a été complète; ce sel a perdu d'ailleurs une partie de son ammoniaque par la dessiccation, et a passé à l'état de benzoate acide, de sorte que le poids 1^{gr},41 doit être un peu trop faible.

En résumé, 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque nous ont donné 2^{gr},18 de matière solide, et nous en avons séparé

Glycollamine.....	0 ^{gr} ,74
Benzoate.....	1 ^{gr} ,41
	<hr/> 2 ^{gr} ,15

Or, d'après l'équation, 1 gramme d'hippurate doit donner par sa transformation 1^{gr},09 de mélange de

Benzoate.....	0 ^{gr} ,709
Glycollamine.....	0 ^{gr} ,382

L'accord entre ces nombres est satisfaisant; la transformation a donc été complète et elle s'est accomplie sous l'influence du ferment, comme elle se fait par l'action des acides et des alcalis.

Quand on n'ajoute à la dissolution d'hippurate qu'une trace du ferment, la transformation commence à s'effectuer, mais s'arrête bientôt; les globules ne trouvent pas dans ce milieu une nourriture suffisante; le résidu de l'évaporation est alors un mélange d'hippurate, de benzoate d'ammoniaque et de glycollamine. Dans ce genre d'expériences, où le milieu conserve sa neutralité, il est difficile de suivre par un caractère extérieur la marche du phénomène; le meilleur moyen dans le cas actuel est de faire évaporer de temps en temps 5 centimètres cubes de la liqueur et d'examiner l'aspect du résidu salin, d'après ce qui a été dit plus haut.

Hippurate d'ammoniaque dans l'eau de levûre.

Dans la solution aqueuse, la transformation de l'hippurate n'est complète qu'à condition d'ajouter une forte proportion de dépôt; il en est autrement quand on dissout le sel dans l'eau de levûre, que nous savons être propre au développement des globules de la petite torulacée. La moindre trace de ferment suffit alors pour provoquer le développement, comme l'établissent les expériences qui suivent.

Il est facile de réaliser dans l'eau de levûre le cas complexe que présente l'urine.

Dans ce but, on dissout le 20 octobre 1863, dans 150 centimètres cubes d'eau de levûre, 2 grammes d'urée et 1 gramme d'hippurate d'ammoniaque, et on y ajoute une goutte d'urine en fermentation. Le 24 octobre, l'urée a entièrement disparu, son ferment s'est développé dans le liquide à l'exclusion de toutes autres productions; par l'évaporation, le liquide perd son carbonate d'ammoniaque et le lavage à l'alcool du résidu salin laisse 0^{sr},37 de glycollamine; en même temps que l'urée, l'hippurate d'ammoniaque s'est donc entièrement transformé sous l'influence du développement des chapelets de globules; mais il est nécessaire d'isoler le second phénomène, et de l'étudier en dehors de la présence et de la transformation de l'urée.

Le 12 novembre 1863, dans 150 centimètres cubes d'eau de levûre, on dissout 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque; on y ajoute une trace du dépôt d'une fermentation ammoniacale accomplie dans l'eau de levûre. Les jours suivants, l'examen microscopique du liquide atteste que la petite torulacée s'y développe en longs chapelets; elle se rassemble peu à peu au fond du vase en un léger dépôt blanc. Filtré et évaporé le 19 novembre, le liquide donne 2^{sr},14 de résidu cristallin. On le traite par l'alcool; on jette la partie insoluble sur un filtre taré, on lave à l'alcool et on sèche à l'étuve; il reste sur le filtre 0^{sr},76 d'une manière jaunâtre sucrée : c'est de la glycollamine souillée par l'extrait coloré d'eau de levûre; la solution alcoolique évaporée donne 1^{sr},35 de benzoate acide d'ammoniaque pur, ne laissant pas de résidu à la sublimation; la transformation de l'acide hippurique a donc été complète, et les poids de glycollamine et de benzoate d'ammoniaque sont ceux que donne le calcul; la différence entre le poids 1^{sr},35 et le poids calculé 1^{sr},41 tient à la perte d'ammoniaque produite par l'évaporation.

Répétée très-souvent, cette expérience conduit toujours au même résultat; il en résulte que pour dédoubler complètement une certaine quantité d'hippurate d'ammoniaque dissoute dans l'eau de levûre, il suffit de provoquer dans ce liquide la vie et le développement des chapelets de petits globules qui constituent le ferment ammoniacal.

On comprend aisément que dans ces conditions d'expérience la neutralité persistante du milieu doit favoriser le développement de productions propres à l'eau de levûre qui altèrent l'homogénéité du ferment et ralentissent son action. Dans les conditions naturelles, au contraire, la transformation simultanée de l'urée provoque l'alcalinité du milieu, circonstance qui favorise le développement du ferment et nuit aux autres productions. Aussi, en ajoutant à l'eau de levûre une petite quantité de carbonate d'ammoniaque, accélère-t-on le dédoublement.

Quand ce ferment se maintient homogène, il suffit en général de trois à quatre jours pour que la disparition de l'acide hippurique soit complète. L'expérience suivante, où le liquide a été évaporé au bout de quarante-huit heures de séjour à

l'étuve, montrera comment on peut dans tous les cas déterminer la quantité d'hippurate disparue. Dans 150 centimètres cubes d'eau de levûre on a dissous 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque et on a ajouté des semences de ferment; le liquide, évaporé au bout de deux jours, laisse dans la capsule un résidu qui pèse 2^{gr}, 16; les lavages à l'alcool en enlèvent 1^{gr}, 60; il reste 0^{gr}, 56 de glycollamine; il en resterait 0^{gr}, 76, si le dédoublement était achevé; ce poids de glycollamine correspond à 1^{gr}, 04 de benzoate d'ammoniaque produit, ou à 1^{gr}, 44 d'hippurate transformé; il resterait donc 0^{gr}, 56 de sel inaltéré. En effet, si on traite le résidu de la solution alcoolique par l'acide chlorhydrique, qu'on filtre, et qu'on traite le mélange d'acides insolubles par l'éther, on obtient :

Acide benzoïque soluble dans l'éther.....	0 ^{gr} , 90
Acide hippurique, très-peu soluble.....	0 ^{gr} , 50

quantités qui correspondent effectivement à 1^{gr}, 04 de benzoate formé et à 0^{gr}, 56 d'hippurate non dédoublé.

Quant au poids de ferment développé dans ces expériences, il est très-faible et du même ordre de grandeur que dans les expériences correspondantes effectuées avec l'urée. Pour en donner une idée, dans une expérience où 10 grammes d'hippurate s'étaient complètement dédoublés dans un litre d'eau de levûre, le dépôt assez homogène recueilli sur un filtre taré a pesé 0^{gr}, 07. Le diamètre des globules est aussi plus faible que celui qu'ils atteignent dans l'urine de cheval, par exemple; il est le plus souvent de 0^{mm}, 0012.

Pour arriver à une plus grande certitude au sujet de la proposition que nous voulons démontrer, il est important de considérer ce qui se passe quand on abandonne à l'air une dissolution d'hippurate d'ammoniaque dans l'eau de levûre sans y rien semer.

Il peut se présenter deux cas :

1° Ou bien, et c'est le cas le plus fréquent, le liquide se remplit d'infusoires et des productions ordinaires de l'eau de levûre abandonnée à l'air, il prend au bout de quelques jours une odeur fétide; la petite torulacée de l'urée ne s'y développe pas; alors la dissolution évaporée après dix jours laisse un résidu sirupeux, coloré, entièrement soluble dans l'alcool, formé d'hippurate d'ammoniaque; il n'y a pas transformation.

2° Ou bien le liquide reste assez limpide, conserve une odeur fraîche; on y voit au bout de quelques jours un grand nombre de petits chapelets de globules identiques avec le ferment de l'urée et mêlés à quelques infusoires et autres productions; dans ce cas il y a toujours dédoublement de l'hippurate d'ammoniaque.

Expérience. — Le 19 décembre je mets à l'étuve une dissolution de 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque dans 200 centimètres cubes d'eau de levûre; quinze

jours après, le liquide est légèrement acide, a une odeur fraîche, et le dépôt du fond est constitué presque exclusivement par le ferment de l'urée; le liquide évaporé laisse un résidu de 2^{gr},30; la partie insoluble dans l'alcool, recueillie sur un filtre taré, pèse 0^{gr},88, c'est de la glycollamine souillée par une partie de l'extrait d'eau de levûre; la partie soluble dans l'alcool pèse 1^{gr},41, c'est du benzoate d'ammoniaque; la transformation a donc été complète, bien qu'on n'ait rien semé, mais ce dédoublement a été provoqué par le développement, sous l'influence des germes de l'air, des petits globules au sein du liquide.

J'ai signalé des faits analogues pour la dissolution d'urée dans l'eau de levûre abandonnée à l'air.

Hippurate d'ammoniaque dans l'eau sucrée avec des phosphates.

Les expériences précédentes permettent de conclure qu'il y a entre le dédoublement de l'acide hippurique et le développement du ferment de l'urée une corrélation constante; mais pour fortifier cette conclusion nous devons y ajouter une preuve essentielle: nous devons montrer qu'on peut transformer l'hippurate d'ammoniaque en dehors de toute matière albuminoïde, et qu'il suffit pour cela de semer le ferment de l'urée dans la dissolution aqueuse de ce sel, en ayant soin d'y ajouter les aliments hydrocarbonés et minéraux nécessaires.

Je ne citerai qu'une des nombreuses expériences que j'ai réalisées.

Le 19 décembre, dans 200 centimètres cubes d'eau distillée je dissous 2 grammes d'hippurate d'ammoniaque, 1 gramme de sucre, 0^{gr},05 de cendres de levûre, et je mets le mélange à l'étuve, après y avoir ajouté une trace de ferment retirée de l'urine. Le 22, le liquide est trouble, il renferme une grande quantité de longs chapelets de petits globules; leur diamètre est environ 0^{mm},0013: on en distingue nettement de deux sortes; çà et là on voit quelques courts chapelets formés de grains plus gros que les autres, plus foncés, à contours plus fortement accentués, tandis que le plus grand nombre des chapelets sont plus longs, constitués par des globules un peu plus petits et plus transparents: les premiers globules sont ceux qu'on a retirés de l'urine, c'est la semence; les autres sont les globules nouvellement formés dans ce milieu artificiel. M. Pasteur a, le premier, fait cette curieuse observation sur les globules de levûre de bière dans les fermentations alcooliques accomplies dans les milieux minéraux. Le 8 janvier, le liquide est filtré et évaporé, le résidu pèse 3^{gr},16; après plusieurs lavages à l'alcool, la partie insoluble jetée sur un filtre taré pèse 0^{gr},74: c'est de la glycollamine pure, et son poids indique que la transformation de l'hippurate a été complète.

Le résidu de la solution alcoolique, formé de sucre et de benzoate d'ammoniaque, est repris par un peu d'eau et traité par l'acide chlorhydrique, qui précipite l'acide

benzoïque; recueilli sur un filtre, cet acide pèse 1^{gr},24, correspondant à 1^{gr},40 de benzoate d'ammoniaque. On a d'ailleurs à craindre dans ce genre d'expérience, comme je l'ai signalé pour l'urée, l'apparition du ferment lactique et la transformation correspondante du sucre.

Ainsi, toutes les fois que dans de l'eau contenant en dissolution de l'hippurate d'ammoniaque on ajoute du sucre, des phosphates et quelques globules du ferment de l'urée, ces globules s'y développent, forment de nombreux chapelets, et en même temps l'hippurate se dédouble avec fixation d'eau en benzoate et glycollamine.

Dans tout ce qui précède, je n'ai parlé que de l'hippurate d'ammoniaque; mais les expériences réussissent aussi, moins bien peut-être, avec les hippurates de potasse, de chaux, etc. Je signale, en passant, qu'on a affirmé pour l'hippurate de soude, comme on l'a fait pour l'urée, que cette substance se dédouble sous l'influence de la fermentation alcoolique du sucre: c'était encore un exemple de fermentations secondaires. Je n'ai jamais observé de transformation semblable, et j'ai développé assez longuement, à propos de l'urée, la cause de cette erreur, pour ne pas avoir à y revenir ici.

Conclusion. — Les expériences dont je viens de rendre compte établissent que le dédoublement de l'acide hippurique en acide benzoïque et en glycollamine, avec fixation de 2 équivalents d'eau, est produit dans la nature par une vraie fermentation, et qu'il est corrélatif de la vie et du développement d'un petit organisme végétal qui se montre identique à celui qui provoque le dédoublement de l'urée en acide carbonique et en ammoniaque.

CONCLUSIONS.

En résumé, les conclusions les plus générales de ce travail peuvent se formuler ainsi :

1^o Le dédoublement de l'urée et de l'acide hippurique, que nous produisons dans nos laboratoires par l'influence des acides, des alcalis ou d'une température élevée sous forte pression, est réalisé dans la nature par une autre force; il est toujours en corrélation nécessaire avec la vie et la nutrition d'un être organisé spécial, qui paraît être le même pour les deux substances;

2^o Il n'y a pas de fermentations secondaires.

En étudiant ainsi le mécanisme qui ramène les deux formes principales sous lesquelles l'azote est éliminé de l'organisme à des composés plus simples assimilables aux végétaux, j'ai apporté de nouveaux faits qui confirment pleinement les idées que M. Pasteur a, le premier, démontrées touchant la nature et le mode d'action des ferments, ainsi que le rôle que jouent les êtres organisés microscopiques dans l'économie de la nature.