de azúcar sin intervertir, la que fermentó más tarde sin que fuera posible en ningún momento apreciar su previa interversión.

Por lo tanto, sería necesario explicar la causa porque esta fermentación ha presentado dos fases distintas á saber:

1.º Fermentación con interversión previa y visible de la sacarosa

2.º Fermentación de la sacarosa sin que sea posible apreciar su interversión.

Planteada la cuestión en esta forma, en el presente caso nos indujo las siguientes consideraciones:

¿Se tratará de una acción de los productos originados en la primera fase de la fermentación sobre la diastasa, acción que anulara su propiedad intervertiva? O bien ¿este fenómeno tiene su razón de ser en alguna propiedad de la célula misma?

Existen sustancias que perturban ó suprimen completamente la acción de las diastasas (ácidos minerales y orgánicos en c. s. álcalis y sales metálicas, etc.)

Ahora bien, ¿en la primera fase de la fermentación se habrá formado alguna sustancia dotada de esta propiedad, ó los productos de la fermentación se habrán constituido en cantidad suficiente para impedir la acción de la diastasa?

En el caso que nos ocupa y en el supuesto que pudiera admitirse esta última hipótesis, ¿cuáles serían las circunstancias en las cuales podría obrar la diastasa?

Sabemos por la experiencia descripta, que la fermentación de la sacarosa exige de antemano su interversión; y por consecuencia desde el momento que el líquido no contenga más azúcar intervertido, la fermentación se detendrá.

Pues bien; Mr. Duclaux ha demostrado que un cierto número de los productos originados en la fermentación, son combustionados por la célula, cuando la fermentación se detiene por ausencia de sustancias fermentescibles, y esta conserva aún su actividad; de consiguiente si los productos combustionados fueran aquellos que perturban la acción de la diastasa, la combustión parcial y progresiva de ellos, provocaría consecuentemente interversiones

que serían igualmente parciales y en relación á las combustiones.

Pero el exámen del líquido nos revela una acidez insignificante, pues contenía carbonato de cal y no nos revela la presencia de diastasa.

Debemos entonces hallar la explicación en alguna particularidad de la célula.

En esa fermentación, habrá la célula evolucionado ó producido, pasando de la forma de levadura á la forma bacilar por la influencia sobre ella ejercida por la temperatura y la sacarosa y que ya hemos indicado; puesto que esta última forma como se ha dicho fermenta la sacarosa sin que sea posible apreciar su previa interversión?

En efecto: esto es lo que al parecer nos confirman las experiencias siguientes además de la influencia que puede ejercer la concentracion de la solucion.

Con ese objeto se tomaron cuatro matraces que contenían una solución de sacarosa en el líquido nutritivo. Dos en la proporción de 50 gramos por 1000 y dos en la de 14grs,70 — 1000 aforadas ambas soluciones por interversión.

A todos ellos les fué adicionado carbonato de cal y luego de esterilizarles convenientemente, fueron sembrados respectivamente con forma de levadura y bacilar, de tal modo que á cada serie de matraces de 50,00 ‰ y de 14,70 ‰ correspondían semillas de las dos formas bacilar y de levadura.

Colocados en la estufa á la temperatura de 32° eran examinados á ciertos intervalos, dosando en ellos por medio del licor cupro potásico, la sacarosa intervertida, obteniendo los resultados que á enseguida expongo:

Líquido	Proporción de sacarosa								
N.° 1	—For.: lev.	— 50,00 ‰	á las	24 horas:	reducción correspondiente	á gramos	3,30	restantes grs.	46,70
N.° 1a	»	— 14,70 ‰	»	48 »	»	»	2,39	»	10,50
N.° 2	—Bacillus	— 50,00 ‰	»	24 »	no reduce			»	48,75
N.° 2a	»	— 14,70 ‰	»	48 »	» »			»	11,80
N.° 1	—Levad.	— 50,00 ‰	»	48 »	reducción correspondiente	á gramos	20,80	»	28,70
N.° 1a	»	— 14,70 ‰	»	los 6 dias	»	»	1,18	»	9,60
N.° 2	—Bacillus	— 50,00 ‰	»	las 48 horas	no reduce			»	47,35
N.° 2a	»	— 14,70 ‰	»	los 6 dias	» »			»	7,50

Líquido		Proposición de sacarosa						
N.º 1	—Levad.	— 50,00 ‰	»	»	7	»	reduccion correspondiente á gramos 41.70	»	»	5,70
N.º 1ª	»	— 14,70 ‰	»	»	9	»	no reduce	»	»	8,10
N.º 2	—Bacillus	— 50,00 ‰	»	»	7	»	» »	»	»	41,30
N.º 2ª	»	— 14,70 ‰	»	»	9	«	» »	»	»	5,00

Vemos, pues, por estos resultados que existe una notable diferencia en la marcha de la fermentación, especialmente de los líquidos números 1 y 1ª, habiendo sido ambos sembrados con una misma semilla; que así que en el líquido número 1 la cantidad de azúcar intervertida aumenta progresivamente hasta intervertirse casi su totalidad, en el líquido número 1ª la cantidad de ésta que ha sido intervertida sobre todo al principio, disminuye progresivamente, y desaparece cuando aún no se había consumido ni la mitad puede decirse del azúcar total.

En nuestro concepto, estas experiencias nos demuestran que las cosas ocurren según nuestra última hipótesis, teniendo en cuenta además que el exámen microscópico de los líquidos lo corroboró.

Es así que el líquido núm. 1 por su concentración ejerce una influencia sumamente desfavorable á la evolución, y especialmente al desenvolvimiento de la célula, según lo que hemos expuesto en la primera parte; de consiguiente la forma de levadura en ese medio ha podido persistir y multiplicarse mayormente que en el núm. 1ª, produciendo la fermentación y desplegando todos los caracteres que le son inherentes á esas circunstancias.

En cambio el líquido núm. 1 por su dilución ha favorecido la evolución bacilar, (1) por facilitar la hidratación y denutrición; evolución que se efectuó antes de que la mitad del azúcar total fuera consumido, terminando luego esta última forma de la célula la fermentación. Es decir: la fermentación que había sido comenzada por la forma de levadura, fué terminada por la forma bacilar.

De modo que, volviendo sobre esta última forma bacilar, hemos dicho que fermentaba la sacarosa, sin que fuera posible apreciar su interversión.

---

(1) En estos casos para obviar, llamamos evolución bacilar, á la producción de estos por la levadura, ya directa ó ya indirectamente.

Y tan es así que examinados multitud de veces, y á diversos intervalos, líquidos en fermentación activa, no acusaban la presencia del azúcar intervertido; hasta el punto de hacernos suponer, que en realidad su fermentación, se efectuara sin ser intervertida, ó que fuera la misma célula la encargada de este desdoblamiento del azúcar: es decir, por un fenómeno intracelular.

Sin embargo, veremos que, al parecer, las cosas no ocurren de ese modo.

En líquidos, en los cuales la fermentación se había producido sin creta, y que durante el período de actividad, no producían la más mínima reducción del licor de Fehling, he podido notar, que después de hacer un tiempo más ó menos largo que la fermentación se había detenido por la acidéz, éstos, reducían el licor cupro-potásico.

Idénticos resultados pueden obtenerse, si se entorpece la fermentación en ciertas condiciones.

Así por ejemplo: se tomaron dos matraces que contenían solución de sacarosa, y fueron sembrados con bacilos procedentes de una cultura en caldo, y colocados en la estufa á la temperatura de 32°.

Examinados los líquidos diariamente con el lícor de Fehling, no revelaban la más mínima reducción; pero luego de la adición á uno de ellos de unas gotas de ácido acético, suficiente para anormalizar un tanto la fermentación, al otro dia ya pudo percibirse la presencia del azúcar intervertido.

Ahora bien, ¿qué interpretaciones, qué consecuencias pueden extraerse de esta experiencia?

La marcha anormal de una fermentación tiene por causa esencial un perturbamiento en las funciones fisiológicas de la célula.

Por consiguiente, si á la célula le suponemos dos funciones, la una *secretora de diastasa* y la otra *fermentativa*, y si la función *secretora de diastasa* fuera correlativa á la *función fermentativa*, es decir: si ambas dependen de una misma actividad, toda causa que perturbe esta actividad, digamos fisiológica de la célula, obrará

de la misma manera sobre las dos funciones, es decir sin que una sea más deprimida que la otra.

Pero si consideramos á la célula dotada de dos funciones distintas é independientes la una de la otra, una *secretora de diastasa* y la otra *fermentativa*, y si la acción perturbatriz pudiera obrar sobre una de estas funciones aisladamente, resultaría una ruptura en el equilibrio de las dos funciones que en la célula en condiciones normales se compensaban, y tendríamos como consecuencia la acción predominante de la no influenciada.

Mas cabe preguntar, ¿el aniquilamiento, ó la debilitación de una de estas funciones por una causa cualquiera trae como consecuencia en la vida de la célula un acrecentamiento de la actividad de la función restante? Es decir: ¿una especie de exaltación unifisiológica?

En nuestro concepto, esta última hipótesis es la verdadera, y nos lo manifiestan con bastante evidencia las experiencias arriba citadas al explicar la desaparición del azúcar intervertido, en los líquidos números 1 y núm. 1ª.

En efecto: hemos visto que en el líquido núm. 1, solución al 50,00 ‰ el séptimo dia contenía gr. 41,70 de azúcar intervertido, y gr. 5,70 no intervertido, habiéndose consumido en ese lapso de tiempo tan solo grs. 2,60 de azúcar. Mientras que el líquido núm. 1ª solución al 14.70 ‰ sembrada con la misma cultura el sexto día contenía solamente la cantidad de gramos 1,18 de azúcar intervertido y gramos 9,60 restantes no intervertido, habiéndose consumido gramos 3,92 de esta sustancia.

En consecuencia; si la causa que ha dado lugar á esta diferencia en la marcha de los líquidos núms. 1 y núm. 1ª hubiera obrado sobre la actividad de la célula, suponiendo que la función *fermentativa*, fuera correlativa, á la función *diastásica*, los resultados obtenidos en la marcha del líquido núm. 1 serían, si bien disminuidos, proporcionales, á los resultados obtenidos con el líquido núm. 1ª.

Si las funciones *diastásica* y *fermentativa* son por así decirlo independientes, y sí la causa que ha influido sobre la marcha de los

líquidos ha obrado exclusivamente sobre una de las funciones, disminuyendo su actividad, los resultados correspondientes á la misma función no perturbada serían iguales en ambos líquidos.

Es decir, así, por ejemplo; si la función *fermentativa* se hallaba disminuida en su actividad, en el líquido núm. 1, la marcha de las cifras correspondientes al azúcar intervertido, sería igual en los dos líquidos.

En cambio vemos en el líquido núm. 1ª en el que la fermentación ó desdoblamiento sintético, es activo, la interversión del azúcar, se halla disminuida, mientras que en el líquido núm. 1, donde las cantidades del azúcar intervertida aumentan, la fermentación ó desdoblamiento sintético disminuye.

Esto nos probará entonces, *que el debilitamiento de una de las funciones exalta la otra;* y nos permite creer además: *que la producción de la diastasa, puede considerarse como un fenómeno de denutrición de la célula, efectuado á espensas de su propio protoplasma.*

Por otra parte, en nuestro concepto, es debido á este fenómeno la evolución directa de la levadura á bacilos que se efectúa en la gelatina líquida azucarada, por cuanto esta evolución no se efectúa en la gelatina líquida simple.

Uno de los matraces que contenía de la solución azucarada sin creta, y que había sido sembrado con semilla bacilar de 48 horas de edad, fué examinado á los 23 dias, cuando consideré que la fermentación se había detenido, obteniendo los siguientes resultados:

Proporción de la solución	Acidéz expresada en SO^4H^2	Sustancia consumida	Alcohol butílico formado
2grs30 %	1gr93 ‰	67 %	gramos 0,362 %

Del mismo modo fué examinado otro matráz, que había sido sembrado con semilla de 8 dias de edad, el resultado obtenido fué el siguiente:

Proporción de la solución	Acidéz expresada en SO^4H^2	Sustancia consumida	Alcohol butílico formado
2grs30 %	1grs75 ‰	65 %	gramos 0,234 %

Estos resultados, ya los hemos consignado al hablar de la influencia de la reacción del medio.

Como puede verse hasta ahora nos hemos concretado al simple dosaje de la acidéz, y del alcohol de los líquidos fermentados sin creta.

Ahora trataremos de la fermentación del azúcar en presencia del carbonato de cal, y de la dosificación de los productos originados en ella.

Los matraces que contenían los líquidos de fermentación con la creta, fueron examinados á los 35 dias, una vez considerado que la fermentación había terminado.

Con este objeto, comencé por filtrar el líquido de uno de los matraces, y asegurado de su perfecta neutralidad, y después de completar su volúmen primitivo procedí á destilarle, á fin de separar el alcohol, recogiendo en esta operación 100cc de líquido, que representan la décima parte del líquido destilado, y teniendo en cuenta, que, según los últimos trabajos de Mr. Duclaux, el alcohol butílico destila rápidamente, pudiéndose hallar casi su totalidad en las primeras porciones destiladas, consideré suficiente la cantidad recogida, sin necesidad de llevar más adelante la destilación.

Este líquido tenía una densidad próximamente de 0,995 á 15º de temperatura; á fin de caracterizarle, procedí según lo indica Mr. Duclaux [1] por medio de un cuenta gotas de Limousin de antemano controlado, y luego de varias rectificaciones, obtuve en esta operación la cantidad de 181 gotas por cada 5cc de líquido.

La cifra obtenida corresponde aproximadamente á la indicada por Mr. Duclaux en sus tablas, para el alcohol butílico 185 gotas.

Ahora bien; los 100cc de este líquido corresponden á la décima parte del destilado; en consecuencia: tenemos $3.5 \times 0.824 = 2$ gramos 884 de alcohol butílico por cada litro de líquido destilado.

Adicionada á esta cantidad, la correspondiente, á lo deducido

---

(1)—Duclaux Annales de l'institut Pasteur tomo IX páj. 575.

por pérdida del control $1^{gms}236$, tenemos $2^{gms}884+1,236=4^{gms}120$ de alcohol butílico.

El dosaje de los ácidos volátiles fué efectuado también por el procedimiento de Mr. Duclaux [1].

Este sencillo é ingenioso procedimiento, está basado en la existencia de una relación constante y característica, en las cantidades destiladas de un ácido volátil, que se obtienen recojiendo los productos de la destilación en fracciones de 10^{cc}, y en el órden sucesivo que se presentan.

Este principio, no solo es aplicable á estos ácidos aisladamente, sinó que lo es también á los casos en que se hallen dos ácidos volátiles mezclados, pués cada uno de ellos se comporta en esas condiciones, como sí se hallara solo, y de aquí que la marcha de los números correspondientes á la destilación de la mezcla, sea la media de los números que corresponden á cada uno de los ácidos.

Siguiendo pues las indicaciones de este sábio, destilé 110^{cc} del líquido, después de haberle acidificado por el ácido tartárico y completado su volúmen á 1000^{cc}.

Recojidos los productos destilados, en fracciones de 10^{cc} cada una, fueron neutralizados por medio del agua de cal titulada sirviéndome á la vez de la fenol ptaleina, como reactivo indicador.

Esta operación, se efectuaba en el órden sucesivo que se presentaban, cuyos resultados pueden verse en el cuadro que damos enseguida:

---

[1] – Duclaux Annales de l'institut Pasteur IX tomo páj. 265.

Porciones de 10cc	A CC de agua de cal empleados en la neutralización	B Sumas parciales	a	B	$\frac{a}{B}$
1	28.4	28.4	16.-	16.-	1.5
2	25.3	53.7	14.2	30.2	1.5
3	22.8	76.5	12.7	42.9	1.5
4	20.4	96.9	11.4	54.3	1.4
5	17.1	115.3	10.3	64.6	1.4
6	14.8	132.4	9.6	74.2	1.5
7	14.5	146.9	8.1	82.3	1.4
8	12.2	159.1	6.8	89.1	1.5
9	9.7	168.8	5.4	94.5	1.5
10	9.2	178.-	5.1	100.-	—

Los números de la columna A representan la cantidad de agua de cal empleada para la neutralización de cada una de las fracciones de 10cc destiladas, en el órden sucesivo que indica la primer columna. La columna B representa las sumas parciales, y el total de agua de cal empleado en la neutralización de las fracciones.

Las columnas a B representan las relaciones deducidas por Mr. Duclaux, refiriéndonos la proporción de los equivalentes de ácido acético y de ácido butírico, contenidos en el líquido.

La media de estos en este caso es igual á $1 \times 4,7$.

En consecuencia tenemos

$10 \times 0,80 = 8,00$, ó sea $= 26,88$ de agua de cal

$47 \times 0,975 = 44,8$ » $= 150,52$ » » » »

Resulta que cada centímetro cúbico del agua de cal correspondía á 0,00474 de ácido butírico y de consiguiente tenemos:

$150,52 \times 0,00474 = 0^{grs}7134648/0,975 = 0^{grs}7317$ de ácido butírico

$26,88 \times 0,00306 = 0^{grs}0822528/0,80 = 0^{grs}1028$ de ácido acético

Así pués tenemos que 23 gramos de sacarosa nos han dado aproximadamente.

Alcohol butílico ..... 4 grs 120

Acido butírico ..... 7 » 317

» acético..... 1 » 028

Veamos ahora si nos es posible aproximarnos á la interpretación de este resultado por medio de la siguiente ecuación.

$$5C^{12}H^{22}O^{11}=5C^{4}H^{10}O+5C^{4}H^{8}O^{2}+C^{2}H^{4}O^{2}+12H+18CO^{2}+2H^{2}O$$

Un matraz conteniendo una solución de sacarosa de 25.00 o/o en líquido nutritivo y que había sido sembrado con forma de levadura, de una cultura en gelatina, simultáneamente á otros matraces conteniendo glucosa, almidón etc. fué examinado á los 22 dias, considerando la fermentación terminada, la temperatura á que fueron colocados es la de 20°.

Este líquido tenía un lijerísimo olor de ácido acético, después de neutralizarle con carbonato de cal, y precisar su volúmen en 1000cc fué destilado, recogiendo 100cc ó sea la décima parte.

El líquido destilado marcaba al alcohometro de Salleron 14° á la temperatura de 15°, verificado con el cuenta gotas los 5cc nos dieron 153 gotas, que corresponden próximamente al alcohol etílico, el que referido á gramos previa corrección nos arroja la cantidad de 11gms33.

La ecuación empírica de esta fermentación sería aproximadamente la siguiente:

$$35C^{12}H^{22}O^{11}+35H^{2}O=140CO^{2}+140C^{2}H^{6}O.$$

En el examen diario de los líquidos, he podido notar que en esta solución el velo no se había formado aún hasta el día de su exámen definitivo.

En los líquidos almidonados, al noveno ó décimo se pudo notar un lijerísimo velo, que fué acentuándose poco á poco, mientras que en las soluciones de glucosa y de azucar intervertido, preparadas al efecto, el velo ya se percibía al tercer dia, el que aumentaba progresivamente.

Si bien no nos es posible por el momento extraer de estos hechos una conclusión absoluta, nos inclinan á creer — teniendo en cuenta que todos los líquidos habían sido sembrados con células de una misma cultura, que los líquidos habían sido colocados á una misma temperatura, y que las condiciones de aereación era idéntica para todos, — que esta tardanza ó ausencia en la for-

mación del velo, sea debido en este caso á la denutrición protoplasmática producida por la sustancia fermentescible, como lo hemos formulado por la experiencia citada en la primera parte de este trabajo.

FERMENTACIÓN DE LA GLUCOSA

En 2 matraces de 1500cc de capacidad fueron introducidos á cada 1000cc de una disolución de glucosa en el líquido nutritivo en la proporción de 18 gramos por litro, una vez esterilizados convenientemente, y enfriados, fueron sembrados con semilla de 48 horas y de 8 dias de edad, procedentes de cultivos en líquido nutritivo, y luego colocados en la estufa á la temp. de 32°.

A los 20 días considerando detenida la fermentación fueron examinados los líquidos, obteniendo los siguientes resultados.

	Proporción de la solución	Edad de la semilla	Acidéz expresada en SO^4H^2	Sustancia consumida	Alcohol formado
Liq. n.° 1	1gr80 %	48 horas	1gr40 ‰	60 %	0gr285
Liq. n.° 2	1gr80 %	8 dias	1"25	58 %	0"230

Otro matraz de la misma solución conteniendo á su vez carbonato de cal sembrado con semilla de 24 horas, y colocado en las mismas circunstancias de los anteriores, fué examinado á los 30 dias de fermentación.

El dosaje del alcohol y el de los ácidos volátiles fué efectuado de igual modo á como lo hemos indicado con respecto á la sacarosa obteniendo el resultado siguiente:

Alcohol butílico por cada 1000cc 1gr670

Cantidad total de agua de cal empleada en la neutralización de las 10 porciones destiladas 92cc7. relación $\frac{a}{B} = 2,8$.

$2 \times 0,80 = 1,60$ — ó sean $= 15,77$ de agua de cal

$8 \times 0,975 = 7,80$ — ó sean $= 76,91$ » » » »

$76,91 \times 0,00474 = 0^{gr}3645534/0975 = 3^{gr}831$ de ácido butírico por litro

$15,77 \times 0,00306 = 0^{gr}0482562/0,80 = 0^{gr}6031$ » » acético » »

En consecuencia diez y ocho gramos de glucosa nos han dado.

Alcohol butílico.....	gramos	1,670
Acido butírico..... ..	»	3,831
» acético.....	»	0,603

La interpretación aproximada de la transformación de esta sustancia en virtud de la acción de este fermento quedaría explicada por la siguiente ecuación.

$$11C^6H^{12}O^6 = 2C^4H^{10}O + 2C^2H^4O^2 + 8C^4H^8O^2 + 34H + 22CO^2$$

Un matraz que contenía solución en líquido nutritivo al 2,50 %, y que había sido sembrada con forma de levadura, y colocado á la temperatura de 20°, fué examinado á los 22 días.

Este líquido, se hallaba cubierto de un intenso velo blanquecino cuya formación había comenzado al tercer dia de la fermentación, como pude comprobarlo en el exámen diario de los líquidos.

Además tenía un lijero olor de ácido acético.

Neutralizado convenientemente y destilado, recogida la décima parte, obtuve con el líquido destilado los siguientes resultados — Grado alcohométrico 12°, temp. de 15° número de gotas de los 5cc 138.

Referido en peso, prévia corrección tenemos en gramos 9,62.

La ecuación hipotética seria

$$6C^6H^{12}O^6 = 12CO^2 + 12C^2H^6O$$

FERMENTACIÓN DEL ALMIDÓN

La fermentación de esta sustancia se efectúa de igual modo que las anteriores, y con bastante rapidéz.

Ya hemos visto al hablar de los modos de cultivar al *bacillus*, que sembrado en las papas se desarrolla con suma facilidad, produciendo una licuación rápida de la superficie de estas, de las que fluye un líquido turbio blanquecino y con un ligero olor de ácido butírico.

Con el objeto de comprobar, ó más bien de aproximarnos á la

manera de comportarse este fermento con dicha sustancia, efectué el siguiente examen:

Como en las experiencias anteriores, en matraces de 1500cc de capacidad, y que contenían 1000cc cada uno de engrudo de almidón preparado con el líquido nutritivo descripto, y en la proporción de 2 %, después de ser convenientemente esterilizados fueron sembrados con semilla de 48 horas y de 8 días de edad, y colocados á la temperatura de 32°.

Al poco tiempo pudo observarse que el engrudo empezó á licuarse y á desprender olor de ácido butírico, el que fué intensificándose poco á poco.

Una vez que el engrudo se hubo licuado totalmente, se comprobó que su superficie se hallaba totalmente cubierta por una lijera película espumosa y blanquecina; luego este líquido se aclaró en parte, sedimentando lijeras masas nubosas blanquecinas.

Uno de los líquidos en fermentación sin adición de creta fué examinado á los 9 dias, á objeto de apreciar la transformación de la sustancia amilácea, pues el líquido no producía la coloración azúl con la tintura de iodo, propia de esa sustancia.

Con este fin una porción de líquido filtrado fué tratada por cuatro veces su volúmen de alcohol absoluto, obteniendo en esta operación un leve precipitado blanco; tanto el líquido procedente de la disolución del lijero precipitado, como el líquido de la fermentación produjeron una lijerísima coloración rojizo obscura con el iodo, indicio tan solo de una pequeñísima cantidad de dextrina; además en los líquidos de la fermentación del almidón como en los de la dextrina, he podido apreciar, en el curso de estas fermentaciones, la presencia de una sustancia de propiedades análogas á las de la glucosa.

En efecto; los líquidos convenientemente filtrados reducían francamente el licor de Fehling á la ebullición, del mismo modo que producían por la acción de la potasa en caliente una coloraciòn pardo obscura, coloración que desaparecía mediante la adición de ácido nítrico con desprendimiento de olor de caramelo (Reacción de

Moore). Los líquidos producían también un precipitado de un color gris obscuro con el reactivo de Almen y Nylander.

Por las reacciones indicadas, y además por su poder rotatorio $^{\alpha}D=53^{o}$, próximo al de la glucosa, es evidente que se trata de una transformación de aquellas sustancias en esta última, producida por la acción de la intervertina de que antes hemos hablado.

Efectivamente: la misma diastasa extraída de los líquidos de la fermentación de la sacarosa por la forma la levadura, tiene la propiedad de disolver el almidón transformándole en una sustancia análoga á la glucosa, como ya lo hemos indicado anteriormente.

Este bacilo fermenta igualmente el almidón crudo; pero con la particularidad de que en la fermentación del almidon crudo, si bien ésta se efectúa en buena marcha, los líquidos no acusan la presencia de glucosa.

Con el objeto de explicarme la causa de esta anomalía, consideré conveniente efectuar algunas experiencias en ese sentido.

Estas, como se verá, parecen demostrar que el motivo de esta anomalía, por así decirlo, depende de dos causas: la consistencia del vehículo y el estado de mayor hidratación de la materia amilácea, probablemente por facilitar la endomósis; estas causas á su vez nos prueban que la secreción de las diastasas, pueden ser más ó menos activadas por las condiciones en que se hallen las sustancias que la provocan.

Me prueba esta creencia porque se tomaron matraces que contenían líquido nutritivo con almidón al 4 °/o unos crudos y los otros cocidos; estos últimos constituían como es de consiguiente un engrudo regularmente espeso.

Sembrados con bacilos de una misma cultura, fueron colocados en igualdad de condiciones, y examinados con frecuencia y al mismo tiempo. En estos exámenes he podido observar que los líquidos que contenían el almidón crudo, no acusaban la presencia de glucosa, no obstante percibir en ellos un olor bastante pronunciado de ácido butírico, mientras que en los segundos se pudo

apreciar en todos los exámenes la presencia de la glucosa, especialmente interín se licuaba el engrudo.

Hemos visto que el fermento en el engrudo, al principio, se manifiesta especialmente produciendo la transformación de la materia amilácea en glucosa; es decir que en esta circunstancia, debido, probablemente, á la consistencia del medio y también del mayor grado de hidratación de esa sustancia, la función diastásica se hallará exaltada y consecuentemente según lo que ya hemos establecido, la función fermentativa se hallará debilitada.

Ahora bien; si cuando el engrudo se ha completamente licuado, y si durante la liquefacción, los productos originados por la fermentación simultánea á esa son insuficientes para ejercer una marcada acción sobre la célula, debilitando su función *fermentativa*, esta continuará su curso activándose después de ese momento hasta la consumación total de la sustancia fermentescible.

Pero, si en el momento de la liquefacción, los productos originados son suficientes para ejercer influencia sobre la célula, reemplazando á la causa que desaparece (la consistencia), la denutrición ó función *diastásica* se mantendría activa y de consiguiente la combustión ó consumo por fermentación de la sustancia, no se produciría, ó se efectuaría muy paulatinamente.

Este hecho nos vendría á esplicar la causa, por la cual muchas veces se encuentra diastasa en abundante cantidad, en líquidos en los cuales la sustancia fermentescible no ha sido aún totalmente consumida, mientras que en otros no se la encuentra.

Dos matraces de los anteriormente descriptos sin carbonato de cal, y que habían sido sembrados uno con semilla de 48 horas, y el otro de 8 días, fueron examinados después de 26 días de permanencia en la estúfa á la temperatura de 32.º, y juzgando que la fermentación se había detenido, obteniendo los siguientes resultados:

SEMILLAS DE 48 HORAS

	Proporción del engrudo	Acidéz por litro en $So^4 H^2$	Sustancia con.ª	Alcohol formado
N.º 1	2 %	grs 2.78	72 %	grs 2.310 ‰
N.º 2	2 %	grs 2.40	68 %	grs 2.026 ‰

El líquido de un matráz que contenía del engrudo descripto con carbonato de cal y había sido sembrado con semilla de 48 horas, fué examinado á los 30 días de fermentación, empleando los procedimientos de M. Duclaux que ya hemos dado á conocer.

El resultado obtenido es el siguiente:

Alcohol butílico por litro ... gramos 0,494

Cantidad total de agua de cal empleada en la neutralización de las 10 porciones de líquido destilado. 132cc5 relación $\frac{a}{B}=1,3$.

$1 \times 080 = 0,800$ — ó sea 28,47 de agua de cal

$3 \times 0975 = 2,925$ — » » 103,93 » » » »

$28,47 \times 0,00306 = 0^{grs}0871182/0,80 = 0^{grs}10889$ de ácido acético

$103,93 \times 0,00474 = 0^{grs}4926282/0,975 = 0^{grs}5052$ » » butírico

En consecuencia tenemos que 20 gramos de almidón nos han dado:

Alcohol butílico.....	gramos	0,494
Acido butírico.....	»	5,052
» acético....	»	1,088

La ecuación aproximada de la fermentación de esta sustancia sería la siguiente:

$$4C^4H^{10}O^5+H^2O=3C^4H^8O^2+C^2H^4O^2+C^4H^{10}O+6CO^2+4H$$

Otro matráz de este mismo engrudo, al 2 % y sembrado con forma de levadura fué examinado á los 23 dias de fermentación á 20º, el que nos dió los siguientes resultados.

Este líquido, poseía una reacción ligeramente ácida y por su olor parece que en él prevaleciera el ácido acético, del mismo modo que en las experiencias citadas de la sacarosa y de la glucosa, en la primera de las cuales hemos hecho algunas referencias acerca de la fermentación de esta sustancia, en estas condiciones:

Este líquido fué destilado después de neutralizarle previamente con la cal, y luego de completado su volúmen á 1000^{cc}. Los 100^{cc} del destilado recogidos nos dieron el siguiente resultado; grado alcohométrico á 15° de temp: 8° — núm. de gotas de los 5^{cc} 139 — de suerte que referida en peso previa corrección, tenemos 6 gramos 43 de alcohol etílico.

El resíduo en la destilación completado á 1000^{cc} nos produjo una reducción del licor de Fehling = á 1^{grs}616 de glucosa que correspondían á 1^{grs}542 de almidón, como el líquido diera aún reacción azúl con el iodo, fué éste sacarificado con el ácido clorhídrico y completado el volúmen nos dió 3^{grs}36 ó sea 3^{grs}121 de almidón.

Del mismo modo y en las condiciones de las anteriores fermentan, la dextrina, glicerina, lactosa y manito, cuyos detalles suprimimos por no extendernos más.

CONCLUSIONES

En conclusión de todo lo expuesto; creo que se puede reasumir en estas breves consideraciones:

1.° El esporo, sería resultante de una condensación protoplasmática, ocasionada por una obstaculización á su amplio desenvolvimiento.

2.° Las formas de desenvolvimiento de este esporo, dependerían en un todo de causas especialmente mecánicas; es decir, de la resistencia ejercida por el medio en que se desenvuelve.

Este concepto, nos explica, por qué el esporo es redondo, por qué este esporo al desenvolverse en un medio líquido, produce un bacilo, y en un medio sólido una célula redonda.

Además, por la propiedad que poseen las células de anastomo-

sarse, y debido á las modificaciones que puede sufrir el protoplasma, bajo la influencia del *medium*, constituyen *simplastos*, ó formas de evolución más complejas.

A estos fenómenos de evolución producidos por la influencia del medio, los hemos denominado de *mutación*; pues además las distintas formas ocasionadas manifiestan á su vez gradaciones en las funciones fisiológicas que les son correspondientes.

3.º La resistencia, ejercida por el medio, sobre la periferia de cualesquiera de las formas vegetativas, ocasionaría una aglomeración ó condensación de protoplasma, que haría las veces de membrana envolvente, etc., pues ésta normalmente se conduce con los reactivos histo-químicos de la misma manera que el protoplasma. (1)

4.º Cuando se multiplican normal ó fisiológicamente cualquiera de las formas vegetativas, lo hacen reproduciendo séres iguales morfológica y fisiológicamente considerados.

5.º La resistencia de los esporos, como la de cualesquiera de las formas vegetativas se hallaría en razón inversa á su grado de desenvolvimiento.

6.º Las funciones fisiológicas en general, de las formas vegetativas, en el fondo, es igual en todas; pues si bien los productos de predilección, como pudiera decirse originados, por las formas principales de desenvolvimiento son distintos, dependerían simplemente de un fenómeno térmico, cuya energía ó intensidad dependería de la energía de la célula y ésta con arreglo á su grado de desenvolvimiento, en la forma que lo hemos establecido, pudiéndose concebir además los productos intermediarios, correspondientes á las diversas gradaciones de la misma.

7.º En cuanto á la producción de la diastasa, estaría subordinada á ese mismo principio; es decir, considerada esta última como un producto de denutrición de la célula originado á espensas de su propio protoplasma, su producción se hallaría á merced: 1.º del

(1) Espero en una próxima memoria tratar con mayor detención este punto.

agente que la provoca; 2.º del grado de menor vitalidad ó resistencia á ese y este último como es de consiguiente, dependiente del desenvolvimiento, ó de agentes de otro órden que disminuyan la vitalidad. De aquí que la debilitación de la función fermentativa exalte la función diastásica y que la levadura fermente la sacarosa con interversión visible, mientras que el bacilo lo hace así, solamente cuando su función fermentativa se halla perturbada por una causa cualquiera.

Montevideo, Agosto de 1896.

EXPLICACIÓN DE LAS PLANCHAS

Plancha núm. I

N.º I *Bacillus.*
N.º II » en filamentos gruesos esporulados.
N.º III » form. veget. encadenados.
N.º IV » forma de transición y bipartición.
N.º V » » » » esporuladas.
N.º VI » » » »
N.º VII a, b, c, d, e. Fáses de la evolución de la forma bacilar á la forma de levadura.
N.º VIII Forma de levadura *saccharomyces* uniesporulada.
N.º IX » » » » multiesporulada.

Plancha núm. II

N.º I fig. a, b, c, d. Fáses de la germinación de los esporos en el interior de la célula madre. — Multiplicación fisiológica del *saccharomyces* (yemación por herniación propiamente dicha) medios líquidos.

N.º I fig. idem idem idem idem (yemación por estrangulamiento) medios líquidos.

N.os II y III a, b, c, d, e, f, g. Fáses de la germinación de los esporos en el interior de la célula madre (medios sólidos).

a — Célula esporulada — b, c, germinación de los esporos, al llegar á este estadio, por lo general ya se percibe un ligero contorno refringente que se hace cada vez más visible en las fáses siguientes: c, d, ligera deformación ó aplanamiento, que se efectúa en los puntos que se hallan en contacto, por la compresión recíproca producida por la germinación.

d, e. Fáse en que la deformación se hace más pronunciada, lo que les hace adquirir una forma de sombrero.

f — Ruptura de la parte envolvente.

f, g — Fáse que indica el paso de las células libres á la forma común, y la del protoplasma de la periferia para constituir luego células por bipartición.

N.º IV a, b, c, d. Cadena de bacilos, que se van engrosando y deformando paulatinamente.

N.º V. Formas diversas que se observan en las culturas en medios sólidos.

N.º VI y VII. Simplastos, ó mycelios.

Plancha núm. III

N.os 1 y 2. Colonias del *saccharomyces* sobre gelatina.

N.º 3. Evolución directa del *saccharomyces* á *bacillus*, por denutrición (coloración al violeta de metilo.)

N.os 4 Bacilos (coloración al violeta de metilo).

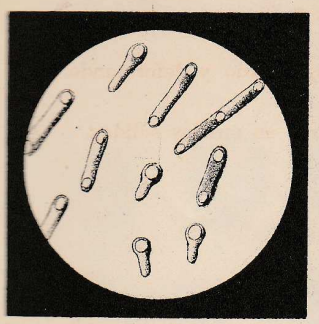
N.º 5, Filamentos.

N.º 6, Forma de filamentos delgados (coloración al violeta de metilo).

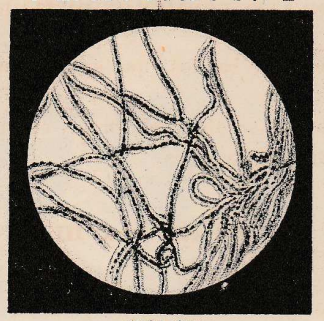
N.º 7. Trama filamentosa arborescente formada por desbridamiento del saccharomyces (coloración al violeta de metilo).

N.º 8. Células del *saccharomyces* (coloración al violeta de metilo).

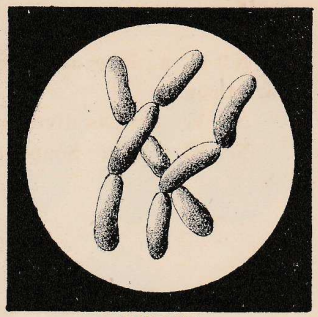
PLANCHA Nº I



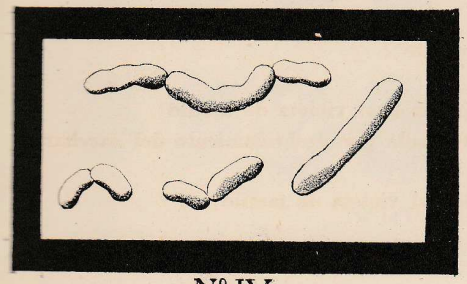
Nº I



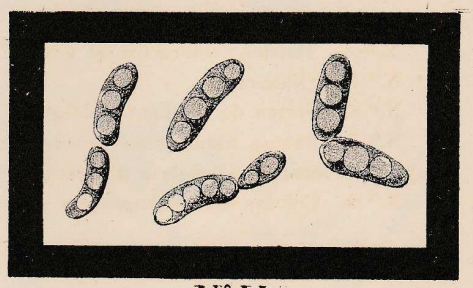
Nº II



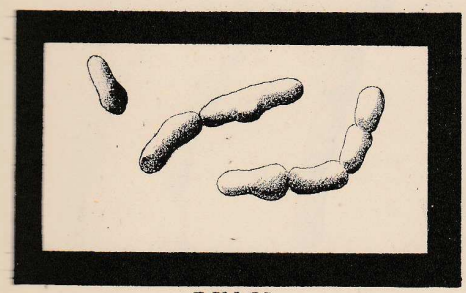
Nº III



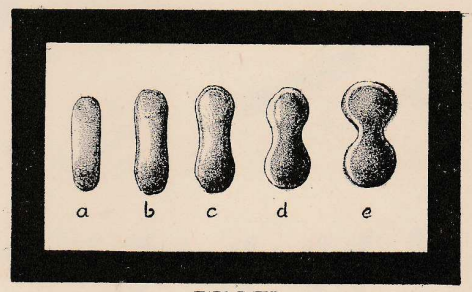
Nº IV



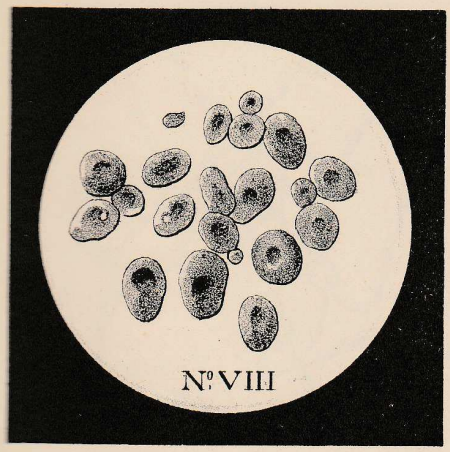
Nº V



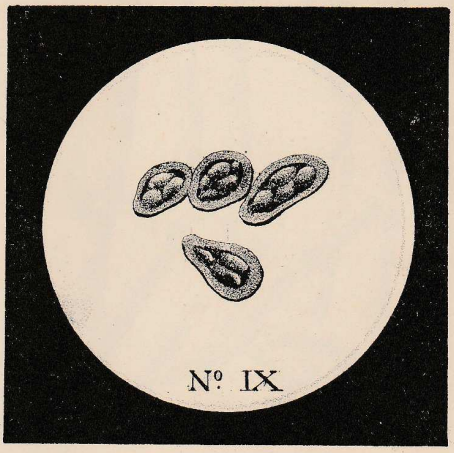
Nº VI



Nº VII

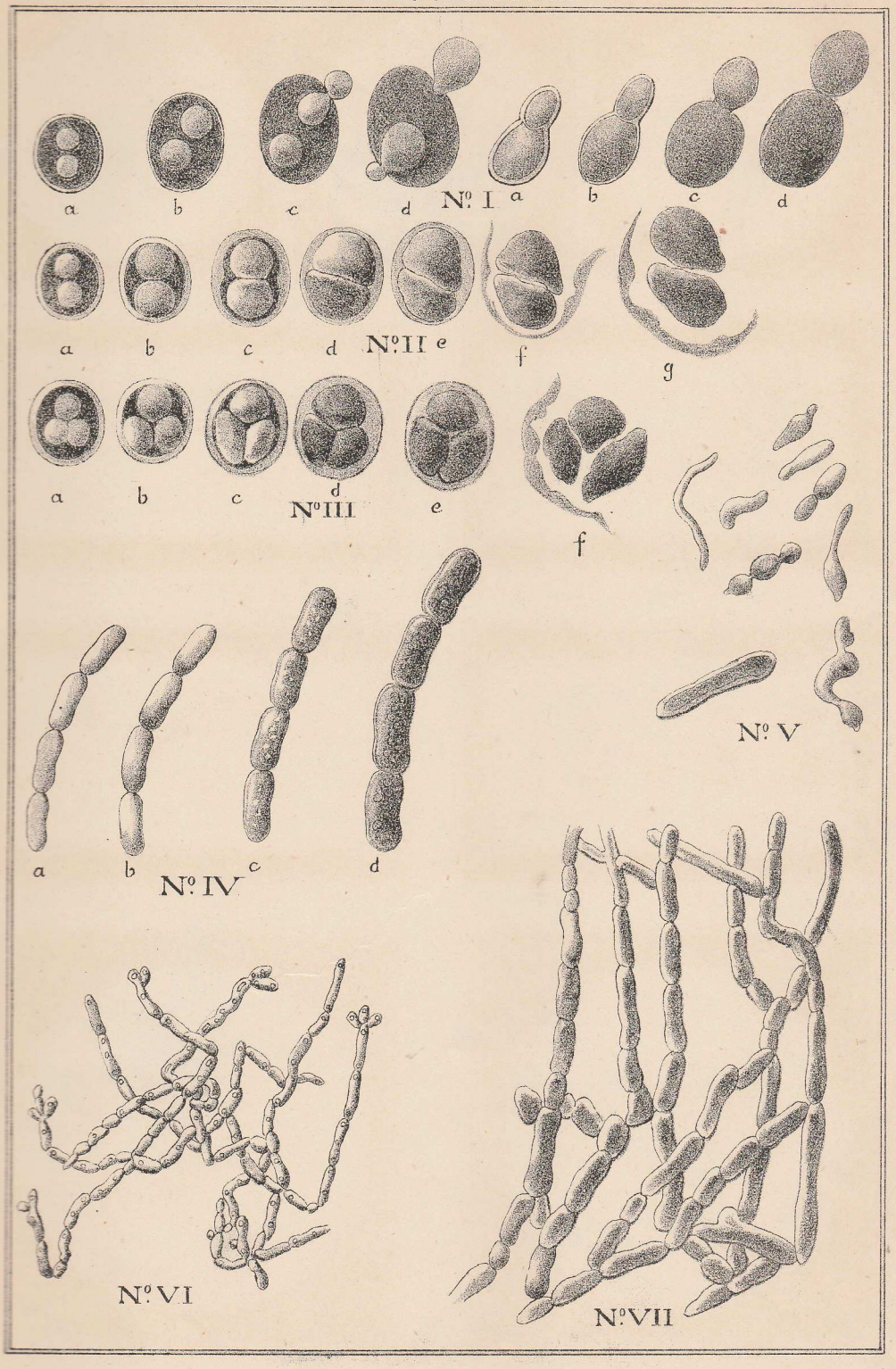


Nº VIII

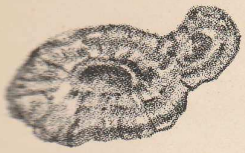


Nº IX

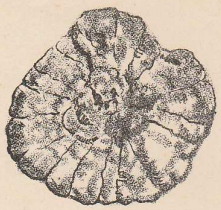
PLANCHA Nº II



PLANCHA Nº III



1

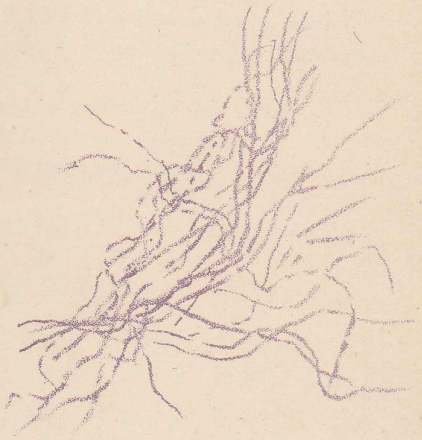


2

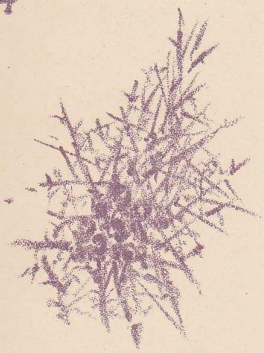
3

4

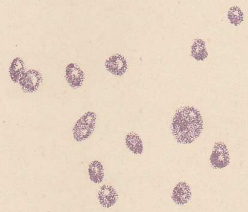
5



6



7



8

FE DE ERRATAS

En la pág. n.º 4 donde dice *Mr. Görjensen* debe leerse MR. JÖRJENSEN.

En la misma pág. en la cita, en vez de *Band XXVI* debe leerse BAND NÚM. 1 (Zweite Abteilung:) Sobre este punto puede verse también el análisis en los Annales de l' Institut Pasteur t. IX pág. 776.

En la pág. 12, párrafos 4.º y 5.º hemos empleado la palabra *gérmen* en su sentido general, como significado de un elemento unicelular ó microorganismo.

En la misma página, líneas 27 y 29 en vez de *célula* léase LEVADURA.