

## Sur La Présence de Certains Ferments Oxydants Dans Les Grains de Phaseolus Vulgaris

Torstes Tounberg

To cite this article: Torstes Tounberg (1921) Sur La Présence de Certains Ferments Oxydants Dans Les Grains de Phaseolus Vulgaris, Archives Internationales de Physiologie, 18:1, 601-606, DOI: [10.3109/13813452109144208](https://doi.org/10.3109/13813452109144208)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.3109/13813452109144208>



Published online: 26 Sep 2008.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)

---

**SUR LA PRÉSENCE  
DE CERTAINS FERMENTS OXYDANTS  
DANS LES GRAINS DE PHASEOLUS VULGARIS**

PAR

TORSTEN THUNBERG

(Laboratoire de physiologie de l'Université de Lund, Suède).

DANS les derniers temps, WIELAND <sup>(1)</sup> a émis une nouvelle théorie de l'oxydation ; d'après cette théorie, la cause de la réaction entre la matière organique et l'oxygène réside non pas, comme on le croyait habituellement autrefois, dans une activation de l'oxygène, mais dans une influence catalytique de la matière à oxyder, par laquelle son hydrogène est activé de façon à pouvoir réagir avec l'oxygène ordinaire. Par conséquent, dans cette hypothèse, l'oxygène sert de fixateur d'hydrogène. Si cette conception est exacte, tout catalyseur, capable de produire une oxydation, doit également pouvoir produire d'autres réactions caractéristiques de l'hydrogène activé : par exemple la décoloration de certaines matières colorantes, dont les combinaisons blanches résultent de l'addition d'hydrogène. WIELAND a réussi à démontrer, en effet, que certains catalyseurs produisant, en présence d'oxygène, des oxydations nettes, décolorent le bleu de méthylène en absence d'oxygène libre.

J'ai eu recours à cette théorie de WIELAND <sup>(2)</sup> pour expliquer quelques phénomènes d'oxydation découverts par moi et étudiés plus tard, surtout par BATELLI et STERN, ainsi que par EINBECK. J'ai trouvé que ce sont précisément les substances augmentant la fixation de l'oxygène par les muscles vivants de la grenouille, substances également oxydées d'ailleurs par ces muscles, qui, en l'absence d'oxygène, activent la propriété que possèdent ces mêmes muscles de décolorer le bleu de méthylène. Les réactions qui interviennent ici

---

<sup>(1)</sup> WIELAND, H. *Ber. d. deutsch. Chem. Ges.*, 1912, Bd. 45, S. 484 ; 1912, Bd. 45, S. 2606 ; 1913, Bd. 46, S. 3327 ; 1914, Bd. 47, S. 2085.

<sup>(2)</sup> THUNBERG. *Skand. Arch. f. Physiologie*, Bd. 33, 1918, S. 223 ; Bd. 40, 1920, S. 1.

sont, sans doute, de nature enzymatique. L'analyse des phénomènes fait admettre que les cellules animales disposent d'un grand nombre d'enzymes, chacune douée d'une affinité optima pour une substance déterminée. En activant une partie de l'hydrogène de la substance en question, l'enzyme prépare l'hydrogène qui doit être brûlé dans les cellules. Un examen plus approfondi démontre que l'hydrogène est la substance oxydable commune à toutes les cellules ; or l'hydrogène est précisément « activé » par les enzymes que nous étudions ici. On peut appeler ces enzymes « hydrogénéo-transportases » ou bien aussi « déshydrogénases ».

Si ces « déshydrogénases » ont l'importance que je leur attribue, on n'est pas loin d'admettre qu'elles se trouvent non seulement dans les cellules animales, mais également dans les cellules végétales. Partant de cette conception, j'ai recherché s'il était possible de découvrir des enzymes analogues dans le domaine végétal : mes recherches furent couronnées de succès.

Je n'ai pas l'intention de m'étendre longuement sur ces recherches ; qu'il me soit permis de mentionner seulement que, tout au moins, les graines des légumineuses sont très riches en « déshydrogénases », ce qui facilite considérablement l'étude de ces enzymes. C'est non seulement le cas des graines fraîches mais aussi des graines desséchées. La farine obtenue par la mouture de ces graines se comporte, à tout point de vue, comme une préparation de déshydrogénases animales.

Les expériences mentionnées ci-dessous ont été faites avec une farine de haricots secs : « *Phaseolus vulgaris* ». Ce qui m'incita à employer cette farine de haricots est que son pouvoir de décoloration du bleu de méthylène, sans addition d'aucune autre substance, est des plus faibles. Par conséquent, quand on se sert de cette farine de haricots, on n'a pas besoin d'inactiver auparavant les enzymes par extraction d'eau. Mais après addition de certaines substances qui agissent comme « coferments » ou, selon mon opinion, comme « donateurs d'hydrogène », la préparation montre son pouvoir de décoloration du bleu de méthylène en l'absence d'oxygène.

Les expériences sont effectuées dans les tubes figurés dans le *Skand. Archiv für Physiol.*, 1918, XXXV, p. 165.

Alors que la plupart des substances examinées ne possédaient aucun pouvoir d'activer la farine de haricot, par contre l'acide formique, l'acide succinique, l'acide malique, l'acide  $\alpha$ -cétogluta-

rique, l'acide glutaminique et l'alcool éthylique avaient ce pouvoir. Les acides furent employés après neutralisation. Puisque l'alcool éthylique agit lui-même comme activateur, il n'est pas possible de neutraliser l'acide en se servant comme indicateur de la solution éthylique ordinaire de phénolphtaléine. Par contre, on peut se servir d'une solution dans l'alcool méthylique.

Le protocole ci-joint mentionne les quantités employées, les durées de décoloration, etc.

TABLEAU I.

Farine de haricot (*Phaseolus vulgaris*) ;

Bleu de méthylène 1 : 5000 en solution aqueuse ;

Biphosphate de potasse  $K^2H PO^4$ , 0,174 grammes dans 10 cc. d'eau ;

Acide malique, 52 mgr. neutralisé au moyen de N/2 KOH et dilué d'eau q. s. pour 4 cc.

Les tubes sont préparés de la manière suivante :

Tubes	1	2	3	4	5
Solution de bleu de méthylène	0.1 cc.	0.1	0.1	0.1	0.1
Solution de phosphate .....	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Acide malique .....	—	0.1	0.2	0.4	0.8
Eau .....	0.8	0.7	0.6	0.4	—

On met ensuite dans chaque tube 50 mgr. de farine de haricot ; après quoi les tubes sont évacués et immergés dans un thermostat. La température du thermostat était de 35° C. La durée de décoloration est annotée.

Tube	1	2	3	4	5
Placé dans le thermostat pendant	10.3'	10.6'	10.9'	10.12'	10.45'
10.30' .....	—	+	+	+	+
10.45' .....	—	+	+	+	+
11.0' .....	—	+	+	+	++
11.15' .....	—	+	++	++	+++
11.25' .....	—	+	++	+++	—
11.35' .....	—	++	+++	—	—
11.45' .....	+	++	—	—	—
12.10' .....	+	+++	—	—	—
2.30' .....	+++	—	—	—	—

Dans ce tableau, + signifie décoloration commençante, ++ décoloration très avancée et +++ décoloration finie. Ainsi qu'on peut le constater, le bleu de méthylène n'est décoloré complètement qu'après environ 4 heures, lorsqu'il n'y a que de la farine de haricot additionnée de biphosphate de potasse comme régulateur de la réaction. L'addition de l'acide malique abrège beaucoup la durée de la décoloration. Si l'on se sert d'une solution neutralisée d'acide malique 1 : 100 la durée de décoloration sera d'environ 60 minutes, ce qui n'est pas même 25 % de la durée de réaction produite spontanément par la farine de haricot. En augmentant un peu la concentration de l'acide malique, il est possible d'abrèger la durée de décoloration d'environ 30 minutes encore : c'est le cas pour une concentration d'environ 25-30 mgr. d'acide malique neutralisé par cc. de solution.

Parmi les substances mentionnées plus haut, qui déterminent la décoloration par la farine de haricot, l'acide céto-glutarique agit le plus énergiquement; du moins, cette substance à la concentration de 8 mgr. par cc. abrège la durée de décoloration à 15 minutes. La durée de décoloration est de 20-25 minutes en présence d'alcool éthylique à 2 % ; d'environ 45 minutes en présence d'acide formique à 0.5 % ; de 70-75 minutes en présence d'acide glutaminique à 1.5 % et d'environ 100 minutes en présence d'acide succinique à 0.1 %. En augmentant plus fort la concentration des acides, on n'obtient aucune diminution de la durée de décoloration, mais, au contraire, si la pression osmotique devient trop forte, on détermine une augmentation de cette durée. Parce que la réduction spontanée de la farine de haricot n'est pas constante, il faut exprimer la force d'une substance activante par la formule suivante :

$$I = 100 \left( \frac{1}{A} - \frac{1}{B} \right)$$

dans laquelle A représente la durée de décoloration en présence d'une substance activante, B la durée de décoloration en absence d'une telle substance, le temps étant indiqué en minutes. Pour n'avoir à faire qu'à des nombres entiers, on multiplie par 100. La lettre I indique l'intensité de la substance activante.

En partant des durées de décoloration indiquées plus haut, on obtient pour les différentes substances activantes les chiffres suivants :

acide $\alpha$ -cétoglutarique .....	6.3
alcool éthylique .....	4.6
acide malique .....	3.
acide formique .....	1.85
acide glutaminique .....	1.1
acide succinique .....	0.63

Ces chiffres n'ont cependant qu'une valeur limitée, parce que les différentes substances atteignent leur maximum d'activité à des concentrations moléculaires tout à fait différentes.

Les substances suivantes n'ont fourni que des résultats négatifs ou du moins faiblement positifs : acide acétique, acide propionique, acide butyrique, acide oxalique, acide malonique, acide glutarique, acide adipinique, acide fumarique, acide maléique, acide glycolique, acide lactique, acide  $\alpha$ -oxybutyrique, acide iso-oxybutyrique, acide tartrique dextro et lœvogyre, acide citrique, acide  $\alpha$ -oxyglutarique, acide lœvulinique, acide acétonedicarbonique (=  $\beta$ -cétoglutarique), alanine, sérine, acide asparaginique, glycose, lactose, saccharose, inosite, formaldéhyde, acétone.

Parmi les six substances qui activent nettement la faculté de décoloration des graines de *Phaseolus* pour le bleu de méthylène, quatre sont des activateurs très puissants des muscles de grenouille ; ce sont : l'acide succinique, l'acide glutaminique, l'acide malique et l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique (voir ma communication antérieure dans *Skand. Arch. für Physiologie*, 1920, XL). L'acide  $\alpha$ -cétoglutarique n'y est pas mentionné : des recherches encore inédites en ont révélé récemment l'efficacité. Le pouvoir *relatif* des substances activatrices est différent vis-à-vis des muscles de grenouille et vis-à-vis de la farine de *Phaseolus* : L'action de l'acide succinique sur ces muscles est la plus puissante, tandis qu'elle n'est pas particulièrement intense vis-à-vis de la farine de *Phaseolus*.

Comme la plupart des enzymes, les « déshydrogénases » de la farine de haricot sont très sensibles à la température. Un chauffage à 50° C. pendant 30 minutes est suffisant pour augmenter de 100 % la durée de décoloration à la température ordinaire. Plus amples détails seront donnés ailleurs. Mentionnons seulement ici que les enzymes en question sont également très sensibles à l'action des ions d'hydrogène ; l'influence délétère de ces ions est accélérée aux températures élevées. Si l'on mélange un peu de farine de haricot avec de l'eau, ce mélange

prendra une réaction nettement acide, probablement à cause de l'acidité de la légumine. Si l'on expose un tel mélange à une température plus élevée, la température n'agira pas seule ; à son action s'ajoutera l'influence des ions d'hydrogène. Pour obtenir à l'état pur l'influence de la température, il faut neutraliser par addition de biphosphate de potasse ( $K_2HPO_4$ ). C'est de cette manière que nous avons procédé pour déterminer cette influence.

Une propriété intéressante de ces « déshydrogénases » est leur sensibilité vis-à-vis du radium. J'avais à ma disposition 10 mgr. de bromure de radium dans un petit réservoir en cuivre protégé par une enveloppe de mica. On ne peut donc compter que sur l'influence des rayons  $\gamma$ . J'ai laissé 50 mgr. de farine de haricot sur la couche de mica pendant 24 heures ; j'ai déterminé ultérieurement la durée de décoloration pour cette farine et pour 50 mgr. de farine non exposée au radium ; la durée de décoloration était augmentée de 20 % pour la préparation exposée au radium, quel que soit l'activateur employé : acide formique, acide glutaminique, alcool éthylique, acide succinique ou acide malique. La durée d'action étant plus longue, l'influence nocive était proportionnellement accrue.

---