Zeitschrift: Archives des sciences physiques et naturelles
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 43 (1917)

Artikel: Recherches sur les ferments réducteurs
Autor: Bach, A.
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-743034

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 07.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

RECHERCHES

SUR LES

FERMENTS RÉDUCTEURS

PAR

A. BACH

(Troisième mémoire)

I

En poursuivant l'étude du ferment qui réduit les nitrates avec le concours des adéhydes [1], j'ai cherché à me rendre compte jusqu'à quel point la nature et la structure du radical uni au groupe adéhydique exercent une influence sur la marche de la réaction. En d'autres termes, la question s'est posée de savoir si le ferment réducteur manifeste la spécificité que l'on s'accorde à considérer comme le caractère distinctif de tout ferment. On admet généralement qu'il existe, entre le ferment et le substrat dont il est appelé à accélérer la transformation, une relation de structure ou de configuration que le grand chimiste Emile Fischer a traduite par l'image de la clef et de la serrure. Une clef n'ouvre d'ordinaire que la serrure pour laquelle elle a été faite. De même un ferment n'agit que le substrat dont la structure est conforme à la sienne. C'est pourquoi, par exemple, chacun des trois disaccharides isomères et physiologiquement importants, le saccharose, le maltose et le lactose, a son ferment spécifique qui le dédouble à l'exclusion de tout autre ferment. Le grand défaut de cette explication de la

[1]) *Bioch Z.*, t. *31*, p. 441 ; t. *33*, p. 282 ; t. *38*, p. 154 ; t. *52*, p. 412 ; t. *58*, p. 205 (années 1911-1914) ; *Archives*, t. *32*, mai 1911 ; t, *37*, mai 1914.

spécificité des ferments, c'est que non seulement leur structure et leur configuration, mais encore leur composition chimique nous sont totalement inconnues, aucun des ferments n'ayant été préparé jusqu'ici à l'état chimiquement pur. L'hypothèse de la *spécificité structurale* des ferments est donc impossible à vérifier par l'expérience.

D'autre part, il existe des faits d'ordre expérimental qui ne cadrent pas avec cette hypothèse de la spécificité. Dans une série de travaux [1] j'ai montré que la spécificité, telle qu'on la conçoit généralement, faisait défaut aux ferments oxydants les plus répandus, à la phénolase et à la peroxydase. La première oxyde, avec le concours de l'oxygène libre, trois groupes de corps aussi différents que les phénols, les amines aromatiques et l'acide iodhydrique. La seconde oxyde les mêmes corps avec le concours de l'oxygène des peroxydes à la place de l'oxygène libre. Mais ces trois groupes de corps chimiques ont une propriété commune : celle de renfermer de l'hydrogène mobile dans leur molécule, et c'est cet hydrogène mobile qui est oxydé par la phénolase et la peroxydase. Aucun autre corps organique ou inorganique n'est attaqué par ces ferments. On peut donc dire que ceux-ci sont aussi spécifiques ; mais leur spécificité est d'ordre *fonctionnel* et non *structural,* elle se rapporte à la fonction chimique (présence d'hydrogène mobile dans la molécule) et non à la figure géométrique que la molécule du substrat dessine dans l'espace.

Au point de vue de la théorie de la spécificité, il était donc intéressant de déterminer la nature de la spécificité du ferment réducteur. Mes expériences qui ont porté sur 14 aldéhydes ont été effectuées dans les conditions suivantes :

Comme je l'ai déjà mentionné antérieurement, le ferment réducteur existe dans le lait frais, mais il ne peut être isolé sans perte d'activité. Dans l'étude de ce ferment, on est donc obligé de se servir de lait frais et cru. Il a été établi par de nombreuses expériences qu'à lui seul le lait frais ne réduit pas les nitrates, mais qu'il les réduit rapidement en présence d'al-

[1]) *Berichte : d. d. Chem. Ges.*, 1907, *40*, p. 230, 3185 ; *Archives* (1916), t. XII, p. 56.

déhydes ou de substances susceptibles de fournir des aldéhydes. Pour chaque expérience, 10 c. c. de lait et 10 c. c. d'une solution à 10 % de nitrate de soude tenant en solution ou en suspension 0,001 mol.-gr. d'aldéhyde ont été employés. Le mélange bien agité a été abandonné au thermostat à 60° pendant une heure. Au bout de ce temps, on a prélevé sur chaque mélange 1 c. c. que l'on a versé dans un ballon jaugé de 50 c. c., traité par 5 c. c. d'une solution saturée de sous-acétate de plomb, agité le mélange, filtré sur un filtre sec et, dans 10 c. c. de filtrat, on a dosé colorimétriquement le nitrite formé d'après la méthode Ilosvay-Lunge. Dans le tableau suivant, le nitrite formé est exprimé en milligrammes d'anhydride azoteux N_2O_3 par 10 c. c. de lait. Dans ce tableau, il n'a pas été tenu compte des quantités de nitrite inférieures à 0,001 milligramme. A titre de comparaison, j'ai répété la même série d'expériences avec le ferment réducteur qui se trouve dans les tubercules de pommes de terre et qui réduit, comme le ferment du lait, les nitrates avec le concours des adéhydes [1]. 5 g. de pulpe de pommes de terre délayés dans 10 c. c. d'eau ont été employés dans chaque expérience à la place de 10 c. c. de lait.

MILLIGRAMMES N_2O_3.

Aldéhydes.	Ferment animal	Ferment végétal
Formique	0,023	0,201
Acétique	0,473	0,257
Chloral	0,0	0,046
Valérianique	0,161	0,232
Furfurol	0,301	0,246
Citronnellal	0,006	0,401
Citral	0,376	0,163
Benzoïque	0,987	0,229
p — Oxybenzoïque	0,927	0,221
o — Oxybenzoïque	0,911	0,274
m — Nitrobenzoïque	0,0	0,281
m — Chlorobenzoïque	0,002	0,249
Anisique	0,512	0,231
Pipéronal	0,911	0,237

[1]) *Bioch. Zeitsch.* 1913, t. *52*, p. 412, *Archives*, XXXVII, mai 1914.

On voit par ce tableau que, le chloral et l'aldéhyde m-nitrobenzoïque exceptés, toutes les aldéhydes examinées ont été utilisées pour la réduction du nitrate par le ferment animal, bien que d'une manière inégale. Par contre, avec le ferment végétal, toutes les aldéhydes, sans exception, ont fourni des quantités plus ou moins uniformes de nitrite. Ces résultats montrent que le ferment réducteur n'est pas spécifique dans le sens usuel du mot. Autrement, il faudrait supposer que les tubercules de pommes de terre contiennent 14 ferments réducteurs spécifiques — un pour chacune des aldéhydes mises en expérience — et un nombre illimité de ferments spécifiques pour d'autres aldéhydes. A moins de faire cette supposition que l'expérience ne justifie nullement, on est forcé de reconnaître que le ferment réducteur est *spécifique de la fonction aldéhydique —CHO indépendamment de la nature et de la structure des radicaux attachés à cette fonction.* Comme dans le cas de la phénolase et de la peroxydase, la spécificité du ferment réducteur est fonctionnelle et non structurale.

Mais si la spécificité du ferment réducteur est exclusivement fonctionnelle, comment expliquer le fait que les aldéhydes sur lesquelles le ferment animal est resté sans action, aient fourni des quantités notables de nitrite avec le ferment végétal ? L'expérience acquise dans l'étude des ferments oxydants fournit à ce sujet des indications assez claires. Il s'agit ici de l'influence du milieu sur les réactions accélérées par les ferments. Un ferment, en tant que catalyseur, ne peut qu'accélérer une réaction qui se fait d'elle-même, quelque petite que soit sa vitesse initiale, mais il est impuissant vis-à-vis d'un système chimique qui se trouve dans l'équilibre stable. C'est donc de la réaction qui se fait d'elle-même, de la réaction fondamentale que dépend l'intervention ou la non-intervention du ferment. Tout ce qui favorise la réaction fondamentale est aussi favorable à l'action du ferment ou inversement. On conçoit aisément que chaque substance demande certaines conditions pour entrer en réaction. Si l'une des conditions vient à manquer, la réaction fondamentale est retardée ou supprimée et, comme conséquence, l'action du ferment est également retardée ou supprimée. Dans

un travail fait en collaboration avec B. Sbarsky [1], j'ai montré que la quantité d'acide sulfurique nécessaire pour arrêter l'action oxydante d'une quantité déterminée de phénolase variait, toutes choses égales d'ailleurs, avec la nature des phénols à oxyder. En étudiant avec Mlle V. Maryanovitch [2] l'influence de différents sels sur l'action oxydante de la phénolose, nous avons également trouvé que cette influence variait avec la nature des substances à oxyder. Ces faits montrent à l'évidence l'influence que l'état du milieu exerce sur l'action de la phénolase. Dans la plupart des cas, l'état du milieu ne se répercute sur l'action de la phénolase que pour autant qu'il intéresse la réaction fondamentale. Si, par exemple, la phénolase n'oxyde l'orcine qu'en solution alcaline, ce n'est pas parce que l'alcalinité du milieu est nécessaire pour la manifestation de l'action oxydante de ce ferment, c'est parce que, déjà en l'absence de tout catalyseur, l'orcine ne se combine à l'oxygène qu'en milieu alcalin. Car la même phénolase n'oxyde la p-phénylènediamine qu'en solution acide [3]. Tous les phénomènes de spécificité observés dans l'action de la phénolase sur différents substrats, ont pu être ramenés a l'influence du milieu, c'est-à-dire aux conditions nécessaires pour la mise en œuvre des réactions fondamentales, et non à l'existence de phénolases spécifiques.

La même interprétation s'applique aussi aux faits relatifs à l'action du ferment réducteur. Dans le lait, ce ferment est entouré de substances différentes de celles qui l'accompagnent dans les tubercules de pommes de terre. C'est dire que, dans les deux cas, il est appelé à agir dans des conditions de milieu différents. Que l'un des milieux soit plus favorable que l'autre à la transformation de telle ou telle aldéhyde, c'est tout à fait dans l'ordre des choses.

En résumé, il y a lieu de distinguer entre la spécificité véritable, celle qui se rapporte à une fonction chimique déterminée et la spécificité apparente qui résulte simplement de l'état du milieu. Il va de soi que, pour le moment, la conclusion que je

[1]) *Bioch. Zeitsch.*, t. *34*, p. 478 (1911).
[2]) *Bioch. Z.*, t. *42*, 417 (1912).
[3]) S. Bach : Sermentforschung, t. I, p. 197 (1915) ; *Archives*, t. *39*, juin 1915.

viens d'énoncer n'est vraie que pour les ferments oxydants et réducteurs que j'ai étudiés de plus près. Il se peut bien que les ferments hydrolysants et notamment les trois disaccharases, invertase, lactase, maltase, soient doués de spécificité structurale ou de configuration. Les nombreuses tentatives que j'ai faites en vue d'abolir la spécificité de ces trois disaccharases par la modification de l'état du milieu ont donné jusqu'à présent des résultats nettement négatifs. Mais des faits nouveaux et hautement intéressants viennent de surgir qui tendent à montrer que la différence, au point de vue de la spécificité, entre les ferments oxydants et réducteurs et les ferments hydrolisants n'est pas aussi fondamentale que l'on serait tenté de le croire. E. Abderhalden et A. Fodor [1] ont étudié l'hydrolyse d'un grand nombre de polypeptides synthétiques par les peptases de la levure. En déterminant l'optimum d'acidité pour une quantité donnée de ferment dans l'hydrolyse de différents polypeptides, ils ont constaté que, toutes choses égales d'ailleurs, l'optimum variait avec la nature des polypeptides! Comme dans le cas de la phénolase, l'influence de l'acidité était donc fonction des propriétés des substrats et non de celles du ferment. Dans leurs vastes recherches, M. Abderhalden et Fodor n'on trouvé aucun fait à l'appui de l'existence de peptases spécifiques (« glycylase », « leucylase », etc.). En d'autres termes, ils admettent provisoirement que la spécificité des peptases est fonctionnelle et non structurale.

Dans le même ordre d'idées, une observation non moins intéressante a été faite par Emile Fischer lui-même. Ce savant avait préparé pour la première fois les deux méthylglucosides α et β et constaté qu'ils se comportaient différemment à l'hydrolyse par les ferments et par l'acide chlorydrique. Le dérivé α se laissait facilement dédoubler par la maltase et n'était pas attaqué par l'émulsine, le dérivé β était hydrolysé par l'émulsine et point par la maltase. L'acide chlorydrique dédoublait le premier dérivé beaucoup plus rapidement que le dernier. Tout dernièrement E. Fischer a fait en collaboration avec L. v. Mechel [2] la synthèse de l'α—phénol—d—glucoside et du

[1]) Sermentforschung, t. I, p. 533 (1916).
[2]) Berichte d. d. Chem. Ges., *49*, 2813 (1916).

β—phénol—*d*—glucoside qui, comme les dérivés méthyliques correspondants, ne diffèrent que par leur configuration. En raison de cette différence, le dérivé α n'est dédoublé que par la maltase, le dérivé β n'est hydrolysé que par l'émulsine. Mais, chose très remarquable, l'α—phenolglucoside est hydrolysé par l'acide chlorhydrique beaucoup moins rapidement que le β—phénolglucoside. C'est donc exactement l'inverse de ce qu'on observe avec les deux méthylglycosides α et β. Si la vitesse de l'hydrolyse des glucosides par l'acide chlorhydrique dépendait de leur configuration, les dérivés α devraient, dans les deux cas, être dédoublés plus rapidement que les dérivés β. Comme ce n'est pas le cas, Fischer se voit obligé de reconnaître que « l'hydrolyse des glucosides isomères n'est pas déterminée que par la structure et la configuration, mais qu'elle subit aussi l'influence d'autres facteurs qui nous sont inconnus ». Il suppose que parmi ces facteurs inconnus, il faut ranger la faculté de former des produits intermédiaires que nous sommes portés à considérer comme l'un des caractères de l'action des catalyseurs.

On voit par ce qui précède que la notion de la spécificité des ferments est en voie de se modifier considérablement.

II

En étudiant au point de vue quantitatif la réduction des nitrates par le ferment du lait avec le concours des aldéhydes, j'ai constaté les faits suivants :

1° Pour une quantité donnée de ferment, la quantité de nitrite formée augmente avec la concentration du nitrate jusqu'à un optimum qui correspond à la teneur d'environ 5 % en nitrate du mélange en réaction.

2° Pour une quantité donnée de ferment, la quantité de nitrite formée augmente avec la concentration de l'aldéhyde jusqu'à un optimum qui correspond à la teneur d'environ 1 % en aldéhyde acétique [1].

Si l'on compare les quantités de nitrite formées et les quantités de nitrate et d'aldéhyde nécessaires pour obtenir les meil-

[1]) *Bioch. Z.*, *33*, 282 (1911) ; *Archives*, t. *32*, juillet 1911.

leurs résultats, on trouve une très grande disproportion. Le maximum de nitrite que j'aie jamais obtenu en me plaçant dans les meilleures conditions possibles, correspondait à un rendement de 0,6 % par rapport au nitrate et de 0,01 % par rapport à l'aldéhyde. On sait que les réactions accélérées par des ferments ne vont jamais jusqu'au bout parce que, pour une raison ou pour une autre, le catalyseur se trouve bientôt mis hors d'usage. Mais soit avec les ferments hydrolysants, soit avec les ferments oxydants, on obtient des rendements qui vont du 15 au 95 % de la théorie. Le ferment réducteur du lait fait donc exception à la règle générale. Dès le début de mes recherches, j'ai constaté que, dans les conditions optimales, la réduction s'arrêtait au bout d'une heure environ, ce qui dénotait un épuisement rapide de l'action catalytique du ferment. Plusieurs causes peuvent contribuer à la mise hors d'usage de celui-ci. Il y a d'abord l'action nocive des aldéhydes que, d'une manière générale, les ferments supportent mal. Dans mes expériences, j'ai trouvé que lorsque la concentration de l'aldéhyde dépassait 1 % (calculée en aldéhyde acétique), le pouvoir réducteur du système décroissait rapidement pour tomber à 0 lorsque la concentration s'élevait à 2,5 %. Pour élucider ce premier point, j'ai eu recours à une méthode indirecte. Dans des travaux antérieurs, j'ai montré que le principe réducteur des tissus animaux était constitué par un ferment identique à celui qui se trouve dans le lait frais et par un coferment pouvant être remplacé par des aldéhydes. L'étude plus approfondie de ce coferment a révélé qu'il était formé par le mélange de produits résultant de la dégradation des albumines. Ce mélange. qui ne contient pas d'aldéhydes, en engendre des quantités appréciables lorsqu'on le chauffe en solution aqueuse. Les adéhydes se forment au dépens des acides α—aminés par une réaction oxydo-réductrice analogue à celle découverte par Strecker en 1863. Comme, dans les albumines dégradées, les aldéhydes ne se forment que peu à peu et que, se trouvant en présence du ferment, elles soient utilisées au fur et à mesure pour la réduction du nitrate ajouté, on pouvait espérer que les albumines dégradées détérioreraient moins le ferment et fourniraient plus de nitrite que les aldéhydes. Cet espoir ne s'est pas réalisé.

Pour les expériences, je me suis servi d'albumines complètement dégradées en acides aminés d'après la méthode d'Abderhalden, c'est-à-dire par l'action successive de la peptase, de la tryptase et de l'éreptase. L'ordonnance des expériences a été la suivante :

Des portions de 10 c. c. de lait frais ont été additionnées de 1 à 5 % d'albumines dégradées et de 0,4 g. de nitrate de soude, les mélanges ont été chauffés pendant une heure au thermostat à 60° et au bout de ce temps, le nitrite formé a été dosé comme il a été décrit dans le chapitre précédent. Voici les résultats obtenus :

MILLIGRAMMES N_2O_3 par 10 c. c. de lait.

Albumines dégradées :	1%	2%	3%	4%	5%
	0,069	0,147	0,227	0,302	0,291

Des expériences de contrôle instituées dans les mêmes conditions avec des albumines dégradées sans addition de lait frais ou avec addition de lait bouilli ont donné un résultat négatif en ce qui concerne la formation de nitrite.

On voit par ces chiffres que la quantité de nitrite formée croît avec la concentration des produits de dégradation des albumines jusqu'à la teneur de 4 % et commence à diminuer au-delà de cette concentration. A titre de comparaison, j'ai fait, dans les mêmes conditions et avec le même lait, une expérience avec des quantités croissantes de pipéronal chimiquement pur (0,0001 à 1,0015 gr. mol. dans 10 c. c.) :

MILLIGRAMMES N_2O_3 par 10 c. c. de lait.

Gr. — mol. de pipéronal :	0,0001	0,0005	0,0010	0,0015
	0,119	0,249	0,330	0,326

Ces résultats montrent que les quantités de nitrite fournies par les albumines dégradées, même lorsqu'elles sont employées à la concentration optimale, sont inférieures à celles que l'on obtient avec la majorité des aldéhydes. L'action nocive des aldéhydes sur le ferment n'est donc pas la cause principale de la faiblesse de rendement en nitrite.

Une autre cause de l'arrêt rapide de la réduction pourrait résider dans l'action délétère des produits de réduction des nitrates, et notamment de l'hydroxylamine, sur le ferment.

L'hydroxylamine est considérée depuis longtemps comme poison des ferments. Or la réduction du nitrate par le ferment du lait en présence d'aldéhydes ne s'arrête pas au nitrite. Il est facile de s'en convaincre en employant du nitrobenzène à la place du nitrate. Dans ce cas, il se forme de l'aniline qui se laisse facilement déceler. Mais s'il y a réduction de l'azote nitrique en azote ammoniacal, il doit y avoir nécessairement formation d'hydroxylamine comme produit intermédiaire. C'est pour cette raison qu'il m'a paru intéressant d'étudier l'influence de cette base sur le ferment du lait. L'expérience a consisté à faire agir des quantités croissantes d'hydroxylamine sur des quantités données de lait et à déterminer le pouvoir réducteur du ferment ainsi traité vis-à-vis du nitrate en présence d'aldéhydes.

Des portions de 10 c. c. de lait frais ont été traitées par des quantités croissantes (2 à 6 milligrammes) d'hydroxylamine dans 5 c. c. et les mélanges ont été abandonnés à la température ordinaire pendant 30 minutes. Au bout de ce temps, chaque mélange a été additionné de 0,4 g. de nitrate de soude et de 2 gouttes d'aldéhyde benzoïque et chauffé au thermostat pendant 1 heure à 60°. (Série A.) Une expérience analogue a été instituée dans les mêmes conditions avec la seule différence que l'hydroxylamine a été ajoutée au lait en même temps que le nitrate et l'aldéhyde. (Série B.) Une expérience de contrôle a été faite en outre sans addition d'hydroxylamine. Le dosage du nitrite formé a donné les résultats suivants :

MILLIGRAMMES N_2O_3 par 10 c. c. de lait.

	Série A			Série B			Contrôle
Milligr. d'hydroxylamine :	2	4	6	2	4	6	0
	0,266	0,248	0,201	0,272	0,255	0,203	0,277

Ces expériences montrent que l'ydroxylamine, même employée à la concentration relativement considérable de 30 milligrammes pour 100 c. c., ne diminue que dans la proportion de 25 % environ le pouvoir réducteur du ferment du lait. D'autres expériences que je m'abstiens de citer ont donné des résultats analogues.

La cause de l'arrêt rapide de l'action catalytique du ferment du lait reste encore à élucider.