

**Zeitschrift:** Bulletin de la Société botanique de Genève  
**Herausgeber:** Société botanique de Genève  
**Band:** 21 (1929-1930)  
**Heft:** 1

**Artikel:** Contribution à l'étude des ferments du *Cyperus esculentus* L.  
**Autor:** Bustinza, Florencio  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-1099562>

### **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:** 17.04.2026

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

# Contribution à l'étude des ferments du *Cyperus esculentus* L.

par le

**Dr FLORENCIO BUSTINZA**

Professeur d'Agriculture à Oviedo (Espagne)

---

Le présent travail a été effectué à l'Institut de Botanique de l'Université de Genève.

Je dois exprimer ma profonde reconnaissance à M. le Prof. Dr. R. CHODAT et à son fils le Prof. Dr F. CHODAT, pour leurs précieux conseils et pour les facilités qu'ils m'ont accordées pour présenter cette modeste contribution à l'étude des catalyseurs biochimiques du souchet comestible.

## INTRODUCTION

Le souchet comestible ou amande de terre — *Cyperus esculentus* L. (« chufa » en espagnol ) — est une plante herbacée cosmopolite qui aime les terrains sablonneux et humides ; on la multiplie par ses tubercules qu'on sème à la fin mai ou au commencement de juin.

Elle fleurit en été et possède un rhizome avec des tubercules arrondis très riches en fécule, huile et saccharose ; on les récolte dans les mois d'octobre et de novembre.

Cette plante est répandue (1) à travers tout le continent africain et porte entre autres noms ceux d'*hab-el aziz*, chez certains peuples musulmans du nord de l'Afrique, de *gojiya* en Nigérie, de *neba* ou *nefa* au Bornou.

Elle est connue également en Asie, en Amérique et en Océanie.

En Chine c'est l'*o-ling* ; au Japon c'est le *Kayatsourigousa*. Les tubercules ne sont cependant pas consommés partout. Au Tonkin par exemple, où la plante est commune<sup>2</sup> d'après M. POUCHAT, elle n'est utilisée que comme plante médicinale contre les maux de reins.

<sup>1</sup> Jumelle « Les plantes à tubercules alimentaires » E. Sc. Doin, Paris.

<sup>2</sup> C'est le *cugan* des Annamites,

C'est dans le Nord de l'Afrique, particulièrement en Egypte, en Europe méridionale, et notamment en Espagne que le *C. esculentus* a de l'importance.

Les tubercules du *C. esculentus* servent surtout à préparer des orgeats (horchata en espagnol); mais on fait aussi, avec les souchets, des gâteaux analogues aux gâteaux d'amandes, et en Egypte la classe pauvre fait, avec les tubercules torréfiés, une sorte de café d'un goût assez agréable.

En 1822, à la Société Académique de la Loire inférieure, LESANT (pharmacien à Nantes) présenta une note sur la composition chimique du souchet, et fit remarquer l'importance que pourrait avoir la culture de cette plante en France.

En 1851, dans le laboratoire de Wurtz à Paris, le Professeur espagnol M. RAMÓN TORRES MUNOZ Y LUNA, fit l'étude chimique du souchet <sup>1</sup>.

Voici le résultat de son analyse quantitative :

Eau .....	7,10
Huile.....	28,06
Fécule .....	29,—
Saccharose .....	14,07
Albumine .....	0,87
Cellulose .....	14,01
Total .....	<u>93,11</u>
Gomme, matière colorante, et perte ....	6,89
Total .....	<u>100,—</u>

POWER et CHESNUT ont fait l'examen chimique du *C. esculentus* <sup>2</sup> et BAUGHMAN et JAMIESON ont fait l'étude chimique de l'huile du souchet <sup>3</sup>.

Le résultat de l'analyse chimique effectuée par le Dr. SERRALLACH <sup>4</sup> est le suivant :

<sup>1</sup> J. de Ph. et de Chimie, 3me série. T. 19, p. 336 à 346.

<sup>2</sup> Chemical examination of « Chufa » The tubers of *Cyperus esculentus*. Linné. J. of Agric. R. V. 26. p. 69-75 (1923).

<sup>3</sup> W. F. BAUGHMAN and G. JAMIESON « The constituents of « Chufa » oil, a fatty oil from the tubers of *Cyperus esculentus* Linné ». The J. of A. R. V. 26. p. 76-82 (1923).

<sup>4</sup> Die Wurzel Knollen von «*Cyperus esculentus* L.» Joseph SERRALLACH. Frankfurt am Main, (1927). (Thèse de l'Université).

	<i>Souchet sec</i>	<i>Souchet avec 9,2% d'eau</i>
Eau .....		9.2 %
Substances azotées .....	7.55%	6.27
Saccharose .....	21.62	19.72
Amidon.....	24.54	22.39
Pentosanes .....	6.03	5.51
Matière fibreuse .....	8.56	7.81
Huile.....	29.58	26.99
Cendres.....	1.71	1.56

Il est intéressant aussi de signaler l'analyse chimique des cendres effectuée par le même chercheur <sup>1</sup> :

Résidu insoluble dans le FH.....	1.64
Acide silicique .....	5.68
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	0.24
Ca O.....	6.78
Mg O.....	10.93
K <sub>2</sub> O .....	29.99
Na <sub>2</sub> O .....	4.29
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	28.76
S O <sub>3</sub> .....	9.60
Cl.....	2.69
Mn.....	0.00025
Total .....	<u>100.60</u>

Pendant mon séjour à l'Institut de Botanique de l'Université de Genève je commençai, au mois de février (1928), l'étude des ferments contenus dans les *rhizomes-tubercules* du souchet comestible.

Au mois de mai M. le Prof. Dr. R. Chodat reçut de l'Université de Frankfort, la thèse de M. J. SERRALLACH.

L'étude très fouillée de M. Serrallach confirma plus d'une des observations que je venais de faire. Le point de vue plus particulièrement chimique auquel s'est placé l'auteur, et les résultats qui étaient en désaccord avec mes propres expériences, m'ont engagé à publier la présente étude. Principalement orientée vers l'enzymologie, elle contribuera, nous l'espérons, à faire connaître les phénomènes de maturation que présente le souchet comestible.

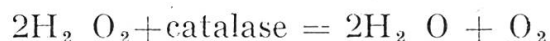
<sup>1</sup> Loc. cit. p. 48-49.

J'ai effectué mes expériences avec des souchets provenant de Tarragone (Espagne). Au début de mes expériences, quatre mois s'étaient écoulés depuis la récolte.

### CATALASE

O. LOEW<sup>1</sup> en 1901 donna le nom de catalase au ferment qui dédouble l'eau oxygénée.

C'est, d'après le Professeur Dr. R. Chodat, un ferment de dislocation qui agit sur le peroxyde d'hydrogène, le dédoublant en eau et oxygène moléculaire, inactif :



La catalase est le ferment le plus universellement répandu dans tous les êtres vivants et cela engage à lui assigner un grand rôle dans les procès biochimiques.

Dans sa thèse, M. J. SERRALLACH conclut que la catalase existe en grande quantité dans le *C. esculentus*.

C'est vrai, et j'ai comparé l'activité catalasique du rhizome sec de *C. esculentus* avec celle du rhizome sec d'*Iris germanica*, en obtenant les résultats suivants :

30 c. c. d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 1% (PH=7) + 1 g. de <i>C. esculentus</i> broyé avec 10 c. c. d'H <sub>2</sub> O.		30 c. c. d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 1% (pH=7) + 1 g. d' <i>I. germanica</i> broyé avec 10 c. c. d'H <sub>2</sub> O.	
Minutes	O <sub>2</sub> dégagé	Minutes	O <sub>2</sub> dégagé
2	8.5	2	3.8
4	17	4	9.6
6	26.2	6	16.0
8	34.4	8	23.3
10	40.0	10	27.5

La conclusion de FREDERICKS en 1911<sup>2</sup> à propos de la plus grande activité catalasique des graines oléagineuses comparée à celle des graines amylacées, peut s'appliquer ici, parce que le contenu en graisse du souchet comestible (29%) est plus grand que celui de l'*I. germanica* (9,6%).

<sup>1</sup> Catalase a new enzyme of general occurrence with special reference to the tobacco plant. U. S. Departement of agric. R. No 68-1901.

<sup>2</sup> « Sur le rôle physiologique de la catalase » I. B. (1911).

La plus grande activité catalasique du *C. esculentus* serait-elle due à la richesse en graisse de ce rhizome ?

Lorsque nous broyons le souchet avec de l'eau, on obtient une émulsion laiteuse ; il est possible que l'état spécial physico-chimique qu'acquière alors les graisses, vienne renforcer l'activité de la catalase, en augmentant le degré de dispersion du complexe catalase. Suivant l'opinion de beaucoup de savants, le rôle physiologique de la catalase serait de prendre part, comme régulateur, aux procès d'oxydation biochimique, libérateurs d'énergie.

Il n'y a pas de doute que les réserves de glucides et lipides, accumulées dans le souchet comestible, sont des sources précieuses d'énergie.

Le procès de respiration libère cette énergie au profit de l'activité déployée au cours de la germination des tubercules. L'intensité de la fonction catalase du souchet comestible, qui fait d'ailleurs exception à ce point de vue parmi les organes souterrains d'autres plantes, est sans doute liée à l'utilisation de ces réserves.

### PHILOTHION

En 1886, J. DE REY PAILHADE rendit compte, à la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse, des expériences qui l'amènèrent à la conclusion de l'existence, dans les cellules vivantes, d'une substance organique qui dégage  $\text{SH}_2$  en présence du soufre ; en 1888, il démontra qu'on pouvait extraire le philothion de la levure de bière.

Pozzi-Escot a voulu identifier la catalase avec le philothion : « It seems, then, justifiable to conclude that Loew's catalase is identical with the enzymes of the new group which I have established <sup>1</sup> ».

M. le Prof. Dr. R. Chodat démontra que la catalase ne possède aucune propriété réductrice et que la seule propriété connue de la catalase est de dégager l'oxygène moléculaire en agissant sur l'eau oxygénée.

J'ai fait l'essai <sup>2</sup> du philothion dans le souchet comestible de la manière suivante :

<sup>1</sup> The reducing enzymes « Am. Chem. Journ. T. 29. p. 552 (1903) ».

<sup>2</sup> M. J. SERRALLACH n'a pas fait l'essai pour la recherche du philothion.

*Flacons Erlenmeyèr*

- A.... 2 gr. de *C. esculentus* (sec) broyé avec 1 gr. de soufre en poudre + 5 c.c. H<sub>2</sub>O + 1/2 c.c. de toluol.
- B.... 2 gr. de *C. esculentus* (qui avait été 24 heures dans le coton humide pour amorcer la germination) + 1 gr. de S. + 5 c. c. H<sub>2</sub>O + 1/2 c. c. de toluol.
- C.... 2 gr. de *C. esculentus* (sec) broyé avec 5 c. c. H<sub>2</sub>O + 1/2 c. c. de toluol.
- D..... 2 gr. de *C. esculentus* (24 heures dans le coton humide) broyé avec 5 c. c. H<sub>2</sub>O + 1/2 c. c. de toluol.
- E..... 1 gr. de S. + 5 c. c. H<sub>2</sub>O + 1/2 c. c. de toluol.

Tous les Erlenmeyers sont fermés avec des bouchons de liège et chacun de ces derniers porte un papier imprégné d'acétate de plomb.

On met les Erlenmeyers à l'étuve à 30° et au bout de 12 heures on voit que le papier correspondant à l'Erlenmeyer B. est déjà noir (SPb) et que celui de l'Erlenmeyer A. commence à brunir, et au bout de 48 heures le papier A. est aussi noir que le B.

Tous les autres papiers ne changent pas de coloration. On déduit de cette expérience que dans les tubercules de *C. esculentus* il y a du philothion, mais qu'on observe une *action Philothion* plus intense dans les tubercules en germination.

## OXYDASE ET PEROXYDASE

En 1883 HIKOROKURO YOSHIDA présenta une communication à la Société Chimique de Tokio, en indiquant que le noircissement à l'air de la lacque japonaise ou Urushi (suc laiteux du *Rhus vernicifera*) était dû à l'action d'un ferment soluble qui, en agissant sur l'acide uruschiq, l'oxydait (grâce à l'oxygène de l'air) en acide oxyuruschiq.

M. BERTRAND en 1893 reçut du Tonkin un échantillon parfaitement pur du latex du *Rhus succedanea* et ses travaux réalisés sans connaître la communication de YOSHIDA sur l'Urushi, lui ont permis d'établir d'une manière certaine, et pour la première fois, l'existence d'un ferment soluble auquel il donna le nom de « laccase »<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> G. BERTRAND: « Recherches sur la laccase. Nouveau ferment soluble à propriétés oxydantes ». Extrait des Annales de Chimie et de Physique, 7me série, T. XII 1897.

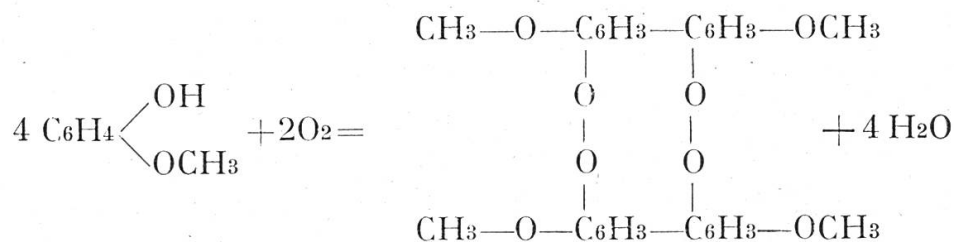
M. BERTRAND assigne <sup>1</sup> au manganèse (dont la proportion s'élève à 2% dans les cendres de la laccase) un rôle important <sup>2</sup> comme vecteur d'oxygène, et d'après l'illustre savant français, l'activité de la laccase serait proportionnelle à la richesse en manganèse.

M. R. CHODAT démontra <sup>3</sup> que la propriété qu'ont quelques sucs végétaux de produire, avec l'émulsion fraîche de gaïac, une coloration bleue due à l'oxydation des acides gaïaconiques contenus dans la résine de gaïac, va de pair avec celle de décomposer le IK (expériences faites avec les *Lactarius vellereus*, *Russula delica*, *R. factens*, *R. nigricans*, etc. employant le papier de IK amidonné et légèrement acidulé).

M. le Prof. R. CHODAT démontra, aussi, que la propriété de ces sucs disparaît par l'ébullition, et qu'en précipitant le suc frais par l'alcool, on obtient une oxydase qui peut être purifiée et qui, dissoute dans l'eau, donne les deux réactions.

M. BOURQUELOT en 1896, signala la superbe coloration rouge produite par l'action du suc de certains champignons sur la solution aqueuse de gaïacol. BERTRAND démontra <sup>4</sup> que la coloration est due à l'action de la laccase, cette réaction étant caractéristique de la laccase. On peut s'en servir, pour la différencier de la tyrosinase, sans action sur le gaïacol.

D'après M. BERTRAND, la matière colorante rouge doit être considérée comme tetragaïaquinone résultant de la soudure de 4 molécules de gaïacol avec élimination de 4 molécules d'eau.



On peut extraire la presque totalité de la guayaquinone formée en agitant le liquide aqueux avec son volume de chloroforme ; le liquide chloroformique coloré peut servir pour la détermination colorimétrique de la tetraguayaquinone.

<sup>1</sup> G. BERTRAND : « Sur le pouvoir oxydant des sels manganoux et sur la constitution chimique de la laccase ». Bull. de la Soc. Chimique de Paris, 3e série. T. 17, p. 753 (1879).

<sup>2</sup> R. CHODAT démontra qu'il y a des laccases sans Mn et sans Fe.

<sup>3</sup> R. CHODAT : Les ferments oxydants « Extrait du J. Suisse de Chimie et pharmacie No 46-48 (1905).

<sup>4</sup> G. BERTRAND : « Action de la laccase sur le gaïacol ». Extrait du B. de la Soc. Chim. de Paris, 3me série, T. 31, p. 185 (1904).

C'est la méthode suivie par P. FLEURY dans ses intéressants travaux <sup>1</sup> sur la loi d'action de la laccase.

La laccase en agissant sur le pyrogallol (triphenol 1-2-3) l'oxyde et donne d'abord un liquide jaune, et après un précipité rouge-orangé microcristallin de purpurogalline.

La détermination quantitative de la laccase peut être réalisée en recueillant, en séchant et en pesant la purpurogalline formée par l'action du ferment sur le pyrogallol. On peut aussi mesurer l'oxygène absorbé et doser le C O<sub>2</sub> dégagé dans la réaction.

ZAHORSKI pesait la poudre blanche qui résulte de l'action de la laccase sur le p-crésol.

Les méthodes colorimétriques sont basées sur la détermination du degré d'intensité de couleur bleue avec la teinture de gaïac. Mentionnons encore la méthode à la benzidine (méthode de Otto H. H. BEGEMANN) et celle de FLEURY.

R. WILLSTAETTER et A. STOLL ont modifié la méthode de Chodat et Bach en extrayant la purpurogalline avec l'éther et la dosant colorimétriquement, en la comparant dans un colorimètre avec une solution standard, qui contient 100 mmg. de purpurogalline pure dissous dans un litre d'éther.

Les essais que j'ai faits pour mettre en évidence la laccase (oxydase) dans les tubercules du souchet comestible m'ont donné un résultat négatif.

## PEROXYDASE

On connaissait depuis longtemps la propriété qu'ont beaucoup de sucs végétaux de colorer en bleu l'émulsion de teinture de gaïac en présence de l'eau oxygénée et on croyait que ladite propriété était générale pour tous les ferments.

LINOSSIER désigna <sup>2</sup> du nom de peroxydase le ferment capable de bleuir la teinture de gaïac en présence de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (On n'avait pas encore découvert la catalase).

<sup>1</sup> P. FLEURY : « Recherches sur la laccase ». I. Méthode d'étude. Mémoire présenté dans la séance du 16 octobre 1923 à la Soc. de Ch. Biol.

Id. II. « Loi d'action de la laccase », séance du 14 mars 1924.

Id. Rapport entre l'activité de la laccase diastatique et la réaction du milieu. I. Etat actuel du problème. II. Application à l'étude de la laccase, séance du 1er avril 1924.

Id. « Recherches sur la laccase ». « Contribution à l'étude de l'influence de la réaction du milieu sur l'activité des diastases ». Thèse Dr. Sciences Naturelles (1924).

<sup>2</sup> LINOSSIER : « Contribution à l'étude des ferments oxydants, sur la peroxydase du pus ». C. R. Soc. Biol., 26 mars 1898.

CHODAT et BACH découvrirent une méthode <sup>1</sup> pour obtenir de la peroxydase pure en partant de la racine de raifort (*Cochlearia armoracia*).

La peroxydase obtenue par le Prof. CHODAT donnait avec la teinture de gaïac fraîche en présence de l' $H_2O_2$ , une coloration bleue ; avec le I K amidonné, en présence de l' $H_2O_2$ , une coloration bleue, avec la solution de gaïacol en présence de l' $H_2O_2$ , une coloration rouge ; avec la solution de pyrogallol en présence de l' $H_2O_2$ , le précipité rouge-orangé de purpurogalline et avec le p-crésol en présence de l' $H_2O_2$  une opalescence blanche qui se dépose plus tard en forme de poudre blanche, etc., c'est-à-dire que CHODAT et BACH démontrèrent que toutes les oxydations que peut effectuer la laccase, le système peroxydase-peroxyde peut les faire également.

Cette constatation fait émettre à CHODAT et BACH l'hypothèse que les oxydases sont des systèmes peroxydases-hydroperoxydes ou peroxydases-peroxydes. Il y a identité de réaction et il est impossible d'oxyder au moyen du système peroxydase-hydroperoxyde d'autres corps que ceux qu'oxyde la laccase.

Les expériences que j'indique m'ont servi à mettre en évidence la peroxydase dans les tubercules du souchet comestible <sup>2</sup>.

10 gr. de tubercules broyés avec 100 c. c. d'eau.

Essais avec l'émulsion	}	+ 1 c. c. de solution de pyrogallol à 2% + 5 gouttes $H_2O_2$ (neutre et à 1%)	<i>Coloration</i> jaune et enfin précipité rouge- orangé de purpu- rogalline.
		+ 1 c. c. d'émulsion fraîche de gaïac + 5 gouttes $H_2O_2$ .	bleu intense.
		+ 1/2 c. c. de gaïacol à 1% + 5 gouttes + $H_2O_2$	rouge.
		+ 1 c. c. de solution de benzidine + 5 gouttes $H_2O_2$	violet sale.

<sup>1</sup> E. DE STOECKLIN: « Contribution à l'étude de la peroxydase ». Travaux de l'I. B de Genève (1907).

<sup>2</sup> M. SERRALLACH dans sa thèse (p. 52) conclut à l'existence de l'oxydase dans le souchet comestible. Il est clair qu'il veut parler de la peroxydase, parce qu'il a opéré en présence

Après je centrifugeai l'émulsion pour éliminer l'amidon (qui forme un culot au fond du tube à centrifuger), et la plus grande partie de la graisse (qui surmonte, la surface du liquide centrifugé). Avec ce liquide, une fois séparé de la couche de graisse et du culot d'amidon, je réalisai les expériences citées ci-dessus avec le même résultat. Ces expériences montrèrent qu'il y a de la peroxydase dans le souchet comestible.

Pour avoir une idée de l'activité de cette peroxydase, je préparai un extrait aqueux de souchet (2 gr. de tubercule broyés avec 25 c. c. d'eau) et en même temps (dans un autre flacon un extrait de la racine de raifort (2 gr. broyés avec 25 c. c. d'eau).

Au bout de 15 minutes de macération, je filtrai à travers la laine de verre et je fis agir, dans deux flacons différents, les extraits obtenus sur une solution de pyrogallol +  $H_2O_2$  (dont le pH était porté préalablement à 6 pour éviter que l'alcalinité puisse agir sur le pyrogallol).

Au bout d'une demi-heure j'extrayais, par séparation, la purpurogalline formée dans les deux récipients, avec l'éther sulfurique<sup>1</sup>; je comparais colorimétriquement les deux solutions éthérées avec la solution type de purpurogalline (10 mmg. de purpurogalline dans 100 c. c. d'éther) et je trouvais que, tandis que l'extrait de raifort donnait 19,4 mmg. de purpurogalline, celui du souchet comestible donnait seulement 4 mmg. ce qui nous indique que l'activité peroxydasique du raifort, était 5 fois plus grande que celle du souchet.

On doit se rappeler que je travaillais avec la racine fraîche de raifort et que les souchets utilisés avaient 6 mois depuis leur récolte.

### PSEUDO-PEROXYDASE<sup>2</sup>

La solution aqueuse de peroxydase purifiée de raifort donne, avec la solution aqueuse de p-crésol à 1% et en présence de l'eau oxygénée, un corps insoluble, blanc, dont la formation se traduit

de l' $H_2O_2$ ; mais les trois essais qu'il effectua ne sont pas les plus appropriés. Il pratiqua la réaction de STORCH avec la paraphénylènediamine (méthode de TILLMAS) obtenant une coloration violet-rouge brune, la réaction de Rothenfuser avec le chlorhydrate de paraphénylènediamine (la solution alcoolique de gaïac et  $H_2O_2$ ); l'auteur dit avoir obtenu une coloration positive, mais sans indiquer quelle est cette coloration. Il fournit enfin la preuve au gaïac avec la teinture de gaïac (résine + acétone) et l' $H_2O_2$ ; cette dernière réaction lui donnait un résultat positif (il n'indique pas non plus la coloration obtenue).

<sup>1</sup> J'employais 100 c. c. d'éther pour chaque extraction.

<sup>2</sup> R. CHODAT et Fl. BUSTINZA: « Sur la pseudo-peroxydase, un nouveau ferment indirect, agissant par le moyen du peroxyde d'hydrogène » C. R. des séances de la Soc. de Phys. et d'H. Nat., Genève. (séance du 21 juin 1928).

au début par un trouble opalescent, puis blanc laiteux et qui finit par se déposer en forme de poudre blanche.

L'émulsion préparée avec les tubercules de *C. esculentus* est blanche; donc, pensai-je, si je lui ajoute du p-crésol et  $H_2O_2$ , je ne pourrai pas mettre en évidence la peroxydase par ce procédé. En effet, le produit de condensation du p-crésol étant blanc, sa formation ne pourra être visible dans un liquide qui est déjà blanc et laiteux.

Comme les essais avec le gaïacol, l'émulsion de gaïac, la benzidine, et le pyrogallol en présence de l'eau oxygénée, me révélèrent la peroxydase, j'hésitais à faire l'essai avec le p-crésol; enfin, je me suis décidé à employer le p-crésol et, en ajoutant à 3 c.c. d'émulsion de souchet, 1/2 c. c. de p-crésol à 1% et 5 gouttes d'eau oxygénée à 1% et neutre, j'observe avec grande surprise, qu'au bout d'une à deux minutes, apparaît une coloration rouge sanguine.

Je filtre le liquide rouge à travers du papier à filtrer et j'obtiens 2 c. c. de liquide rouge qui donne à 100 c. c. d'eau, une coloration rose bien perceptible, d'où je conclus, que cette substance rouge est soluble dans l'eau.

Cela va sans dire, que si on n'ajoute pas de l'eau oxygénée, la coloration rouge n'apparaît pas. De même, si on chauffe à l'ébullition l'émulsion de souchet, avant de lui ajouter le p-crésol et l' $H_2O_2$ , la coloration rouge n'apparaît plus.

Sommes-nous en présence d'une *action ferment*? Comme, en même temps qu'apparaît la coloration rouge, on observe un dégagement énergétique d'oxygène moléculaire (dû à l'action de la catalase sur l' $H_2O_2$ ), je me demandai si l'action de l'oxygène moléculaire dégagé en présence de p-crésol suffirait à faire virer au rouge un corps hypothétique contenu dans le souchet?

En faisant passer un courant d'oxygène par l'émulsion de souchet + p-crésol, il n'apparaît pas de coloration rouge, ce qui exclut la première hypothèse.

C'est l'oxygène atomique qui agit dans cette réaction, donc, pensais-je, quand je chauffe à l'ébullition l'émulsion, je détruis la peroxydase; lorsqu'on ajoute après le p-crésol et l' $H_2O_2$ , comme il n'y a plus de peroxydase, il n'y a pas libération d'oxygène atomique pour agir sur le complexe substance hypothétique + p-crésol; mais, cette supposition qui faisait intervenir la notion d'intégrité du ferment peroxydase n'était pas juste, parce qu'en

ajoutant à l'émulsion bouillie et refroidie, de la peroxydase active de raifort, puis du p-crésol et de l' $H_2O_2$ , la coloration rouge ne parut pas.

Serait-ce une peroxydase spéciale qui donnerait la coloration rouge avec le p-crésol et l' $H_2O_2$  ?

Sur le conseil de M. le Prof. R. CHODAT, je procédai à l'extraction de la peroxydase. On broie 100 gr. de souchets (12 heures dans le coton humide) avec 500 c. c. d'alcool à 40° ; on met le produit résultant dans un flacon d'Erlenmeyer avec quelques gouttes de toluol et au bout de 24 heures je filtre le liquide à travers du papier plissé.

Le liquide filtré avait une coloration ambrée, donnait des réactions intenses de peroxydase, et avec le p-crésol et l' $H_2O_2$ , un trouble blanc et finalement le dépôt blanc caractéristique.

Cette expérience nous démontre que la peroxydase de souchet comestible a toutes les propriétés caractéristiques de la peroxydase de raifort, et qu'on peut séparer la fonction peroxydase vraie, de celle qui fournit les corps rouges.

Croyant que, peut-être, on pourrait extraire avec l'alcool bouillant le corps responsable de la coloration rouge, je broyai quelques souchets avec l'alcool bouillant (78-79°); après avoir fait bouillir pendant 10 minutes le produit broyé, je filtrai; après refroidissement du liquide filtré, celui-ci ne donna aucune coloration rouge avec le p-crésol et l' $H_2O_2$ , mais en essayant le résidu qui restait dans le filtre, avec le p-crésol et l' $H_2O_2$ , on obtient une coloration rouge très intense ; cependant, l'action peroxydase a disparu (vérification à la résine de gaïac, etc.).

On peut conclure qu'à la température de 78°-79° C. et opérant avec l'alcool, on inactive la peroxydase, mais non l'autre ferment.

Le résidu dépourvu de peroxydase, provenant du traitement à l'alcool bouillant, perd rapidement son activité par l'ébullition avec l'eau.

La seule réaction connue (jusqu'ici) de ce nouveau ferment, est celle de donner une coloration rouge avec le p-crésol en présence de l'eau oxygénée. Comme ce ferment a besoin, pour agir, du peroxyde d'Hydrogène, et comme on ne peut pas l'appeler « peroxydase », parce qu'il ne possède pas les réactions de ce ferment, M. le Prof. R. CHODAT proposa de le désigner du nom de « Pseudo-peroxydase ».

Quelle est la nature chimique du pigment rouge ? Il se décolore avec la solution aqueuse de  $\text{SO}_2$  : serait-il une quinone ?

Le Prof. R. CHODAT démontra, il y a quelques années, que lorsque la tyrosinase agit sur le système p-crésol-glycocolle, il se forme une coloration bleue avec fluorescence dichroïque ; c'est la réaction caractéristique du crésol-azur.

CHODAT et WYSS ont montré que, dans le cas du crésol-azur, le bleuissement est un phénomène secondaire et que la tyrosinase seule intervient dans la première phase, c'est-à-dire dans la formation du corps rouge, qui serait peut-être une quinone, laquelle par l'action des acides aminés donnerait le crésol-azur.

Le Prof. R. CHODAT me proposa d'essayer d'ajouter au liquide rouge (obtenu au moyen de la pseudoperoxydase + p-crésol +  $\text{H}_2\text{O}_2$  et bouilli pour détruire tous les ferments), une solution de glycocolle.

Je fis l'essai, et j'observai qu'au bout de peu de temps, le pigment rouge avait donné la réaction caractéristique du crésol-azur, bleu avec fluorescence dichroïque, laquelle en présence d'acide acétique, se laissait extraire par l'alcool amylique, donnant un très fort dichroïsme.

Le ferment peroxydasique nouveau, la pseudo-peroxydase, constituerait donc, pour autant que les expériences actuelles permettent de conclure, par rapport à la tyrosinase (en ce qui concerne la réaction du crésol-azur) une image peroxydasique de ce ferment comme le système peroxydase-peroxyde est l'image de l'oxydase directe de la laccase.

### LIPASE

La lipase est le ferment qui hydrolyse les graisses, les dédoublant en glycérine et acide gras ; ce ferment peut aussi opérer la réaction inverse.



En 1834 EBERLÉ observa que le suc pancréatique possède le pouvoir d'émulsionner les graisses et le savant physiologiste, Claude BERNARD, en 1856, démontra que les huiles ou les graisses neutres en général, agitées avec le suc pancréatique, donnent rapidement un émulsion dont l'acidité augmente peu à peu par la libération des acides gras.

SCHÜTZENBERGER fut le premier (1877) à attribuer l'hydrolyse des graisses à l'action d'une enzyme.

En 1889 GREEN extrait <sup>1</sup> le ferment (lipase) des semences de ricin en germination, en les faisant macérer dans la solution de CINa à 5% ; ensuite, il dialyse le liquide et la partie qui reste dans le dialysateur, mélangée avec émulsion d'huile de ricin, chauffée à 40°, saponifie l'huile, et le milieu s'acidifie.

En 1896 HANRIOT trouva la lipase dans le sérum sanguin (séro-lipase). En 1904 NICLOUX fit ses investigations sur l'extraction de la lipase du ricin (lipaseidine de NICLOUX) en concluant que l'action lipase réside dans le cytoplasme et qu'il ne s'agit pas d'un ferment soluble dans l'eau, mais que ce cytoplasme possède tous les caractères des ferments solubles, en ce qui concerne la température, action des produits de la réaction, loi, etc., la vitesse de saponification, etc.

D'après NICLOUX, « la lipase est un ferment soluble, insoluble ». En 1907 E. ROUGE publia ses travaux <sup>2</sup> sur la lipase du *Lactarius sanguifluus* et signala 45° comme température eugénésique pour cette lipase.

D'après JALANDER le pH optimum pour l'action lipase est de 2,9 à 3,7.

BAUGHAMN et JAMIESON dans leur étude chimique de l'huile de *C. esculentus* <sup>3</sup> laissent entrevoir l'existence d'une lipase dans le souchet comestible : « The acid value is high for a fresh oil extracted from sound material and this is probably due to a very active fat-splitting enzym in the tuber ».

M. J. SERRALLACH nie <sup>4</sup> l'existence de la lipase dans les tubercules du *C. esculentus*.

J'ai mis la lipase en évidence de la façon suivante :

Broyer avec de l'eau quelques tubercules dans un mortier, mettre l'émulsion dans deux flacons d'ERLENMEYER, ajouter du toluol, boucher avec du coton hydrophile et placer les deux flacons à l'étuve à 25°.

Le pH du liquide était entre 6,5 et 7.

<sup>1</sup> GREEN : « On the germination of the seed of Castor oil plant ». P. R. S. Vol. 48 p. 370.

<sup>2</sup> « Le *Lactarius sanguifluus* Fr. et la lipase » Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektions-Krankheiten, II Abteilung XVIII, Band, 1907, No 19-21.

<sup>3</sup> Loc. citato.

<sup>4</sup> Loc. citato, page 50-2.

Au bout de 48 heures je prends un des ERLÉNMEYER et observe que le liquide peut se filtrer assez bien à travers le papier humide, ce qui n'était pas possible (sauf avec grande difficulté) en préparant l'émulsion, parce que l'état émulsif des graisses empêchait la filtration ; je trouvai aussi que le pH du liquide est à peu près 3, ce qui indique clairement qu'il y a eu une acidification. Le liquide filtré ne donne pas la réaction de la pseudoperoxydase (coloration rouge avec le p-crésol et l'eau oxygénée), mais celle de la peroxydase <sup>1</sup> quoique très peu intense à cause de l'acidité du milieu. Le produit qui resta sur le filtre (après la filtration) donnait directement la réaction de la pseudoperoxydase, à condition de neutraliser l'acidité avec quelques gouttes de NaOH  $\frac{N}{10}$  et d'ajouter ensuite, le p-crésol et l'eau oxygénée.

Cette acidité est-elle due aux acides gras libérés par l'action de la lipase ?

Ne pouvait-elle être due aussi à l'action de la glycerophosphatase sur les glycérophosphates ou sur l'acide glycerophosphorique provenant de la désintégration des lécithides par des lécithases spécifiques ?

Ne pourrions-nous admettre aussi l'action d'une phytase qui en agissant sur la phytine produirait l'acide phosphorique ?

Sans nier la possibilité que ces phénomènes (hydrolyse de l'acide glycerophosphorique et de la phytine) puissent avoir lieu dans mes expériences, je dois signaler néanmoins qu'en faisant le dosage de l'acide phosphorique au commencement de l'expérience et au bout de 50 heures, je n'ai pas trouvé une augmentation d'acide phosphorique qui puisse expliquer une acidification aussi intense.

Ce qu'on observe dans le deuxième Erlenmeyer au bout de quelques jours démontre que cette acidification est bien due à l'action d'une lipase.

En effet, lorsqu'on débouche le flacon, on sent l'odeur caractéristique de beurre rance, ce qui indique que nous sommes en présence d'une hydrolyse de graisse ; le liquide contenu dans cet Erlenmeyer filtre bien et donne un liquide clair et très acide.

Le résidu qui reste dans le filtre après la filtration ne donne pas cette fois, après neutralisation, la réaction de la pseudoperoxydase ;

<sup>1</sup> La quantité de toluol était suffisante pour empêcher toute infection.

j'attribue cela à ce que l'acidité progressive et maintenue plusieurs jours, a inhibé, dénaturé et détruit complètement ce ferment.

Je crois que nous avons des preuves suffisantes pour conclure à l'existence d'une lipase dans les tubercules de souchet comestible.

Autrement, à quoi serviraient au tubercule les réserves précieuses de lipides, sans le catalyseur propre à leur utilisation ?

#### GLYCÉROPHOSPHATASE

Les phosphatides (lipides phosphorés) ont un grand intérêt biochimique. Parmi les phosphatides, la phytine<sup>1</sup> (éther hexaphosphorique de l'inosite) est localisé dans les graines, tubercules, rhizomes, et bulbes de grand nombre de végétaux ; les lécithides (éthers glycériques de l'acide phosphorique et des acides gras en combinaison avec la choline, qui quelquefois est substitué par la bétaine) constituent une part importante du protoplasme, ne manquant dans aucun tissu végétal.

OVERTON assigne aux lécithides de la membrane cellulaire, un rôle important dans la perméabilité cellulaire, en réglant les phénomènes osmotiques des parois cellulaires et en conditionnant l'absorption des matières nutritives.

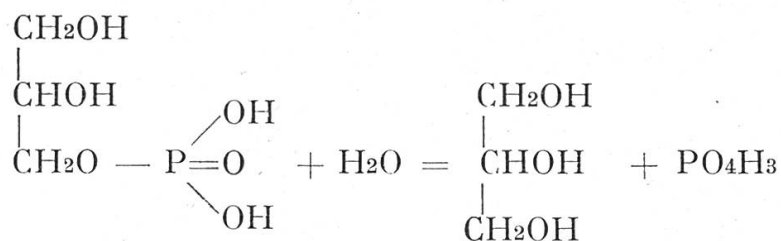
D'après ISCOVESCO, la liposolubilité seule agit comme facteur dominant, dans quelques procès exceptionnels, comme la narcose ; et pour LOEW et PALLADIN les lécithides joueraient un certain rôle dans les phénomènes respiratoires.

C'est un fait bien connu que certains lipoïdes sont autooxydables, particulièrement par l'influx du fer ; et ceci a incité M. FOURNEAU et M. MADINAVEITIA à croire que les lécithines constituent le moyen de transporter l'oxygène dans l'organisme (vecteurs d'oxygène).

Il n'y a aucun doute que dans quelques graines, les lécithides forment des réserves qui sont solubilisées pendant la germination, par l'action de diastases spécifiques.

On connaît, en effet, la glycerophosphatase, qui dédouble l'acide glycérophosphorique et les glycérophosphates, en glycérine et acide phosphorique.

<sup>1</sup> S. POSTERNAK : « Sur la constitution chimique et la synthèse du principe phospho-organique des plantes vertes ». C. R. des séances de la Soc. de Phys. et d'H.N. de Genève, s. du 4 nov. 1920.



On trouve la glycérophosphatase surtout dans les graines oléagineuses.

NEMEC et DUCHON <sup>1</sup> ont trouvé que l'activité de la glycérophosphatase diminue avec la perte du pouvoir germinatif.

J'ai cherché <sup>2</sup> la glycérophosphatase dans le souchet comestible de la façon suivante :

#### *Erlenmeyer*

A. 5 gr. de tubercules broyés avec 50 c. c. H<sub>2</sub>O + 2 c. c. de toluol.

B. 5 gr. de tubercules broyés avec 50 c. c. de solution de glycérophosphate de soude à 2% + 2 c. c. de toluol.

Les deux Erlenmeyer ont été mis à l'étuve à 25° et au bout de 60 heures j'ai dosé, avec les deux, l'acide phosphorique soluble par le procédé volumétrique de LEMATTE et DELACROIX <sup>3</sup>.

<i>Résultats</i>	mmg. de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
A. ....	20
B. ....	100
Différence.....	<hr/> 80 mmgr.

On déduit de cette expérience que les tubercules de *C. esculentus* ont du glycérophosphatase.

### EMULSINE

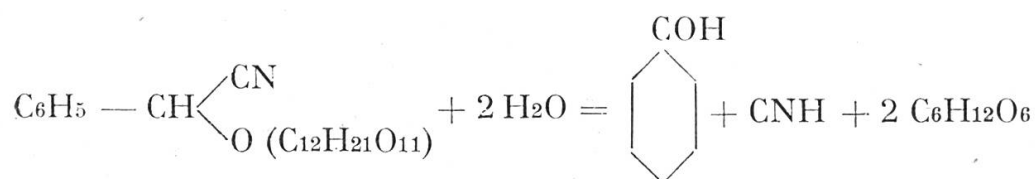
L'amygdaline est un glucoside nitrogené, obtenu pour la première fois (1830) par ROBIQUET et BOUTRON en partant des amandes amères.

En 1837, LIEBIG et WÖHLER trouvèrent que l'amygdaline était hydrolysée par une enzyme en présence de l'eau à laquelle ils donnèrent le nom d'émulsine.

<sup>1</sup> A. NEMEC et F. DUCHON : « Peut-on déterminer la valeur des semences par voie biochimique » C. R. Ac. S.c T. 137, p. 933, 1921.

<sup>2</sup> M. SERRALLACH n'a pas essayé de mettre en évidence ce ferment dans le *C. esculentus*.

<sup>3</sup> « Dosage volumétrique de l'acide phosphorique. Applications à l'étude de l'acidité urinaire phosphatique ». B. de la Soc. de Ch. Biol., T. VI, p. 521-33 (1924).



L'amygdaline est un glucoside du disaccharide nommé amygdalose. On a synthétisé l'amygdaline, utilisant comme disaccharide la gentiobiose, ce qui veut dire que l'amygdalose et la gentiobiose sont les mêmes sucres.

Il y a d'autres glucosides voisins de l'amygdaline, mais qui donnent par hydrolyse une seule molécule de glucose.

On connaît les trois formes du mandelnitrilglucoside : la prunasine ou laurocerasine dans l'écorce de *Prunus Padus*, qui est la forme lévogyre, la prulaurasine (forme racémique) dans les feuilles de *P. Laurocerasus* et la sambunigrine (forme dextrogyre) dans les feuilles de *Sambucus nigra*.

On connaît aussi des glucosides cyanogénétiques qui donnent par hydrolyse de l'acétone, au lieu d'aldéhyde benzoïque (la linamarine, la phaseolunatine, la manihotoxine, le glucoside du latex de *Hevea brasiliensis*, etc.).

\* L'émulsine n'agit pas seulement sur l'amygdaline et sur le mandelnitrilglucoside, mais aussi sur tous les  $\beta$  glucosides (arbutine, salicine, rubierytrine, quercitrine, saponine, etc.).

On peut mettre en évidence l'émulsine, en la faisant agir sur la solution d'amygdaline, et en cherchant les produits d'hydrolyse, la glucose, par ses propriétés réductrices, l'aldéhyde benzoïque par son odeur et le CNH avec le papier picrosodé de GUINARD.

L'émulsine est un ferment très répandu dans le règne végétal. A propos de l'émulsine, M. SERRALLACH, à la page 59 de sa thèse, écrit : « BAUGHAMN hat es in der Chufa in kleinen Mengen nachgewiesen ».

D'abord je dois constater que M. BAUGHAMN n'a pas fait l'étude de l'émulsine dans le *C. esculentus* ; il ne parle pas de l'émulsine dans son travail <sup>1</sup>.

Ce sont POWER et CHESNUT qui dans le travail « Chemical examination of Chufa <sup>2</sup> » laissent entrevoir l'existence de l'émulsine dans le souchet comestible.

<sup>1</sup> Loc. citato.

<sup>2</sup> Loc. citato.

« The clear aqueous filtrate from the starch was mixed with twice its volume of alcohol, when a very slight flocculent precipitate was produced. After standing for several hours the precipitate was collected, washed with a little alcohol, and dried. The dark-colored product could then be triturated to a brownish powder and amounted to 0,6 gm. Its aqueous solution gave the biuret reaction, a precipitate with potassium-mercuric-iodid, and developed ammonia on heating with a caustic alkali, thus showing the characters of a protein. *It also slowly hydrolyzed amygdalin, which indicated the presence of an enzym* ».

Dans ce qui précède, les auteurs américains n'indiquent pas comment ils ont mis en évidence l'hydrolyse de l'amygdaline, ni dans quelles conditions ils ont fait l'hydrolyse, ni s'ils ont cherché l'acide cyanhydrique, ni s'ils ont fait les expériences de contrôle nécessaires dans les essais avec les ferments.

En tenant compte de l'intéressant travail de M. F. CHODAT<sup>1</sup> sur l'importance des points isoélectriques dans la préparation et dans l'activité des ferments, j'ai préparé avec les tubercules du souchet comestible un liquide extractif employant une solution tampon de pH = 5,3 (mélange phosphates).

J'ai fait agir l'émulsion obtenue en broyant 2 gr. avec 30 c. c. de solution tampon (pH = 5,3) sur une solution d'amygdaline (à 2 %). J'ai aussi employé le liquide filtré de la macération (pendant 1 heure) des souchets broyés avec le mélange phosphates.

Les expériences ont été effectuées dans un thermostat ALTMANN, réglé à 45°.

Eprouvettes	Solution d'amygdaline	Emulsion de C. esculentus	Liquide filtré après 1 heure de macération	Mélange phosphates pH = 5.3
A	10 c. c.	5 c. c.	—	—
A'	10 c. c.	—	5 c. c.	—
B	10 c. c.	5 c. c. (bouillie)	—	—
B'	10 c. c.	—	5 c. c. (bouillie)	—
C	10 c. c.	—	—	5 c. c.
D	—	15 c. c.	—	—
E	—	—	15 c. c.	—

<sup>1</sup> C. R. Soc. de Phys. et d'H. N. de Genève, Vol. 44, No I, p. 35-40 (1927).

On a mis aussi dans chaque éprouvette 10 gouttes de toluol.

L'objet de l'éprouvette C est de voir si l'acidité correspondant au  $\text{pH} = 5,3$  pouvait être rendue responsable de l'hydrolyse de l'amygdaline et les tubes D et E, devaient contrôler si l'émulsion du souchet comestible ou le liquide de macération, pouvaient agir sur le papier picrosodé.

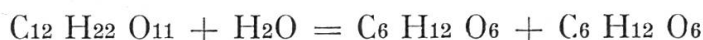
Dans chaque éprouvette on introduit au commencement de l'expérience le papier picrosodique (sans toucher le liquide intérieur) retenu par un bouchon de liège fermant soigneusement l'éprouvette.

En regardant les différentes éprouvettes au bout de 12, 24, 48 h. (jusqu'à 7 jours) je n'ai pas pu constater de coloration rouge dans les papiers picrosodiques ; donc, dans les tubercules essayés par moi je n'ai pas constaté le dégagement de gaz cyanhydrique. J'en déduisis qu'il n'y a pas d'émulsine dans le souchet comestible.

## SUCRASE

Le saccharose est un disaccharide (d-fructose<sup>1</sup> + d-glucose) fructoside dextrogyre  $(\alpha)_D = +66^{\circ},5$ . Il n'est pas réducteur et, par hydrolyse, donne naissance à des poids égaux de glucose et de lévulose ; mais comme le pouvoir lévogyre du lévulose est plus grand que celui du glucose, il résulte que la solution du sucre interverti est lévogyre.

BERTHELOT fut le premier qui isola (1860) de l'extrait de levure par précipitation au moyen de l'alcool, le ferment auquel il donna le nom d'invertine et qui catalyse l'hydrolyse du saccharose.



L'invertase est le ferment spécifique des fructosides.

On trouve la sucrase dans tous les organes végétaux : racine, tige, feuille, bourgeon, fleur, pollen, fruit, etc., dans la plupart des levures du type *cerevisae* ou *ellipsoideus* (le *Schizosaccharomyces octosporus* et le *Sach. apiculatus* n'en contiennent pas), et dans grand nombre de microbes.

En général on trouve l'invertase là où il y a du saccharose en voie d'être utilisé.

<sup>1</sup> D'après Fischer, la fructose lévogyre, c'est la l-fructose, parce qu'elle dérive de l'alcool dextrogyre, la mannite.

Les végétaux, comme les animaux, ne peuvent pas assimiler directement le saccharose: ils doivent le transformer d'abord en glucose et en lévulose.

On obtient facilement l'invertase en partant du mycelium d'*Aspergillus niger* en le broyant avec le sable et un peu d'eau dans un mortier; on ajoute de l'eau pour obtenir un suc épais; on laisse en macération dans un verre cylindrique et on ajoute quelques gouttes de  $\text{CCl}_3\text{H}$  qui, en même temps qu'il empêche l'infection, facilite (en diminuant la tension superficielle) l'exosmose des protides vecteurs du ferment. Au bout de 24 à 48 heures de macération, on filtre à travers une toile humide, on ajoute à l'extrait 3 à 4 fois son volume d'alcool à  $95^\circ$  et quelques gouttes d'éther sulfurique pour faciliter la formation du précipité; on décante le liquide surnageant et on recueille le précipité dans un petit entonnoir au moyen d'une spatule, on le met sur une plaque de verre et on le laisse sécher.

WILLSTÆTTER et RACKE<sup>1</sup>, en se basant sur un intéressant travail de MICHAELIS et EHRENREICH, ont institué une nouvelle technique qui permet d'obtenir l'invertine et aussi d'autres ferments (maltase, peroxydase, lipase, émulsine, catalase, etc.) très purs et avec une activité enzymatique vraiment remarquable. (Méthode d'absorption élective).

On peut mettre en évidence l'invertase dans un liquide, en faisant agir celui-ci sur une solution de saccharose à 20% en opérant à l'étuve à  $56^\circ$  (optimum de température) et en donnant au liquide le pH 4,4-4,6.

On examine, au bout d'un certain temps, le changement du pouvoir rotatoire, au moyen du polarimètre; on peut aussi examiner son action sur la solution de FEHLING; si celle-ci est réduite, ce serait une preuve de l'hydrolyse du saccharose (réserve faite du pouvoir réducteur propre au liquide initial).

Le liquide obtenu, à partir d'une dispersion aqueuse de *C. esculentus*, déféquée à l'acétate de Pb, filtrée, puis précipitée par le  $\text{CO}_2$   $\text{Na}_2$  pour éliminer l'excès de Pb., filtrée une seconde fois, ne réduit pas le Fehling, ce qui veut dire que dans les tubercules secs, il n'y a pas de sucre réducteur.

<sup>1</sup> R. FABRE. « Les méthodes actuelles de purification des enzymes par absorption » B. de la Soc. de Ch. Biol., 1923, p. 432-48.

M. SERRALLACH conclut aussi, dans sa thèse, que le seul sucre en réserve dans le souchet, est le saccharose. Il démontre la présence de l'invertase par l'apparition au bout de quelques heures de sucre réducteur, dans l'extrait de souchet comestible.

La question de l'augmentation de la saveur douce des souchets au cours de leur dessèchement a été examinée par M. SERRALLACH. Des échantillons âgés de plusieurs mois, après leur récolte, ne possédaient aucun sucre réducteur. L'auteur en conclut qu'il y a eu condensation des hexoses en saccharose au cours du dessèchement.

J'ai fait le 31 octobre l'essai de quelques échantillons de *C. esculentus* qui avaient seulement 5 ou 6 jours depuis leur récolte, sans y trouver de glucose.

D'autre part, s'il est vrai que l'invertase n'a pas encore<sup>1</sup> synthétisé in vitro le saccharose, il n'y a pas de doute que, in vivo, c'est l'invertase qui fait l'union des deux monosaccharides pour former le fructoside. Le cas d'augmentation de la saveur sucrée du souchet comestible peut aussi s'expliquer en supposant qu'une partie de l'amidon est saccharifié.

J'ai essayé de voir s'il se forme du glucose dans les tubercules en germination, ce qui nous révélerait l'existence de l'invertase.

On met quelques tubercules (désinfectés avec  $H_2O_2$ ) dans le coton humecté avec de l'eau stérile et le tout dans une assiette à l'étuve à 25°. Au bout de 24 heures les tubercules sont déjà un peu gonflés ; je prépare alors un extrait aqueux, et je défèque avec l'acétate de plomb, etc. ; dans le liquide filtré je trouve le glucose, par réduction du Fehling, une coloration bleue avec nitropropionate de soude (réaction de Rimini) et coloration rouge avec l'acide picrique (réaction de Braun).

J'ai voulu aussi chercher la présence du saccharose dans les tubercules par le procédé biochimique de Bourquelot, et pour cela j'ai préparé avec les tubercules un extrait aqueux puis je l'ai distribué dans deux tubes au thermostat à 45° :

#### *Tubes*

A. 10 c. c. d'extrait aqueux bouilli pour détruire l'invertase.

B. 10 c. c. d'extrait aqueux bouilli + invertase d'*Aspergillus niger* (active et sans action sur le Fehling)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Je ne crois pas invraisemblable qu'avec l'invertase on arrivera in vitro à la synthèse du saccharose puisque la synthèse chimique a déjà été faite par Pictet et Vogel (C. R. Ac. Sc. T. 186. p-724. 1928).

Résultats :

Tubes	Sucre réducteur au bout d'une heure
A.	0.049 gr. %.
B.	0.266 gr. %

Le résultat du tube B, comparé avec le tube A, nous révèle la présence du saccharose.

#### SACCHAROGÈNEAMYLASE

L'amylase fut découverte par KIRCHOFF (1814) ; il croyait ce ferment identique au gluten.

En 1833 PAYEN et PERSOZ étudièrent le ferment qui hydrolyse l'amidon ; dans cette hydrolyse on peut observer les états suivants :

Amidon  $\rightsquigarrow$  Amidon soluble  $\rightsquigarrow$  Erytrodextrine  $\rightsquigarrow$   
 Dextrine  $\rightsquigarrow$  Maltose.

L'amidon et l'amidon soluble se colorent en bleu avec l'iode ; l'érytrodextrine en rouge pourpre, la dextrine ne se colore pas et la maltose est cristallisable et réduit le Fehling.

L'action de l'amylase ne dépasse pas, in vitro, le stade du maltose ; celui-ci est sans doute dédoublé, in vivo, en deux molécules de glucose, par l'action de la maltase.

BOURQUELOT (1877) fut le premier à examiner l'opinion que dans le malt il y avait deux ou plusieurs ferments.

POTTEVIN vit en effet qu'en chauffant la *diastase* à 80°, on conserve seulement la fonction amylolytique, puisque la fonction saccharifiante disparaît ; on croyait alors que la *diastase ordinaire* était formée par l'amylase qui transforme l'amidon en dextrine et par la dextrinase qui transforme la dextrine en maltose.

Actuellement grâce aux travaux de M. Erik OHLSSON<sup>2</sup> on sait qu'il y a deux ferments :

La *Dextrinogénase* ou *Dextrinogénamylase* qui en agissant sur l'amidon donne la dextrine, et la *Saccharogénase* ou *Saccharogénéamylase* (qui ne correspond pas avec le ferment qu'on a appelé la dextrinase) et qui transforme directement l'amidon en sucre.

M. SERRALLACH, dans son travail, (sans établir ces distinctions) conclut à l'existence de l'amylase dans le souchet comestible,

<sup>2</sup> C. R. du Laboratoire de Carlsberg, 16me vol., No 7, Copenhague, 1926.

parce qu'en faisant agir l'extrait aqueux du souchet, sur l'empois d'amidon, il voit se produire du sucre réducteur ; ce procédé est, à mon avis, peu pratique dans ce cas, parce que dans l'extrait aqueux du souchet, il y a du saccharose et de la sucrase, et on sait qu'il se produit du sucre réducteur par l'action de la sucrase, ou invertase, sur le saccharose.

J'ai appliqué la méthode d'AMBARD<sup>1</sup> dont voici le principe :

AMBARD démontra que lorsqu'on ajoute de l'amidon cru à un liquide contenant de l'amylase, et qu'on agite le tout énergiquement, le grain d'amidon absorbe instantanément la presque totalité du ferment présent ; par centrifugation, on sépare l'amidon cru chargé de l'amylase ; le complexe, amidon cru-amylase, présente une stabilité telle, que des lavages répétés ne réussissent pas à détacher le ferment du grain d'amidon ; la défixation a lieu seulement lorsqu'on met le complexe amidon cru-amylase en présence d'empois d'amidon (de glycogène ou de dextrine) sur lequel se fixe le ferment hydrolysant l'amidon.

Cette hydrolyse peut être suivie en utilisant la solution de Lugol et surtout en employant le Fehling qui se réduit par la maltose.

La technique que j'ai employée est la suivante : on broie 5 gr. de souchets (24 heures dans le coton humide) avec 20 c. c. de solution de ClNa à 2% et au bout de 15 minutes, on filtre à travers laine de verre.

On met dans un petit flacon d'Erlenmeyer 0,5 gr. d'amidon cru de pomme de terre et 15 c.c. de la solution de ClNa à 2‰ et après, on ajoute 15 c. c. du liquide préparé avec les souchets, on agite le flacon d'Erlenmeyer énergiquement pendant cinq minutes et la suspension est versée dans les tubes d'un appareil à centrifuger, capable de faire 3000 tours à la minute ; au bout de cinq minutes la centrifugation est opérée, on observe au bas des tubes à centrifuger le culot d'amidon, par dessus, le liquide surnageant et à la surface flotte une couche de graisse ; on décante la graisse et le liquide surnageant, et on lave bien le culot d'amidon, en y ajoutant une solution de NaCl à 2‰, on centrifuge pour la seconde fois et on décante le liquide salin.

<sup>1</sup> L. AMBARD : « Fixation de l'amylase par l'amidon cru et l'empois d'amidon ». C. R. de la Soc. de Biol. T. 83, p. 1458 (1920) et T. 84, p. 230 (1921).

Id. « Sur l'amylase, son dosage, mécanisme de la digestion amylolytique » B. de la Soc. de Ch. Biol. 1921, p. 51.

J'ai opéré la défixation avec l'empois d'amidon de pomme de terre à 3% ; on disperse le complexe amidon cru-amylase dans 20 cc. de solution de NaCl à 2 ‰, on ajoute ensuite 10 cc. d'empois à 3%, on agite énergiquement, on ajoute quelques gouttes de toluol et on introduit le flacon où se fait la défixation dans l'étuve réglée à 37°.

Après deux heures, je cherche la présence du sucre réducteur en examinant son action sur la solution de Fehling diluée à 1/10.

La réduction de Fehling me révéla la présence du maltose, ce qui permet de conclure à l'existence de la saccharogéneamylase d'après la nouvelle nomenclature d'OHLSSON.

### CONCLUSIONS

Je crois avoir démontré par ce modeste travail, l'existence dans les tubercules de *C. esculentus* L. des ferments suivants :

Catalase, Philothion, Péroxydase, Pseudopéroxydase (ferment nouveau), Lipase, Glycérophosphatase, Invertase et Saccharogéneamylase.

L'étude biochimique des catalyseurs emmagasinés dans les précieux tubercules est encore incomplète.

Il serait intéressant de faire l'examen de la phytase, lécithinase, uréase, et des ferments protéolytiques ; il serait aussi fort intéressant d'essayer la richesse vitaminique du souchet, surtout en facteur liposoluble.

Le souchet comestible ne jouit pas de toute l'estime qu'il mérite, cette humble herbe est sûrement un des cas les plus étonnants de l'anabolisme végétal.

Il serait intéressant d'étudier le mode de migration des réserves amylacées sucrées et graisseuses (des feuilles aux tubercules), la distribution des ferments dans tout le végétal, spécialement la pseudo-péroxydase, l'évolution des ferments pendant la germination du tubercule et pendant la formation des nouveaux tubercules.

Le souchet comestible, par sa richesse en ferments, en glucides, et lipides, tous vecteurs d'énergie, par sa richesse en phosphates, peut-être aussi en phytine et en facteurs vitaminiques liposolubles, par la carence absolue de substances préjudiciables à la santé, doit être considéré comme un aliment de tout premier ordre.