

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 35 (1943)

Artikel: Contribution à l'étude de l'hypovitaminose B1 chez une levure
Autor: Dalphin, Charlotte
Kapitel: Métabolisme exogène
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099460>

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>

Le pourcentage d'azote obtenu, on peut calculer la teneur en protides de la substance en supposant que les protides contiennent 16% d'azote.

MÉTABOLISME EXOGÈNE

1. Étude de la croissance de la levure en présence et en absence de vitamine B₁

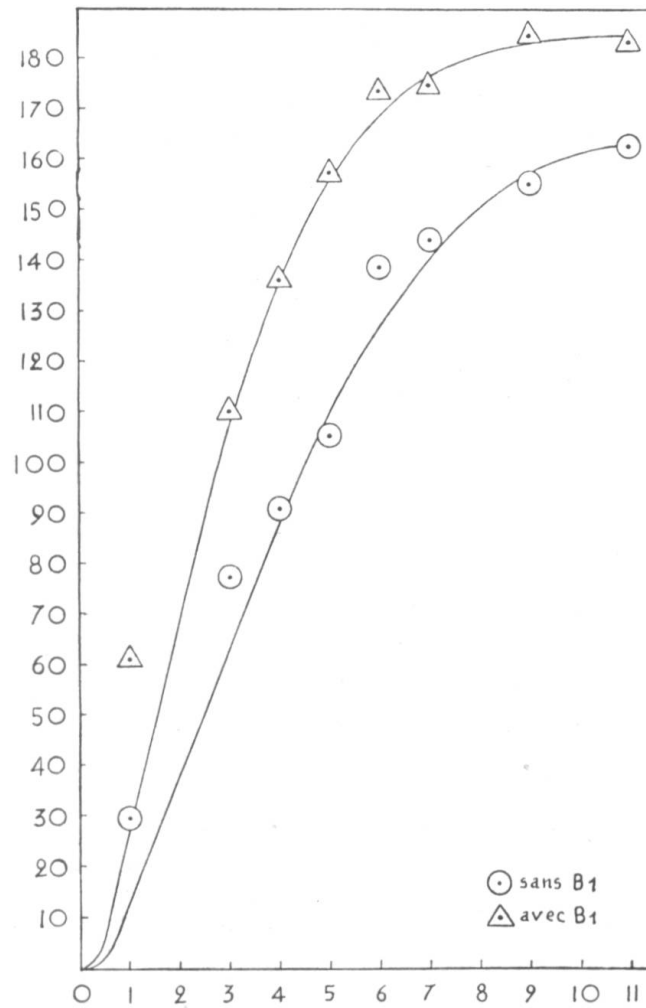
Pour connaître l'effet de la vitamine B₁ sur la croissance de la levure, nous avons déterminé son poids sec pendant un certain temps de culture. Nous avons préparé pour cette expérience un lot de flacons cylindriques de 100 cc contenant chacun 75 cc de liquide nutritif. Une partie des flacons contenait de la vitamine, l'autre en était exempt. Nous avonsensemencé chacun des milieux de culture avec une très petite quantité de levures, rigoureusement égales¹. Cette expérience a duré 18 jours, mais seuls les résultats obtenus jusqu'au 11^{me} jour valent la peine d'être relatés. Voici pourquoi, à ce moment, le glucose est totalement consommé, la levure ne se développe plus en surface, elle commence sa vie en anaréobiose et comme l'a déjà montré Duclaux elle n'augmente presque plus de poids et présente même certaines irrégularités. C'est pourquoi, nous ne tenons pas compte des résultats obtenus après 11 jours de culture.

I. — Étude de la croissance en fonction du temps.

Nos résultats sont consignés dans le tableau et le graphique suivants :

¹ Pour les conditions de culture et la signification de l'inoculation voir : partie analytique, chap. I.

Age des cultures en jours :	mg poids sec	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
1	30,0	61,2
3	77,3	110,2
4	91,2	136,2
5	105,7	157,6
6	138,9	173,9
7	144,3	175,0
9	155,6	185,0
11	163,0	183,3



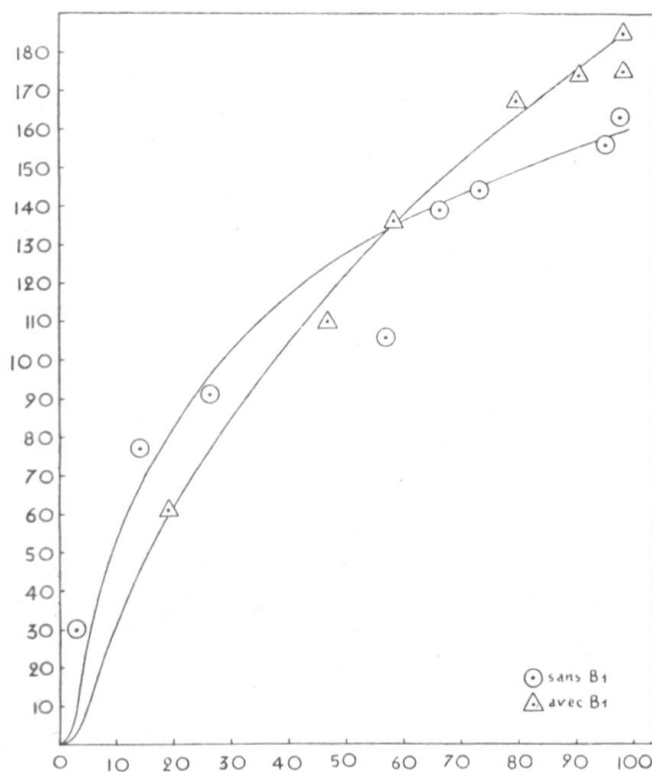
GRAPHIQUE N° 4

Croissance de la levure en fonction du temps.
 Axe des abscisses : temps de culture en jours.
 Axe des ordonnées : poids sec, mg/75 cc.

Le graphique ci-dessus indiquant l'augmentation du poids, c'est-à-dire la croissance de la levure, en fonction du temps, démontre que la levure peut se passer de facteur de croissance. Toutefois, la vitamine B₁ exerce une action favorable sur la multiplication des cellules. Dès le premier jour, l'effet s'accuse par une différence de poids de 30 mg. Cette différence se maintient presque constante pendant toute la durée de l'expérience.

II. — Etude de la croissance en fonction du glucose consommé.

En même temps que la détermination du poids, nous avons dosé le glucose restant. Ces résultats nous permettent d'exprimer par le graphique suivant l'évolution du poids sec en fonction du sucre consommé exprimé en % du glucose offert.



GRAPHIQUE N° 5

Croissance de la levure en fonction du glucose consommé.
 Axe des abscisses : glucose consommé p. cent. du glucose offert.
 Axe des ordonnées : poids sec, mg/75 cc.

En observant ce graphique, nous constatons que l'évolution du poids sec en fonction du glucose consommé peut être divisée en deux parties. La première partie se place pendant la consommation du 60% environ du glucose offert. Pendant cette période, la levure hypovitaminée a un poids supérieur à celui de la levure disposant de vitamine B₁. La deuxième partie qui représente la consommation des derniers 40% du glucose offert montre une élévation de poids de la levure disposant de vitamine qui dépasse celui de la levure hypovitaminée.

Ces faits nous permettent de dire que durant la première partie du phénomène, la levure hypovitaminée utilise une plus grande quantité du glucose consommé à des fins plastiques et ceci plus que ne le fait la levure cultivée en présence de vitamine B₁.

En réalité, la signification de ces propositions est la suivante. L'obtention d'un poids sec plus élevé pour une même quantité de glucose consommé correspond à une assimilation suivie d'une rétention plus grande de carbone. Inversement, un poids sec inférieur pour une même quantité de sucre consommé, correspond à une assimilation suivie d'une exportation plus importante de carbone. Cette dernière peut être réalisée par la production d'alcool, par le CO₂ de la respiration et de la fermentation et par l'élaboration d'autres substances provenant du métabolisme exogène.

Seules les expériences pourraient certifier que la levure hypovitaminée respire pendant le début de la culture moins intensément que la levure saine et que ce régime s'inverse ensuite.

En résumé, on peut dire que la vitamine B₁ a une action stimulante sur le développement de la levure ou plutôt, elle augmente la vitesse initiale de multiplication, tandis que l'utilisation du glucose (quantité de levures formée par rapport au glucose consommé) n'est influencée par la présence de vitamine que vers la fin de l'expérience, c'est-à-dire, la quantité absolue de levure est plus grande dans la culture en présence de vitamines B₁ que dans celle privée de vitamine B₁.

2. Consommation du glucose en présence et en absence de vitamine B₁

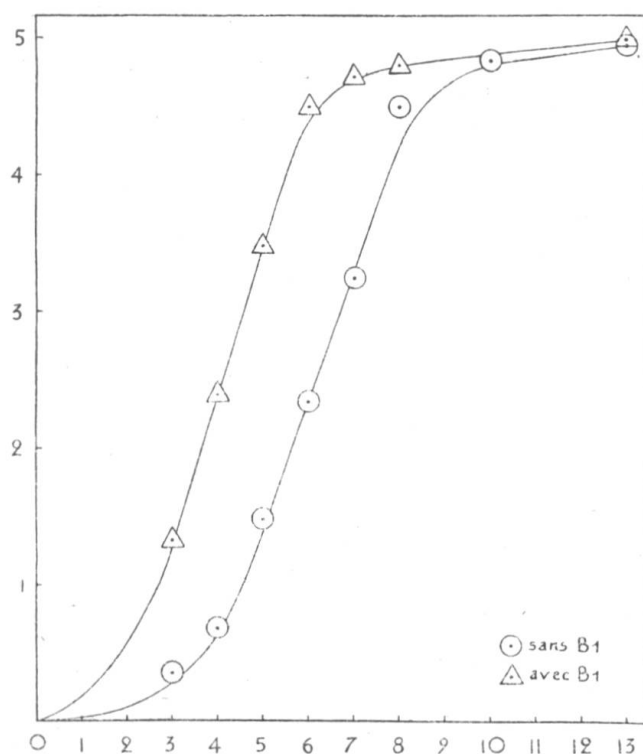
L'étude de la consommation du glucose nous fournit les résultats suivants :

Age des cultures en jours	Glucose	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
	Glucose offert : 4,95 g	Glucose offert : 4,99 g
3	0,370	1,40
4	0,680	2,40
5	1,48	3,47
6	2,35	4,53
7	3,26	4,72
8	4,49	4,79
10	4,82	4,82
13	4,95	4,99

Les valeurs mentionnées dans le tableau ci-dessus se sont répétées au cours de nombreuses expériences. Nous pouvons donc tirer de ce cas particulier des conclusions générales sur l'effet de la vitamine dans la consommation du glucose. Pour mieux saisir ce phénomène, nous nous reportons au graphique N° 6.

En superposant les deux courbes de ce graphique, on constate qu'elles sont absolument identiques. Donc la seule différence qui existe ici, c'est un retard de 2 jours dans le début de la consommation du glucose de la levure hypovitaminée. En étudiant la croissance de la levure, nous avons vu que la levure hypovitaminée se multiplie plus lentement que la levure saine. L'existence de ce décalage dans la consommation du glucose est donc logique, elle résulte du retard de la croissance de la levure.

En conclusion, il faut jusqu'ici seulement considérer la vitamine B₁ comme un accélérateur de la croissance puisque son action ne se fait sentir ni sur la quantité de glucose consommé, ni sur sa vitesse de consommation. Ainsi il y a une période d'induction qui semble pénible pour la levure hypovitaminée, mais dès que cette période est surmontée, elle se comporte normalement et consomme la même quantité de glucose que la levure saine.



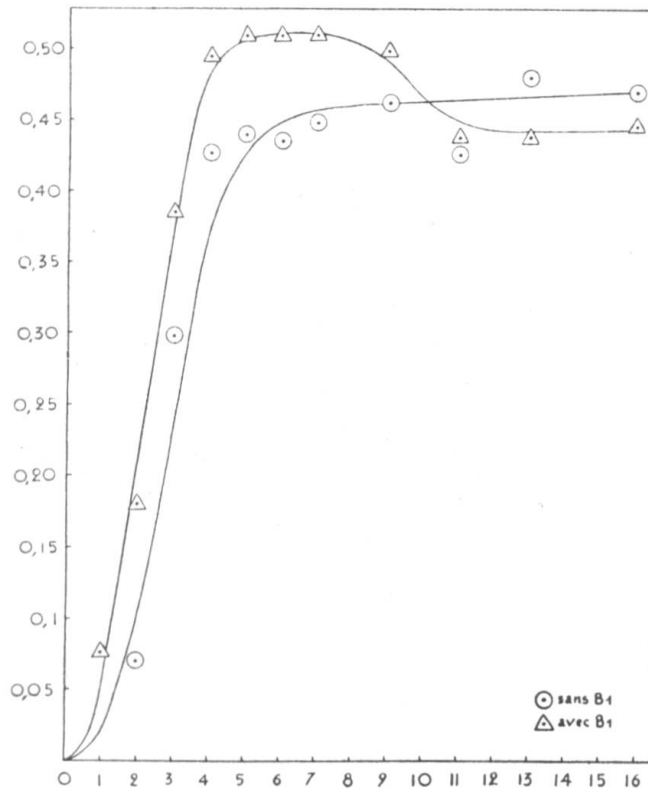
GRAPHIQUE N° 6

Consommation du glucose en fonction du temps.
Axe des abscisses : temps de culture en jours.
Axe des ordonnées : g glucose consommé p. 100 cc.

3. Consommation du phosphore

Nos dosages de phosphore dans le liquide de culture nous ont apporté les résultats que nous exprimons dans le tableau et le graphique suivants :

Age des cultures en jours	mg phosphore consommé	
	Cultures sans B ₁ Phosphore offert : 1,11 mg	Cultures avec B ₁ Phosphore offert : 1,11 mg
1	0,0	0,076
2	0,069	0,179
3	0,298	0,385
4	0,426	0,494
5	0,439	0,509
6	0,435	0,509
7	0,448	0,511
9	0,461	0,498
11	0,425	0,437
13	0,480	0,438
16	0,469	0,447



GRAPHIQUE N° 7

Consommation du phosphore en fonction du temps.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : mg phosphore consommé p. 100 cc.

L'examen de ce graphique nous révèle que la vitamine B₁ provoque une légère augmentation de la consommation du phosphore. Ici encore, cette stimulation est la conséquence directe d'une croissance plus rapide en présence de vitamine B₁.

Il existe cependant une différence entre les deux cultures. En présence de vitamine B₁, le phosphore consommé diminue après 9 jours de cultures, ce qui revient à dire qu'une petite quantité de phosphore (environ 10%) sort des cellules de levure et repasse dans le milieu de culture. Cette observation nous fait croire que la vitamine B₁ intervient dans le phénomène de migration négative du phosphore.

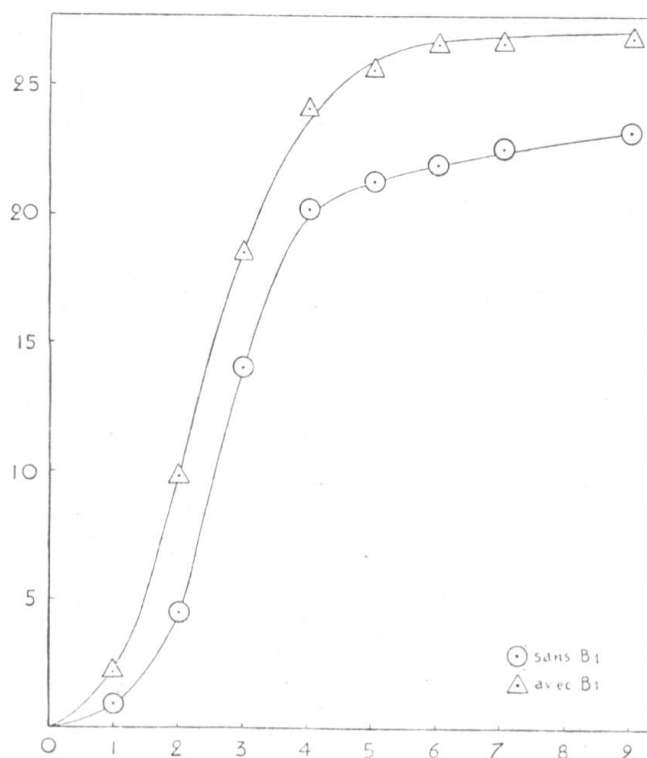
En résumé, nous ne pouvons pas déduire de ces expériences si la vitamine B₁ est nécessaire ou non au métabolisme du phosphore.

4. Consommation de l'azote ammoniacal

La levure dispose de deux sources d'azote : l'azote nitrique et l'azote ammoniacal. La source de l'azote nitrique étant complètement négligée par la levure¹, la seule source qui subsiste est donc l'azote ammoniacal. Les dosages que nous avons faits dans nos cultures en présence et en absence de vitamine B₁ nous ont fourni les données suivantes que nous indiquons dans le tableau et le graphique suivants :

Age des cultures en jours	mg d'azote ammoniacal consommé	
	Cultures sans B ₁ Azote offert : 35,28 mg	Cultures avec B ₁ Azote offert : 35,28 mg
1	0,84	2,24
2	4,48	9,80
3	14,0	18,48
4	20,16	24,08
5	21,28	25,48
6	21,84	26,60
7	22,44	26,60
9	23,24	26,88
11	30,24	28,28

¹ Voir test de détermination de la levure.



GRAPHIQUE N° 8

Consommation de l'azote ammoniacal en fonction du temps.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : mg azote ammoniacal consommé p. 100 cc.

Ces courbes montrent que la présence de vitamine B₁ augmente la consommation de l'azote ammoniacal. Ce fait est principalement attribuable à une croissance plus rapide de la levure en présence de vitamine B₁, puisqu'une consommation plus forte en azote ammoniacal correspond à un poids sec plus élevé. Pendant les 4 premiers jours de culture, la consommation de l'azote ammoniacal s'opère rapidement. Cette période est suivie d'un ralentissement qui se prolonge jusqu'à 11 jours pour la levure cultivée en absence de vitamine B₁ et jusqu'à 16 jours pour la levure disposant de vitamine. Les deux courbes ont la même allure, les deux phénomènes en présence et en absence de vitamine sont donc semblables.

En résumé, la vitamine n'a pas une action directe sur la consommation de l'azote ammoniacal.

La discussion de ces résultats sera reprise au cours de l'étude du métabolisme protidique.

5. Consommation de l'azote nitrique

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la consommation de l'azote ammoniacal s'effectue normalement. Les résultats que nous exposons dans ce chapitre nous permettent d'assurer que la levure n'utilise en aucune façon l'azote nitrique, fait que nous avons déjà mis en évidence lors des tests de détermination. En effet, des dosages faits de 1 à 12 jours dans des cultures en présence et en absence de vitamine B₁ ne présentent pas de changements.

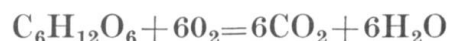
Age des cultures en jours	mg d'azote nitrique présent	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
0	35,64	35,03
1	35,64	35,27
2	35,42	35,49
4	35,59	35,99
7	35,33	35,62
12	35,20	35,48

Les nitrates n'étant pas assimilés, leur réduction en nitrite est impossible. Des dosages de nitrite faits selon la méthode de P. GRIESS dans ces mêmes cultures donnent des résultats négatifs et nous apportent ainsi une preuve de la non assimilation des nitrates.

En conclusion, la levure n'assimile pas les nitrates et sa seule source d'azote est l'azote ammoniacal.

6. Production d'alcool

Au cours de nos recherches, nous avons constaté, comme l'avait déjà rapporté DUCLAUX, que sous forme de *voile*, notre levure est un agent énergétique de combustion. Elle respire une partie du glucose qu'elle consomme de la façon suivante :



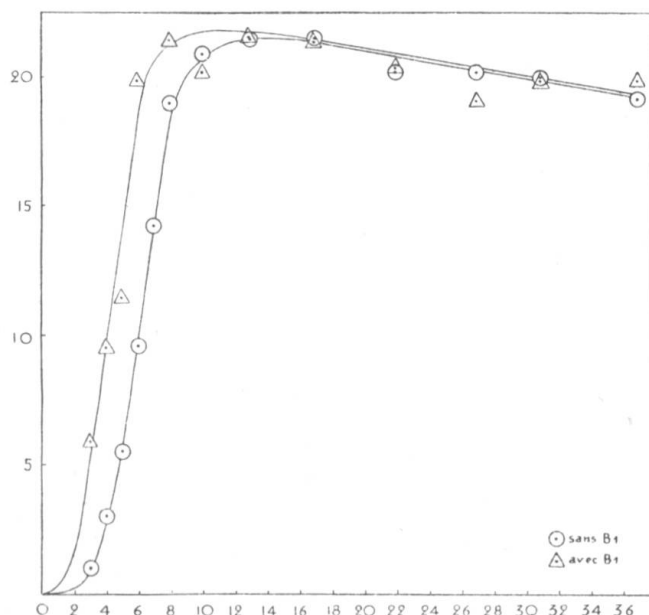
Mais ce n'est pas là son unique fonction car lorsqu'elle est immergée, elle commence une véritable fermentation qui se traduit par la formation d'alcool et un faible dégagement gazeux. Cette fermentation alcoolique s'effectue selon le schéma classique suivant :



De ces deux phénomènes, c'est la fermentation qui retient ici notre intérêt et nous représentons dans le tableau suivant les résultats de nos dosages d'alcool.

Age des cultures en jours :	Alcool g %	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
3	0,098	0,587
4	0,299	0,949
5	0,541	1,14
6	0,966	1,97
7	1,43	2,14
8	1,89	2,01
10	2,09	2,15
13	2,14	2,12
17	2,12	2,12
22	2,02	2,06
27	2,01	1,91
31	2,00	1,99
37	1,92	1,99
56	1,43	1,39

A l'aide du graphique suivant, nous comparons ces deux productions.



GRAPHIQUE N° 9

Formation d'alcool.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : g alcool formé p. 100 cc.

Une fois encore, nous voyons que la production d'alcool semble être activée par la vitamine B₁. Mais, si nous superposons les deux courbes, nous voyons qu'elles sont en tous points semblables et que le décalage est de nouveau provoqué par un retard de 2 jours de la levure hypovitaminée. De plus, pour les deux levures, nous voyons qu'elles assimilent une partie de l'alcool. Le retard dans la formation s'explique logiquement ; si la culture sans vitamine se développe moins rapidement, elle consomme moins vite le glucose et donc produira moins vite de l'alcool ceci dans un temps donné et comparativement à la levure saine.

La quantité finale d'alcool produite est la même pour les deux levures. A partir de chaque dosage de glucose, on peut calculer la quantité théorique d'alcool formé d'après

l'équation classique de la fermentation alcoolique : 1 molécule de glucose donne 2 molécules d'alcool. A côté de ces valeurs théoriques, nous avons les valeurs trouvées et nous pouvons les exprimer en % de l'alcool théorique.

Le tableau suivant donne ces valeurs.

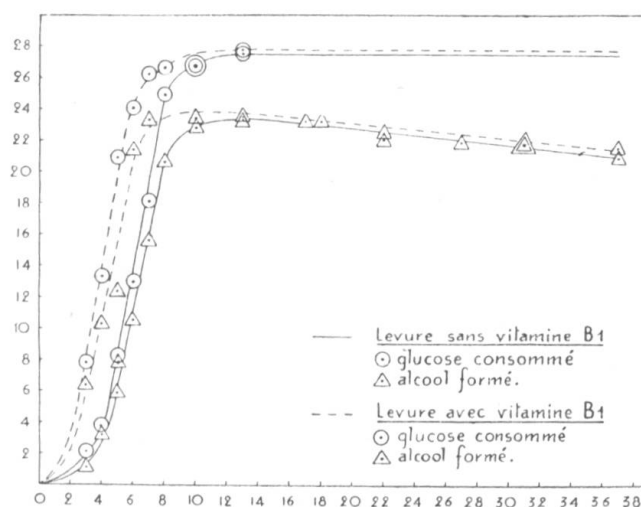
Age des cultures en jours	Alcool formé % de la quantité théorique	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
3	* 52,0 %	82,5 %
4	86,0 »	78,0 »
5	* 71,5 »	* 64,5 »
6	80,0 »	88,0 »
7	86,0 »	89,0 »
8	82,5 »	86,0 »
10	85,0 »	86,0 »
13	83,0 »	82,5 »

En supprimant les valeurs aberrantes, c'est-à-dire les valeurs marquées d'un astérisque, on a les pourcentages moyens suivants :

$$\text{sans vitamine B}_1 = 84\%$$

$$\text{avec vitamine B}_1 = 84\%$$

Ainsi, la production d'alcool dans les deux cas est égale et inférieure au rendement théorique total. Pour illustrer ce faible rendement, le graphique ci-dessous compare la consommation du glucose à la production de l'alcool. Les valeurs du graphique sont exprimées en millimolécules et pour que la comparaison soit plus facile, nous avons calculé le glucose consommé en millimolécules et l'alcool formé en millimolécules /₂.



GRAPHIQUE N° 10

Rapport entre le glucose consommé et l'alcool formé.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : glucose consommé mMol, et alcool formé mMol/2.

Une partie du glucose est de ce fait utilisé pour autre chose. On peut prévoir qu'une petite quantité est utilisée dans l'élaboration des tissus de la cellule, une autre partie sera convertie en produits secondaires de fermentation, mais sans aucun doute la plus grande partie de ces 16% non utilisés dans la fermentation alcoolique sont brûlés au cours de la respiration.

Nous voulons essayer de donner ici quelques éclaircissements sur ces résultats un peu inattendus. On sait que les derniers stades de la transformation du glucose en alcool sont les suivants: glucose \rightarrow acide pyruvique $\xrightarrow{\text{(carboxylase)}}$ aldéhyde acétique \rightarrow alcool.

La carboxylase est le catalyseur qui est responsable de la transformation de l'acide pyruvique en aldéhyde acétique. Cette carboxylase est composée d'une apocarboxylase et d'une cocarboxylase. Chez la levure qui dispose de vitamine B₁, la cocarboxylase peut se former en quantité suffisante et la transformation s'opère sans difficulté. Cependant, chez

la levure hypovitaminée qui présente les signes cliniques d'une hypovitaminose B₁, c'est-à-dire une accumulation de l'acide pyruvique (nous le prouverons dans le chapitre suivant) nous devons supposer que cette cocarboxylase fait défaut. Comment expliquer que la formation de l'alcool soit identique dans les deux cas ?

On est alors obligé d'admettre que la levure synthétise la cocarboxylase, lentement peut-être pendant la période d'induction, puis rapidement ensuite puisque la vitesse de production d'alcool est la même chez les deux levures.

En résumé, on peut dire qu'une addition de vitamine B₁ au milieu de la culture provoque un départ plus rapide de la formation de l'alcool, mais n'a aucune influence ni sur sa vitesse de formation, ni sur sa teneur maximum, ni sur son utilisation ultérieure.

7. Formation de l'acide pyruvique

L'étude de la formation et de l'accumulation de l'acide pyruvique nous fournit une preuve tangible de l'état d'hypovitaminose B₁ de notre levure.

On sait en effet qu'un des symptômes de l'avitaminose B₁ se manifeste par une teneur en acide pyruvique plus élevée que la normale.

Le tableau suivant nous permet de voir que d'une façon générale et sans exception, la culture de la levure sans vitamine B₁ présente une certaine accumulation d'acide pyruvique.

Notons également que quoique cultivées strictement dans les mêmes conditions, ces levures ont des réactions différentes. En effet, les teneurs maxima en acide pyruvique sont non seulement très différentes pour chaque culture mais encore produites à des moments différents.

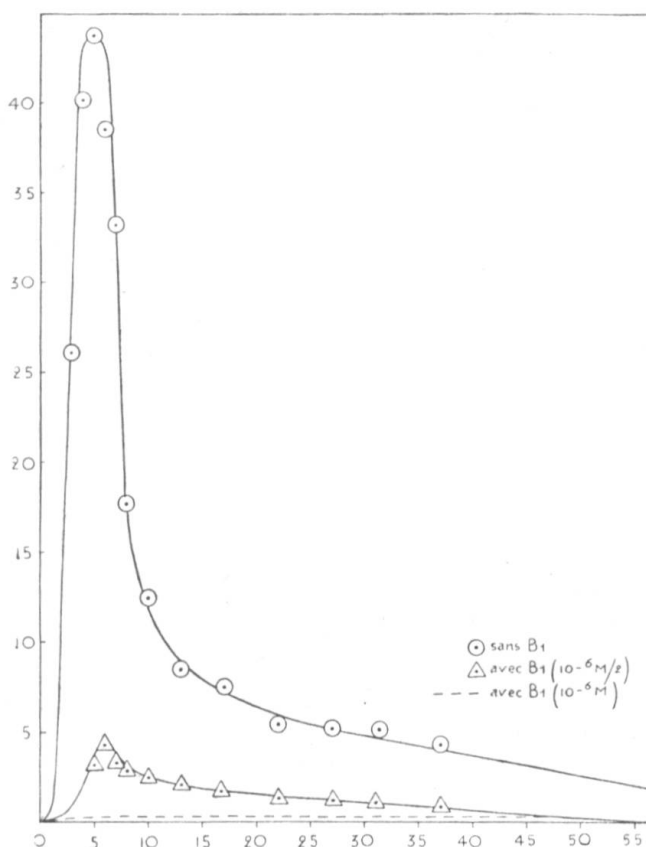
Voici nos résultats :

Age des cultures en heures	mg acide pyruvique % cc de milieu de culture						
	Exp. N° 1 sans B ₁	Exp. N° 2 sans B ₁	Exp. N° 3 sans B ₁	Exp. N° 4 sans B ₁	Exp. N° 5		Exp. N° 6 avec 10 ⁻⁶ M B ₁
					Sans B ₁	avec 0,5.10 ⁻⁶ M B ₁	
38 h. 30	—	—	—	8,34	—	—	—
40 h.	9,63	11,4	—	—	—	—	—
46 h.	—	—	—	14,40	—	—	—
63 h.	—	—	—	35,9	—	—	—
67 h. 30	52,7	54,9	—	—	—	—	—
71 h. 15	—	—	—	42,4	—	—	—
72 h. 30	—	—	27,4	—	26,4	0	0
86 h.	75,2	74,1	—	—	—	—	—
87 h.	—	—	—	49,1	—	—	—
94 h.	85,7	82,5	—	—	—	—	—
96 h.	—	—	52,6	47,4	41,6	0	0
97 h.	90,5	86,0	—	—	—	—	—
110 h.	—	—	—	41,5	—	—	—
112 h.	90,5	88,9	—	—	43,7	3,2	—
121 h.	—	—	101,5	—	—	—	0
122 h.	86,9	80,6	—	—	—	—	—
136 h.	72,9	69,8	—	—	—	—	—
139 h.	—	—	—	26,6	—	—	—
144 h.	—	—	132,1	—	38,5	4,3	0
146 h.	67,6	61,5	—	—	—	—	—
152 h.	—	—	128,5	—	—	—	—
159 h.	—	—	—	12,9	—	—	—
161 h.	45,1	48,6	—	—	—	—	—
167 h.	—	—	—	10,7	—	—	—
168 h.	—	—	—	—	33,2	3,3	—
169 h.	35,4	34,7	—	—	—	—	—
183 h.	—	—	—	7,15	—	—	—
185 h.	28,6	27,3	—	—	—	—	—
192 h.	—	—	—	—	17,7	2,8	—
193 h.	28,0	27,6	—	—	—	—	—
197 h.	—	—	44,0	—	—	—	0
207 h.	—	—	—	5,29	—	—	—
216 h.	27,2	26,4	—	—	—	—	—
240 h.	—	—	—	—	12,5	2,5	—
256 h.	24,8	24,3	—	—	—	—	—
312 h.	—	—	—	—	8,5	2,1	—
408 h.	—	—	—	—	7,5	1,7	—
433 h.	—	—	5,8	—	—	—	0
528 h.	—	—	—	—	5,4	1,3	—
648 h.	—	—	—	—	5,2	1,2	—
744 h.	—	—	—	—	5,1	1,1	—
888 h.	—	—	—	—	4,3	0,8	—

Par le graphique suivant représentant l'expérience N° 5, nous voyons d'une façon évidente que privée de vitamine B₁, la culture accumule de l'acide pyruvique. Cette accumulation est réduite au onzième environ pour une culture recevant 0,5.10⁻⁶M et complètement enrayée pour une culture contenant 10⁻⁶M de vitamine B₁. Ces constatations nous amènent à exprimer d'une façon simple un état d'hypovitaminose, en créant un rapport appelé : indice partiel d'hypovitaminose. Cet indice sera le rapport de l'acide pyruvique apparu sur le glucose consommé. L'état sain s'exprimera par le rapport :

$$\frac{\text{Acide pyruvique}}{\text{glucose consommé}} = 0$$

alors que l'état d'hypovitaminose sera caractérisé par un indice plus grand que zéro et croissant avec l'augmentation de la maladie.



GRAPHIQUE N° 11

Formation d'acide pyruvique en fonction du temps.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : mg acide pyruvique formé p. 100 cc.

Cherchons maintenant à définir quel est le rôle de l'acide pyruvique au cours de la fermentation alcoolique.

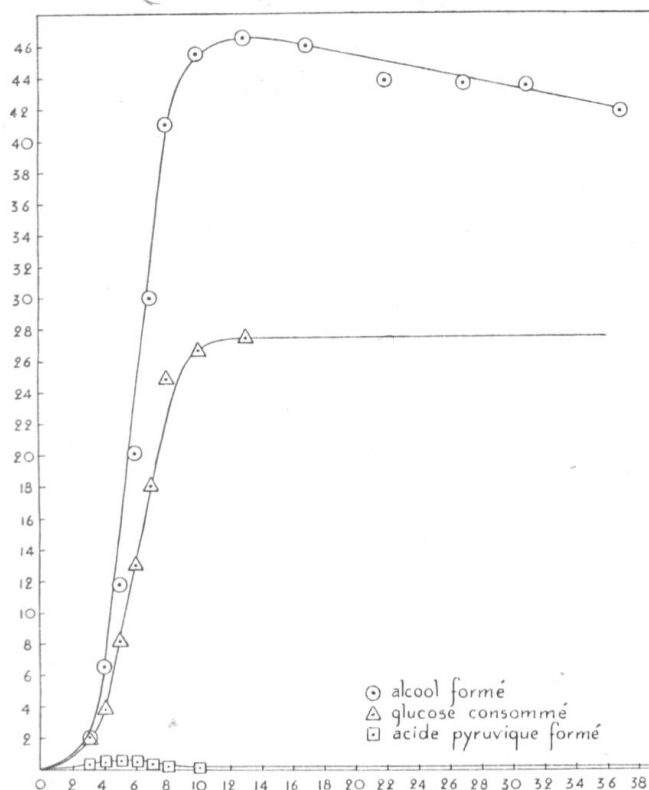
Selon les théories modernes, l'acide pyruvique est un stade intermédiaire dans la dégradation du glucose et la formation de l'alcool. Ce stade est très fugace car la décarboxylation s'opère immédiatement chez un être sain disposant d'une assez grande quantité de carboxylase.

Nos résultats, spécialement ceux décrits dans le chapitre « Formation de l'alcool », nous amène à penser que la levure cultivée en absence de vitamine B₁ doit alors synthétiser et même rapidement de la cocarboxylase.

Maintenant, ces derniers résultats nous en apportent une preuve et ils nous permettent également de préciser le phénomène. En nous reportant au graphique ci-dessus, nous voyons qu'il y a une rapide augmentation de la teneur en acide pyruvique jusqu'au 5^{me} jour de culture. Cela signifie que la levure ne dispose pas d'une quantité suffisante de cocarboxylase pour transformer tout l'acide pyruvique, provenant de la dégradation du glucose. A partir du 5^{me} jour, la concentration en acide pyruvique diminue aussi rapidement qu'elle avait crû, en moins de trois jours, elle régresse jusqu'à 1/3 de son maximum.

Cette brusque diminution signifie que cette fois, la levure synthétise une assez grande quantité de cocarboxylase, car non seulement elle peut transformer l'acide pyruvique provenant encore du glucose, mais encore elle métabolise l'acide pyruvique qui s'est accumulé précédemment.

La teneur en acide pyruvique des cultures sans vitamine B₁ nous paraît évidemment grande comparativement à celle des cultures où elle est nulle ou voisine de zéro. Mais en fait, l'accumulation dont nous parlons est très faible par rapport à la quantité théoriquement possible. En effet, une molécule de glucose donne naissance à 2 molécules d'acide pyruvique. Dans nos cultures, la concentration en glucose étant 5 g pour 100 cc, il pourra donc se former 4,88 g d'acide pyruvique. Or, de ces 4,88 g d'acide pyruvique métabolisés par la levure, 0,044 g seulement sortent (accumulation) du métabolisme normal, c'est-à-dire le 0,9% seulement. Voici un graphique illustrant cet argument.



GRAPHIQUE N° 12

Rapport entre la consommation du glucose et la formation d'acide pyruvique et d'alcool : culture sans vitamine B₁.
 Axe des abscisses : temps de culture en jours.
 Axe des ordonnées : alcool formé, acide pyruvique formé et glucose consommé, mMol.

Ce graphique rapporte les résultats obtenus dans une expérience où nous avons dosé simultanément l'acide pyruvique, l'éthanol et le glucose consommé. Les valeurs du graphique sont exprimées en millimolécules.

On peut encore pour terminer chercher à connaître ce que deviendra l'acide pyruvique ainsi accumulé. Finira-t-il par être transformé en alcool ? Nous ne saurions répondre à cette question. Il est vrai que dans le chapitre « Formation de l'alcool » nous avons trouvé que les quantités d'alcool des cultures sans vitamine B₁ et avec vitamine B₁ sont égales.

D'autre part, si les 44 mg d'acide pyruvique étaient transformés en éthanol, ils formeraient 23 mg d'éthanol,

cette quantité est inférieure à l'erreur d'expérience, puisque la teneur en alcool s'élève à ce moment à 2 g environ. Il est également possible que l'acide pyruvique transitoirement accumulé soit transformé en d'autres substances ou encore qu'il soit utilisé pour des synthèses par la levure qui change peut-être son métabolisme endogène.

Nous aurons l'occasion de revenir sur ces questions dans la suite de ce travail. En résumé, on peut dire que, premièrement, la levure présente une déficience en cocarboxylase pendant les premiers jours de son existence dans un milieu de culture privé de vitamines B₁. Deuxièmement, en présence de vitamine B₁, cette déficience n'existe plus, c'est la preuve que la vitamine B₁ est transformée en cocarboxylase. Troisièmement, la déficience initiale est trop faible pour pouvoir trancher la question concernant la transformation de l'acide pyruvique accumulé en éthanol ou si cet acide subit un autre sort.

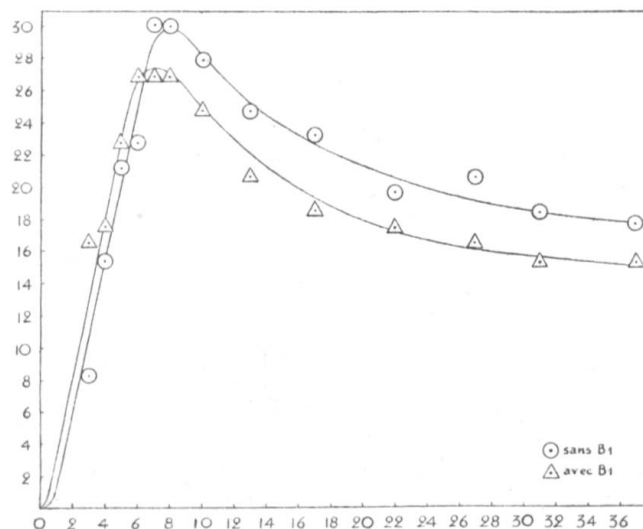
8. Formation d'acides autres que l'acide pyruvique

I. — Acidité totale formée.

Nous avons vu précédemment que la levure forme dans certaines conditions de l'acide pyruvique. Dans ce chapitre, nous allons chercher si cet acide est le seul formé et quelle influence exerce la vitamine B₁ sur le pouvoir acidogène d'une culture de levure. Pour cette expérience, nous avons cultivé des levures en absence de vitamine B₁, en présence de $0,5 \cdot 10^{-6}$ Mol/litre et 10^{-6} Mol/litre de vitamine B₁. Nous avons dosé simultanément dans ces cultures l'acide pyruvique formé et l'acidité formée, c'est-à-dire, l'acidité après un temps donné moins l'acidité initiale.

Voici un tableau et un graphique résumant les résultats que nous avons obtenus :

Age des cultures en jours	Acidité formée en cc NaOH 1,0-n ^o / ₀₀		
	Cultures sans vit. B ₁	Cultures avec 0,5.10 ⁻⁶ M vitamine B ₁	Cultures avec 1.10 ⁻⁶ M vitamine B ₁
3	8,29	16,56	21,0
4	15,54	17,59	26,0
5	21,22	22,77	28,0
6	22,77	26,91	28,0
7	30,12	26,91	28,0
8	30,01	26,91	—
10	27,94	24,84	23,0
13	24,84	20,70	23,0
17	23,28	18,63	18,0
22	19,66	17,59	—
27	20,70	16,56	—
31	18,51	15,42	—
37	17,84	15,42	14,0



GRAPHIQUE N° 13

Formation d'acidité totale.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : acidité totale formée en cc NaOH 1,0-n p. 1000 cc.

L'allure des courbes du graphique ci-dessus est à peu près la même pour les trois cas. Ainsi que nous l'avons déjà constaté pour la consommation du glucose et pour la formation

de l'alcool, la culture en absence de vitamine B₁ accuse un certain retard dans la formation de l'acidité du milieu.

Pour les trois cas nous pouvons suivre l'évolution de trois phases nettes et principales. Ce sont, premièrement l'augmentation de l'acidité jusqu'au 7 ou 8^{me} jour de culture, deuxièmement sa diminution progressive et troisièmement, sa stabilisation au 30^{me} jour environ.

La deuxième période nous indique que la levure utilise une partie des acides formés.

Pour mieux comprendre l'évolution de ces trois phases, nous allons les étudier chacune séparément.

La première période allant de 0 à 7 jours nous montre que dans les trois cas, l'acidité formée augmente rapidement. Il se forme plus d'acidité dans la culture privée de vitamine B₁.

La deuxième période allant de 7 à 25 jours environ présente une diminution lente de l'acidité formée. La vitesse avec laquelle cette acidité diminue n'est pas influencée par la présence de vitamine B₁. En outre, nous pouvons constater que l'acidité formée disparue au cours de cette période est la même pour les trois cas, elle se chiffre à 12 cc de NaOH 1,0-n⁰/100.

Dans la troisième période (après 25 jours), l'acidité formée reste stationnaire.

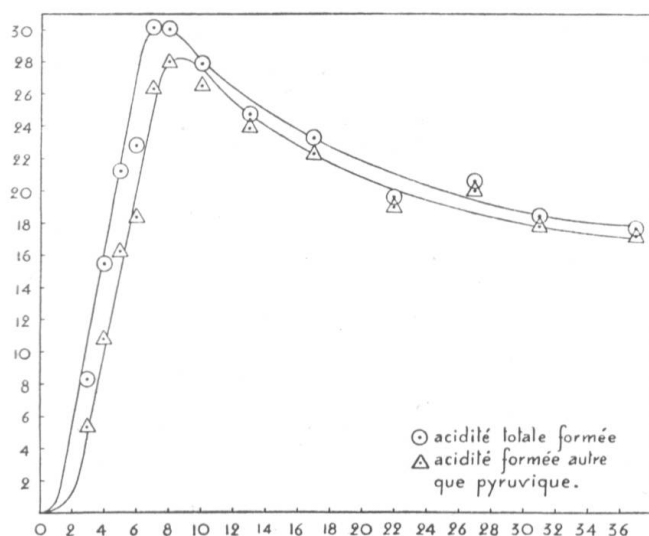
Ensuite de ces observations, il nous semble logique de conclure que la levure consomme une certaine partie de l'acidité formée, puisqu'elle disparaît et qu'une autre partie n'est pas utilisée puisqu'elle reste constante. La quantité des acides non utilisés qui constituent l'acidité restante est plus grande pour la culture privée de vitamine B₁. On peut l'évaluer à 18 cc de NaOH 1,0-n⁰/100 alors qu'en présence de vitamine, elle se chiffre à 15,5 cc environ.

Nous étudierons par la suite à quoi peut être attribuée cette acidité, mais nous voulons ici chercher la part que prend l'acide pyruvique dans cette acidité totale.

Dans le tableau suivant, nous exprimons en cc NaOH 1,0-n⁰/100 les teneurs en acide pyruvique, l'acidité totale formée et l'acidité formée en dehors de l'acide pyruvique.

Age des cultures en jours	Acidité totale formée en cc NaOH 1,0-n.°/100			Acide pyruvique en cc NaOH 1,0-n °/100			Acidité formée autre que l'acide pyruvique en cc NaOH 1,0-n °/100		
	sans B ₁	avec 0,5.10 ⁻⁶ M B ₁	avec 10 ⁻⁶ M B ₁	sans B ₁	avec 0,5.10 ⁻⁶ M B ₁	avec 10 ⁻⁶ M B ₁	sans B ₁	avec 0,5.10 ⁻⁶ M B ₁	avec 10 ⁻⁶ -M B ₁
3	8,29	16,56	21,0	3,0	—	0	5,29	16,56	21,0
4	15,54	17,59	26,0	4,74	—	0	10,80	17,59	26,0
5	21,22	22,77	28,0	4,99	0,36	0	16,23	22,41	28,0
6	22,77	26,91	28,0	4,39	0,49	0	18,38	26,42	28,0
7	30,12	26,91	28,0	3,78	0,48	0	26,34	26,43	28,0
8	30,01	26,91	—	2,01	0,32	—	28,0	26,59	—
10	27,94	24,84	23,0	1,43	0,28	0	26,51	24,56	23,0
13	24,84	20,70	23,0	0,97	0,24	0	23,87	20,46	23,0
17	23,28	18,63	18,0	0,87	0,19	0	22,41	18,44	18,0
22	19,66	17,59	—	0,62	0,15	—	19,04	17,44	—
27	20,70	16,56	—	0,59	0,13	—	20,11	16,43	—
31	18,51	15,42	—	0,58	0,13	—	17,93	15,29	—
37	17,84	15,42	14,0	0,49	0,10	0	17,35	15,32	14,0

Pour mieux comparer les résultats, nous établissons les graphiques suivants dans lesquels nous comparons l'acidité totale formée à l'acidité formée autre que celle provenant de l'acide pyruvique.

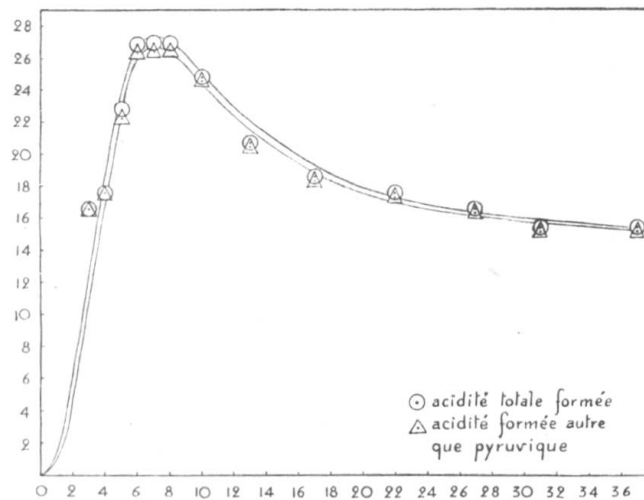


GRAPHIQUE N° 14

Importance de l'acidité pyruvique dans l'acidité totale formée : culture sans vitamine B₁.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : acidité totale et autre que pyruvique formées en cc NaOH 1,0-n p. 1000 cc.



GRAPHIQUE N° 15

Importance de l'acidité pyruvique dans l'acidité totale formée : culture avec 10^{-6} mol/2 vitamine B_1 .

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : acidité totale et autre que pyruvique formées en cc NaOH 1,0-n p. 1000 cc.

L'interprétation de ces graphiques est simple ; on voit en effet la petite part que prend l'acide pyruvique dans l'acidité totale formée au cours du développement de la levure.

Cette forte acidité qui se développe indépendamment de l'acide pyruvique sera en partie expliquée par l'étude des acides volatils que nous abordons dans le chapitre suivant.

L'étude de l'acidité formée nous a donné en résumé les résultats suivants :

1. — Pas de différence quant à la vitesse de formation en présence ou en absence de vitamine B_1 .
2. — Formation plus grande d'acides dans la culture sans vitamine B_1 .
3. — Disparition égale dans les deux cas d'une certaine quantité de l'acidité formée.
4. — Acidité restante stationnaire plus grande pour la culture sans vitamine B_1 .

II. — Acidité volatile et recherche des acides volatils.

Pour connaître l'acidité volatile, nous avons concentré sur flamme nue, après neutralisation par de la soude en présence de bleu de bromophénol comme indicateur, 3 litres de milieu provenant de cultures de levures âgées de 22 jours contenant ou non de la vitamine B₁. La concentration se prolonge jusqu'à l'obtention d'un résidu de consistance sirupeuse. On reprend ce résidu par de l'eau distillée et on l'introduit dans le matras de l'appareil à distiller. Après acidification par 10 cc d'acide phosphorique, on entraîne par de la vapeur d'eau les acides volatils présents. On les recueille et on les neutralise au fur et à mesure par de la soude 0,2-n en présence de phénolphaléine comme indicateur.

1. — Culture sans vitamine B₁.

L'acidité volatile ainsi décelée se chiffre à 5,70 cc de NaOH 1,0-n p. 1000 cc de milieu ou si on l'exprime en acide acétique à 0,34 g.

Après avoir isolé les acides volatils totaux, on procède à la détermination qualitative de ces acides.

Le distillat provenant de l'isolement est concentré jusqu'à un volume inférieur à 100 cc. Ce nouveau concentré est acidifié par de l'acide tartrique puis complété à 110 cc exactement. On introduit ces 110 cc dans le ballon à distiller de l'appareil de DUCLAUX pour l'identification des acides volatils. On distille selon la méthode décrite dans la partie analytique.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Distillat	cc NaOH 0,2-n	Rapports trouvés en centième	Rapports théoriques en centième
10 cc	4,45	7,4	7,4
20 cc	9,25	15,3	15,2
30 cc	14,10	23,3	23,4
40 cc	19,20	31,8	32,0
50 cc	24,75	40,9	40,9
60 cc	30,45	50,4	50,5
70 cc	36,5	60,5	60,9
80 cc	43,3	71,5	71,9
90 cc	51,05	84,5	84,4
100 cc	60,45	100,0	100,0

Ces valeurs trouvées sont si proches des valeurs théoriques, que nous pouvons affirmer que l'acidité volatile est uniquement due à de l'acide acétique.

On sait que 110 cc d'une solution aqueuse d'acide acétique distillée dans les mêmes conditions n'ont laissé passer que le 80% de l'acide présent lorsque le distillat a atteint 100 cc.

Dans notre cas, la teneur en acide acétique sera donc :

$$\frac{60,45 \text{ cc} \times 100}{80} = 75,55 \text{ cc NaOH } 0,2\text{-n ou } 0,907 \text{ g acide}$$

acétique, c'est-à-dire 0,30 g d'acide acétique ‰ cc.

2. — Culture avec vitamine B₁.

On procède aux mêmes manipulations que celles décrites précédemment pour la culture sans vitamine B₁.

L'acidité volatile titrée au préalable nous fournit 0,38 g d'acide acétique pour 1000 cc si on exprime l'acidité volatile dans cet acide.

Les résultats de l'identification des acides volatils sont les suivants :

Distillat	cc NaOH 0,3-n	Rapports trouvés en centième	Rapports théoriques en centième
10 cc	—	—	—
20 cc	7,5	14,8	15,2
30 cc	11,8	23,3	23,4
40 cc	16,25	32,1	32,0
50 cc	20,8	41,1	40,9
60 cc	25,55	50,5	50,5
70 cc	30,55	60,4	60,9
80 cc	36,15	71,5	71,0
90 cc	48,85	84,8	84,4
100 cc	50,55	100,0	100,0

De même que précédemment, l'acidité volatile est uniquement causée par de l'acide acétique.

La quantité d'acide acétique contenue dans 1000 cc de liquide de culture sera donc :

$$\frac{50,55 \times 100}{80} = 63,2 \text{ cc. NaOH } 0,274\text{-n c'est-à-dire à } 0,30 \text{ g}$$

d'acide acétique ‰.

En conclusion, le seul acide volatil des cultures de levures en présence ou en absence de vitamine B₁ est l'acide acétique.

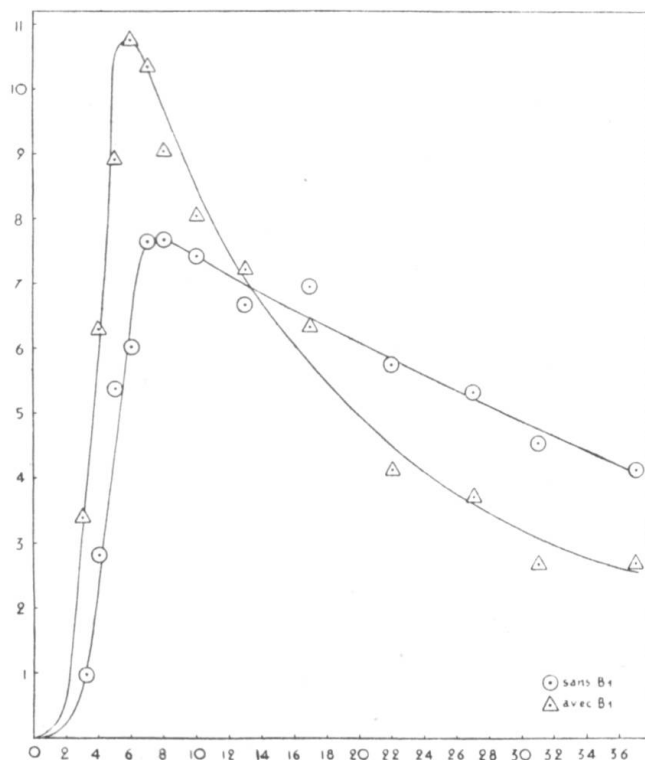
De plus, la teneur en acide acétique pour les deux cultures est approximativement la même.

III. — Acide acétique.

Précédemment, nous avons prouvé que le seul acide volatil présent dans nos cultures est l'acide acétique. Dans ce chapitre, nous allons suivre son évolution en fonction du temps de culture.

Pour doser l'acide acétique, nous pratiquons de même que pour les acides volatils, en l'entraînant par de la vapeur d'eau et en titrant le distillat recueilli. Ces dosages effectués sur 50 cc de liquide provenant des cultures de levures hypovitaminées et disposant de vitamine B₁ nous fournissent les résultats suivants, l'acide acétique étant exprimé en cc NaOH 1,0-n p. 1000. Nous joignons à ce tableau un graphique.

Age des cultures en jours	Acide acétique cc NaOH 1,0-n ‰	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
3	0,97	3,39
4	2,82	6,30
5	5,36	8,91
6	6,02	10,77
7	7,65	10,35
8	7,67	9,05
10	7,43	8,05
13	6,68	7,23
17	6,97	6,34
22	5,75	4,14
27	5,32	3,73
31	4,53	2,68
37	4,12	2,68



GRAPHIQUE N° 16

Formation d'acide acétique.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : acide acétique formé en cc NaOH 1,0-n p. 1000 cc.

Le graphique ci-dessus fait ressortir très nettement les principaux points de l'évolution de l'acide acétique. L'absence de vitamine B₁ inhibe aussi bien la formation que la disparition de l'acide acétique. D'autre part, l'allure des deux courbes étant différente, les métabolismes se révèlent différents pour les deux cas, tout au moins quantitativement.

Pour faciliter l'interprétation de ces faits, nous décomposerons les phénomènes en deux phases : la phase d'élaboration et la phase de disparition ou de dégradation.

La phase d'élaboration est dans les deux cas rapide et parallèle bien que la levure hypovitaminée présente encore ici un retard dans le début de la formation de l'acide acétique.

Les teneurs maximales sont différentes pour les deux cultures. Pour la culture de levures hypovitaminées, elle se chiffre à 4,60 g d'acide acétique % et pour la culture en présence de vitamine B₁ à 6,50 g %. La différence est appréciable puisqu'elle est d'environ 30%.

Toutefois, c'est pendant la phase de disparition que l'écart entre les deux courbes s'accuse nettement. En effet, dans la culture de levures hypovitaminées, l'acide acétique disparaît lentement. Au bout de 37 jours de culture, la teneur est environ la moitié de la teneur maximale.

Dans la culture de levures disposant de vitamine B₁, la disparition est rapide après 37 jours de culture, la quantité maximale est réduite au 1/4.

Ces deux derniers faits nous prouvent que la vitamine B₁ est nécessaire à la dégradation de l'acide acétique.

Les possibilités de synthèse et de dégradation de l'acide acétique seront exposées plus loin.

En résumé, la présence de vitamine B₁ favorise l'élaboration et la dégradation de l'acide acétique, elle intervient donc dans le métabolisme de cet acide.

IV. — Acidité nitrique.

Nous venons de voir qu'il se constitue dans le milieu de culture une forte acidité. L'acide acétique et l'acide pyruvique ne sont pas les seuls constituants de cette acidité. En effet, la somme de ces deux acides déduite de l'acidité totale laisse apparaître une acidité inconnue qui dépasse même la moitié de l'acidité totale. D'où provient cette acidité inconnue ? La levure consomme l'azote ammoniacal du nitrate d'ammonium contenu dans le milieu de culture, alors qu'elle n'assimile pas l'azote nitrique. Ce fait nous explique tout au moins partiellement la nature de l'acidité inconnue.

On sait en effet, qu'une molécule de NO₃NH₄ dont le NH₄ est consommé par la levure, donne naissance à une

molécule de NO_3H . Il se forme donc une acidité nitrique dans le milieu de culture responsable de l'acidité inconnue.

Dans le tableau suivant, nous notons les différentes acidités formées, calculées en % de l'acidité totale.

La somme de ces acidités doit correspondre à l'acidité inconnue si l'acidité nitrique comble totalement la lacune que nous avons mentionnée précédemment.

Culture sans vitamine B ₁				
Age des cultures en jours	Ac. nitrique % ac. totale	Ac. pyruvique % ac. totale	Ac. acétique % ac. totale	Ac. connue % ac. totale
1	40,0	25,0	12,5	77,5
2	53,3	35,0	12,5	100,0
3	52,6	35,7	11,9	100,2
4	55,4	34,8	21,2	111,4
5	52,4	26,0	22,9	101,3
6	50,3	17,5	23,8	91,6
7	53,3	12,7	25,3	91,3
9	55,3	6,9	26,9	88,1
11	74,5	4,5	27,8	106,8
Culture avec $0,5 \cdot 10^{-6}\text{M}$ de vitamine B ₁				
1	53,3	0,0	12,0	65,3
2	50,0	0,98	17,6	68,6
3	62,8	1,4	23,6	87,8
4	66,2	1,5	28,5	96,2
5	65,0	2,2	38,3	105,5
6	67,2	2,2	40,0	109,4
7	67,2	2,1	37,6	106,9
9	83,5	1,5	34,0	119,0
11	87,8	0,85	33,3	121,9

Les valeurs qui sont consignées dans le tableau ci-dessus sont assez significatives pour qu'on puisse affirmer qu'en dehors de l'acide pyruvique et de l'acide acétique, l'acidité totale formée est constituée entièrement par l'acidité nitrique.

Les écarts de pourcentages proviennent probablement de ce que les valeurs ne sont pas tirées d'une même expérience.

En résumé, tous les acides formés par la levure sont identifiés dans les deux cas de cultures en présence et en absence de vitamine B₁.

Ces acides sont par ordre quantitatif : l'acide nitrique, l'acide acétique, l'acide pyruvique.

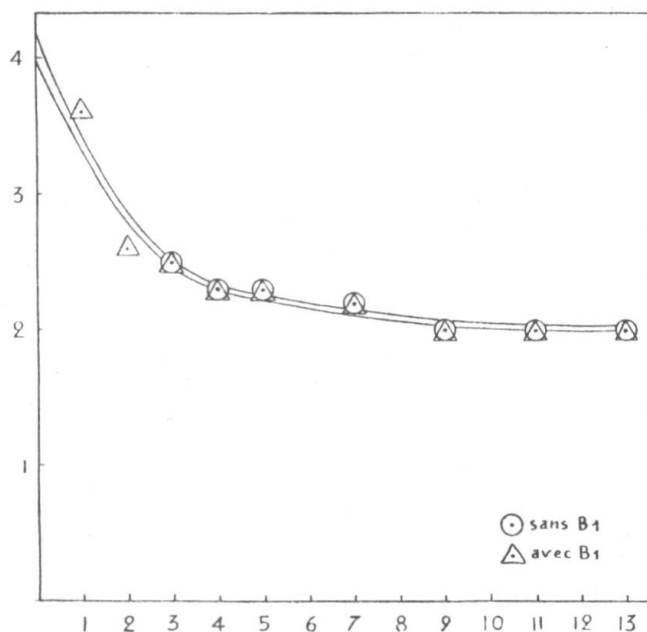
9. Evolution du pH

Le pH initial de nos milieux de culture est environ 4,0 à 4,2. Comme nous travaillons avec des milieux de culture non tamponnés, nous constatons une forte diminution du pH en même temps que se développe l'acidité titrable du milieu. Le pH atteint 2,0 environ après 7 à 8 jours de culture, à ce moment il reste stationnaire.

Nous avons étudié l'évolution du pH dans des cultures de levures hypovitaminées et dans d'autres disposant de vitamine B₁.

Nous consignons nos résultats dans le tableau et le graphique suivants :

Age des cultures en jours	pH	
	Cultures sans B ₁	Cultures avec B ₁
0	4,0	4,20
1	—	3,60
2	—	2,60
3	2,50	2,50
4	2,30	2,30
5	2,30	2,30
7	2,20	2,20
9	2,0	2,0
11	2,0	2,0
13	2,0	2,0



GRAPHIQUE N° 17

Evolution du pH en fonction du temps.

Axe des abscisses : temps de culture en jours.

Axe des ordonnées : pH.

Les résultats que nous avons obtenus nous permettent de constater que la vitamine B₁ n'a pas d'influence appréciable sur l'évolution du pH.

En résumé, les milieux de culture n'étant pas tamponnés, le pH s'abaisse normalement à mesure que se forme l'acidité, ceci aussi bien en présence qu'en absence de vitamine B₁.

MÉTABOLISME ENDOGÈNE

Il serait avantageux de pouvoir séparer les uns des autres les phénomènes physiologiques si complexes d'un organisme afin de pouvoir les étudier individuellement ainsi que le ferait un chimiste qui suit pas à pas l'évolution de ses réactions.