Zeitschrift: Archives des sciences physiques et naturelles

Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

Band: 9 (1927)

Artikel: Sur l'importance des points isoélectriques dans la prépration et dans l'activité des ferments

Autor: Chodat, Fernand

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-740912

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: 13.07.2025

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

Fernand Chodat. — *Sur l'importance des points isoélectriques dans la préparation et dans l'activité des ferments.*

Dans la méthode classique de préparation des ferments solubles, on substitue par addition d'alcool, au milieu aqueux, un milieu hydro-alcoolique de concentration élevée. Ce changement de solvant détermine une insolubilisation des protides et matières accessoires, antérieurement dispersés dans l'extrait aqueux; l'insolubilisation s'achève par une sédimentation des colloïdes vecteurs du pouvoir diastasique. La quantité d'alcool nécessaire pour précipiter la totalité des protides et matières accessoires est très variable.

Désireux de préciser les conditions de la précipitation alcoolique des ferments, nous avons déterminé dans la première partie de cette étude, le rapport existant entre l'acidité actuelle de la liqueur mère de ferment et la floculabilité (Entmischung) de ses composants colloïdaux.

La méthode consiste à diviser la liqueur mère de ferment en parts égales, et à conférer à chacune d'entr'elles une acidité particulière. Cet ajustement du liquide à un pH défini s'obtient en ajoutant prudemment un acide dilué (chlorhydrique ou acétique) ou une base (NaOH). Dans ce cas on mesure le pH final au moyen d'indicateurs. Un deuxième procédé consiste à mélanger un volume de la liqueur mère de ferment à un volume supérieur (2 à 5 fois) d'une solution-tampon (Sorensen) de pH connu. Quasi immédiatement dans le premier procédé, au bout d'un temps plus long dans le second, on communique aux liquides ferments des acidités allant du pH 3.6 au pH 8.3.

Cet ajustement détermine à lui tout seul des fluctuations dans la solubilité des colloïdes de la liqueur mère de ferment. Ces fluctuations étant parallèles à celles observées pour la floculabilité des mêmes corps par l'alcool, nous nous bornons dans cette note, à mentionner le second phénomène.

La floculation s'effectue dans des cylindres de verre par addition d'un même volume d'alcool inférieur (3 à 10 fois) à celui des échantillons variant par leur pH. On observe alors des maxi-

mum, des minimum et des termes intermédiaires de floculabilité. Au maximum la séparation est rapide, souvent immédiate; des flocons grossiers se forment et ne tardent pas à se sédimenter en un dépôt tassé; le liquide surnageant atteint le maximum de limpidité.

Au minimum de floculabilité, seule l'opalescence de la liqueur est augmentée. L'évaluation de ces floculations se fait par la pesée des dépôts recueillis après filtration, par la mesure de la hauteur du sédiment et le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre entre le liquide surnageant et le sédiment. Le terme floculation étant l'objet d'une controverse, nous préferons adopter la notion inverse, c'est-à-dire dispersion en milieu hydro-alcoolique. Nos expériences ont porté sur les liqueurs mères de ferment suivantes: extraits aqueux de malt pour la saccharogénase, d'amandes douces pour la prunase, de foie de bœuf pour la catalase, de pelures de pommes de terre pour la tyrosinase. Ces extraits représentent des complexes de colloïdes, principalement des protides. Les nombres des maximum et des minimum demeurent les mêmes pour chaque extrait, mais varient de l'un à l'autre comme on peut le voir sur la table n° I:

TABLE I.

		Minimum de dispersion aux pH		
Saccharogénase	liqueur mère	4.1-4.6	—	—
	id. purifiée	4.1	—	—
Prunase	liqueur mère	4.7	5.9–6.1	—
	id. purifiée	—	5.3	—
Tyrosinase	liqueur mère	4.4	5.3	6.2 (?)
	id. purifiée	—	5.3	—
Catalase	liqueur mère	4.1	5.6–5.9	6.8
	id. purifiée	—	5.3	—
Sérum hémolysé		4.5	5.6–5.9	6.8
Points isoélectriques		4.8	5.4	6.75
		albumine	globuline	hémoglobine
		du sérum		

Nous avons interprété les minimum de dispersion en milieu hydro-alcoolique comme les indices de points isoélectriques. On sait en effet, que pour une certaine acidité actuelle unique et particulière à chaque colloïde électrolyte amphotère, ces corps atteignent un état critique, le point isoélectrique, caractérisé par un minimum des propriétés de pression osmotique, de gonflement, de viscosité et de dispersion en milieu hydro-alcoolique.

Anticipant alors sur les confirmations, nous disons que la pluralité des points isoélectriques observée pour une même liqueur mère de ferment, correspond au nombre des colloïdes électrolytes amphotères qui sont dispersés dans l'extrait. Il nous fut alors aisé d'homologuer les pH correspondant au premier minimum de dispersion (4.1 pour la saccharogénase, 4.7 pour la prunase, 4.1 pour la catalase, 4.4 pour la tyrosinase) à la zone de pH caractérisant les points isoélectriques des albumines (4.5–4.8). Les pH que nous enregistrons pour le deuxième minimum (prunase 5.9–6.1, catalase 5.6–5.9, tyrosinase 5.3), furent assimilés aux points isoélectriques des globulines dont la zone oscille autour de la valeur pH 5.4. Le troisième minimum très net offert au pH 6.8 par l'extrait de foie, fut attribué à la présence d'hémoglobine. Pour confirmer cette dernière hypothèse, et d'un même coup comparer nos résultats à ceux obtenus sur un mélange de colloïdes électrolytes amphotères de composition connue, nous avons soumis au même traitement un sérum (génisse) intentionnellement hémolysé. Ce liquide fournit 3 minimum de dispersion pour les réactions: pH 4.5, 5.6–5.9, 6.8; en vertu des phénomènes de protection de l'albumine du sérum par la globuline, le point isoélectrique de cette dernière apparut plus vite et plus intensément que celui de l'albumine; l'hémoglobine manifesta son point isoélectrique à pH 6.8 ce qui est d'ailleurs conforme à la mesure qu'en a faite Michaelis: 6.75.

Nous montrons dans cette étude, que la recherche des points isoélectriques peut servir de méthode analytique d'un complexe de protides colloïdaux.

Les types et la proportion des protides reconnus par Osborne dans les tissus d'orge, d'amande, etc., concordent avec les résultats de nos analyses isoélectriques.

Bien que chaque liqueur mère de ferment contienne plusieurs protides, un seul parmi eux fonctionne comme vecteur du ferment. En répétant les précipitations suivies de filtrations, on peut, en effet, purifier les liqueurs mères de ferments jusqu'à n'avoir plus qu'un seul point isoélectrique. Le plus soluble parmi les protides du complexe, précipitera en effet le dernier. Cette purification nous a fourni pour la saccharogénase un unique protide de point isoélectrique 4.1; nous le considérons comme une albumine. Pour la prunase, la catalase, la tyrosinase, des purifications analogues ont conduit à 3 protides finaux et uniques, caractérisés tous par un point isoélectrique très net pour le pH 5.3. Nous avons assimilé ces corps à des globulines. Ces derniers précipités sont tous vecteurs du pouvoir ferment.

Nous avons comparé, dans la seconde partie de notre étude, l'activité diastasique des échantillons d'un même ferment, ne différant les uns des autres que par l'acidité acquise au cours de la macération à différents pH.

Au début, nous partions des liqueurs mères de ferment « ajustées »; la précipitation alcoolique étant plus ou moins complète suivant la réaction, nous ajoutions à chaque part un excès d'alcool de manière à recueillir la totalité des colloïdes précipitables. Au lieu de partir des liqueurs mères de ferments, nous nous sommes adressés, dans une technique ultérieure, aux ferments eux-mêmes. Ces poudres ont été redispersées dans l'eau, la fausse solution divisée en parts égales auxquelles furent conférées, suivant les procédés susdécrits, des réactions différentes. On reprécipite par l'alcool, et des poids égaux des ferments ainsi traités sont dispersés dans l'eau pour constituer les solutions ferments. Cette purification oblige à travailler avec de très petites quantités, mais augmente la précision des recherches.

Nous avons fait agir ces ferments dans des conditions optimales de température et de réaction du milieu. L'activité fut évaluée pour la saccharogénase par la quantité de sucre réducteur (titration au Fehling) formée par la saccharification de l'empois d'amidon et de l'amidon soluble. Pour la prunase on mesure par la même méthode la glucose fournie par hydrolyse de la salicine. L'activité de la catalase est donnée par le volume

de O_2 (cm^3) dégagé pendant les dix premières minutes d'activité sur H_2O_2. Une évaluation colorimétrique fut employée pour la tyrosinase.

TABLE II.

Ferments préparés aux pH suivants :

Saccharogénases	3.6	**4.1**	4.6	5.1	5.9	6.6	
Activité	0	4	13	14.2	15	14.2	
Prunases	4	**5.3**	6.4	7			
Activité	5.5	10.7	8.7	7.7			
Catalases	3.9	4.4	4.8	**5.3**	5.9	6.2	6.6
Activité	19.9	50	69.6	29.3	22.7	18.8	16.5
Tyrosinases	3.9	4.4	4.8	**5.3**	5.9	6.2	6.6
Activité	—	—	—	+	+	+	+

L'examen de la table 2 montre que pour la saccharogénase il n'y a de ferments actifs que ceux préparés à un pH supérieur à 4.1, qui correspond précisément au point isoélectrique du protide vecteur de ce ferment. Pour la tyrosinase de même, il n'y a de ferment actif, au point de vue de la formation de crésol-azur à partir d'un système paracrésol-glycocolle, que ceux préparés à un pH supérieur à 5.3, qui correspond précisément au point isoélectrique du protide vecteur du ferment. Pour la catalase, il n'y a de ferments très actifs que ceux préparés à un pH inférieur à 5.3, qui correspond précisément au point isoélectrique du protide vecteur de ce ferment. Pour la prunase le maximum d'activité correspond au point isoélectrique 5.3 du protide vecteur de ce ferment. Quelle que puisse être l'interprétation ultérieure de ces phénomènes, il n'en reste pas moins, que le point isoélectrique du protide vecteur du pouvoir ferment représente dans trois cas une limite au delà de laquelle le ferment se trouve sinon totalement, tout au moins fortement inactivé, et dans un quatrième cas l'état optimal pour l'activité du ferment. Ces constatations ouvrent un champ nouveau à l'étude du méca-

nisme de l'action enzymatique qui dépendrait largement du signe de la charge du protide vecteur du pouvoir ferment.

Rappelons que la charge d'un protide change lorsqu'il franchit son point isoélectrique; ce phénomène électrique n'est autre chose que la manifestation du bloquage des groupes fonctionnels acides pour un pH inférieur à celui du point isoélectrique et des groupes fonctionnels basiques pour un pH supérieur à celui du point isoélectrique. Cette capacité de fixer des anions au-dessous du point isoélectrique et des cations au-dessus, devient singulièrement suggestive lorsque le protide est vecteur d'un ferment dont l'activité est étroitement liée au point isoélectrique lui-même. Cette hypothèse de travail orientera de nouvelles recherches sur le même sujet.

N. B. — Une étude plus détaillée sera publiée pour justifier les conclusions que nous exposons dans cette note préliminaire.

(Laboratoire de Ferments et Fermentations de l'Institut de Botanique de l'Université de Genève.)

R. Wavre. — *Sur la stratification des planètes et l'équation de Fredholm.*

Le but de cette note est d'indiquer que l'équation de Fredholm à laquelle peut se ramener le problème de la stratification des planètes possède un noyau symétrisable. La démonstration sera publiée dans les *Archives des sciences physiques et naturelles*, N° de mai-juin 1927.

P. Balavoine. *Dosage réfractométrique de l'alcool des produits de fermentation.*

Au lieu de la détermination usuelle par voie pycnométrique du degré alcoolique des distillats de vins, etc., on a déjà tenté d'utiliser le pouvoir réfringent de ces solutions. Les résultats n'ont pas été jusqu'ici satisfaisants et ne pouvaient lutter de précision avec ceux que procure la densité. Les distillats de vins contiennent en effet, à côté de l'alcool, d'autres susbtances volatiles, dont le pouvoir réfringent s'ajoute à celui de l'alcool.