La sensibilité et la stabilité de la réaction au nickel-nitroprussiate pour le glutathion réduit

Autor(en): **Zimmet, Don / Dubois-Ferrière, H.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **18 (1936)**

PDF erstellt am: **23.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-743087

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

P. van Romburg et C. E. Lohmann [1] ont constaté que, dans le thé, la teneur en matières minérales et en N est en relation l'une avec l'autre.

S. Krauze [2] a trouvé dans le maté que la quantité de Mn augmente avec celle de la caféine.

Cette première série de constatations sont de nature à préciser l'hypothèse de Bertrand, c'est-à-dire que Mn favorise, dans certains cas et dans certaines plantes, l'élaboration de substances azotées, ou tout au moins que la fixation d'azote va de pair avec celle de sels de manganèse.

En considérant cette hypothèse sous un angle très particulier, elle permettrait d'envisager, par une culture appropriée, la possibilité de production de thés pauvres en caféine.

Don Zimmet et H. Dubois-Ferrière. — *La sensibilité et la stabilité de la réaction au nickel-nitroprussiate pour le glutathion réduit.*

Dans une note antérieure, l'un de nous [3] a pu signaler une réaction extrêmement sensible pour le glutathion réduit, avec un complexe de nickel-nitroprussiate. C'est en raison de sa grande sensibilité, de sa stabilité et de la formation d'un précipité coloré, qui caractérise cette réaction, que nous avons entrepris des recherches plus précises pour l'évaluation du glutathion réduit.

Lorsqu'on met quelques gouttes du réactif au nickel-nitroprussiate dans de l'eau pure, il se forme un léger trouble d'une coloration verdâtre. Si le liquide que nous examinons contient du glutathion réduit, il se forme un précipité rose-lilas, plus ou moins vif, selon la teneur en glutathion réduit de la solution. C'est la formation de ce précipité coloré, nous le répétons, qui caractérise la réaction et qui la distingue des autres réactions au nitroprussiate de sodium, donnant lieu à la seule coloration.

[1] Z. U. N. G., 2, 290.
[2] Tr. Ch. Al., 1932, 222.
[3] D. Zimmet, *Une réaction au nickel-nitroprussiate pour le glutathion réduit* ». C. R. Soc. Phys. et Hist. nat. Genève, vol. 52, nº 3, 1935.

Les expériences effectuées avec le glutathion pur cristallisé, en employant le nickel-nitroprussiate, confirment le fait que ce réactif précipite le glutathion réduit qui prend la couleur indiquée plus haut. Nous avons remarqué que ce réactif acquiert lorsqu'il est préparé à l'avance, en ce qui concerne l'obtention du précipité, son maximum de sensibilité. Le réactif peut se conserver plusieurs mois dans un flacon brun bouché à l'émeri.

Cette étude a pour but d'apprécier d'une manière exacte la sensibilité et la stabilité de la réaction obtenue, en comparaison avec les méthodes au Nitroprussiate de Na utilisées jusqu'à présent: Hopkins[1], Fleming[2], et D. Zimmet (I)[3]. Les expériences ont été effectuées avec le glutathion cristallisé, pur, de la fabrique Hoffman-La Roche (Bâle) d'une part, et avec la levure de boulanger, fraîche, de la fabrique d'Olten d'autre part. Nous avons procédé de la manière suivante:

I. *Expériences avec le glutathion cristallisé pur* (Hoffman-La Roche).

Une solution de glutathion réduit à 1: 10.000 a été diluée successivement (1: 100.000; 1: 200.000; 1: 500.000; 1: 1.000.000; 1: 2.000.000; 1: 3.000.000) jusqu'à 1: 4.000.000. La recherche du glutathion réduit est faite par les différentes méthodes.

a) *Méthode de Hopkins.* — On emploie une ou plusieurs gouttes de nitroprussiate de sodium à 5% ou à 10% en présence de $SO_4(NH_4)_2$ à concentration élevée, et on ajoute une goutte d'NH_3. On obtient ainsi une coloration rouge en présence de glutathion réduit. Cette coloration vire au jaune-brun à la fin de la réaction.

b) *Méthode de Fleming.* — Elle consiste à ajouter à 2 cc de la solution envisagée 0,5 cc d'une solution récente de nitroprussiate de Na à 1%, puis une quantité suffisante de cristaux de NaCl pour atteindre la saturation et on additionne de

[1] Hopkins, F. Gowland, Biochem. Journ., Bd. 15, Nr. 2, S. 286-305, 1921.
[2] Fleming, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris, 1930, t. 104, p. 831.
[3] D. Zimmet, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris, 1933, t. 113, p. 984.

trois gouttes d'une solution normale d'NH_3. On obtient ainsi la réaction caractéristique.

c) *Méthode de D. Zimmet (I).* — Composition du réactif: 5 gr de nitroprussiate de Na, 50 gr de phosphite de Na, 100 cc d'eau distillée. On met quelques gouttes de cette préparation dans la solution à examiner. Coloration rouge-violet en présence de glutathion réduit.

d) *Méthode de D. Zimmet (II).* — Réactif au nickel-nitroprussiate de Na: 5 gr de chlorure de Ni, 5 cc d'une solution

Solution de glutathion réduit Hoffman-La Roche à	Hopkins		Fleming		D. Zimmet I		D. Zimmet II	
	S	St	S	St	S	St	S	St
1 : 10.000	+	10′	+	2′ 30″	+	20′	+	24 h.
1 : 100.000	—		Très légère coloration	25″	+	5′	+	24 h.
1 : 200.000	—		—		Limite	2′ 30″	+	18 h.
1 : 500.000	—		—		—		+	5 à 6 h.
1 : 1.000.000	—		—		—		+	5 à 6 h.
1 : 2.000.000	—		—		—		+ Après centrifugation: culot rose	1 à 2 h.
1 : 3.000.000	—		—		—		+ Après centrifug.: culot rose-gris Limite	1 h.
I : 4.000.000	—		—		—		Limite extrême	

Dans le tableau ci-dessus et dans le suivant, les lettres S et St signifient respectivement Sensibilité et Stabilité. La Sensibilité est appréciée par des signes + ou des signes — selon que la réaction est positive ou négative. La Stabilité est mesurée en unités de temps qui marquent l'espace écoulé entre l'apparition et la disparition de la réaction caractéristique.

de nitroprussiate de Na à 10%, eau distillée 100 cc. On emploie une ou plusieurs gouttes de ce réactif suivant la proportion probable de glutathion (une goutte pour une faible concentration de glutathion; plusieurs gouttes pour une concentration élevée; cependant, il est préférable de toujours diluer la solution à examiner).

Tous ces examens sont faits sur 2 cc de la solution de glutathion.

II. *Expériences avec la levure de boulanger* (fabrique d'Olten).

Avec les mêmes méthodes nous avons recherché le glutathion réduit dans différentes dilutions de levure de boulanger fraîche. L'extrait a été fait de la manière suivante: une quantité connue de levure (4 gr. pour 100 cc d'eau) a été portée à ébullition pendant deux minutes. La suspension est ensuite centrifugée. On décante. Le culot est repris avec la même

Solution de levure de boulanger (fabr. d'Olten)	Hopkins		Fleming		D. Zimmet I		D. Zimmet II	
	S	St	S	St	S	St	S	St
2 %	+	13′	+	3′	+	10′	+	24 h.
1 %	+	9′	+	45″	+	7′	+	24 h.
0,5 %	Limite ?		+	30″	+	4′	+	24 h.
0,25 %	—		—		+	2′ 30″	+	24 h.
0,125 %	—		—		—		+	24 h.
0,0625 %	—		—		—		+ Après centrifugation: culot rose	6 h.
0,03125 %	—		—		—		+ Après centrifug.: culot rose pâle	2 h.
0,015625 %	—		—		—		—	

quantité d'eau. On reporte à ébullition pendant deux minutes. On centrifuge et, après avoir décanté, on réunit les deux liquides; on a ainsi une solution de levure à 2%. On s'assure par un troisième lavage que le culot ne contient plus de glutathion. Les recherches sont faites par les quatre méthodes, sur 2 cc de solution de levure pour chaque dilution.

Pour répondre à l'objection que l'on pourrait nous faire, que la coloration rose-lilas de cette nouvelle réaction (nickel-nitroprussiate + glutathion) est trop peu prononcée ou paraît absente lorsque le glutathion se trouve en quantité infinitésimale, nous faisons le contrôle suivant. Ce contrôle est basé sur l'existence du précipité dont nous parlons plus haut, et qui seul est coloré (normalement ce précipité se dépose en quelques minutes): On verse une partie du liquide avec la réaction douteuse dans un tube de centrifuge à fond conique; dans un autre tube on verse une quantité égale d'eau additionnée de plusieurs gouttes du réactif. On centrifuge (nous nous servons d'une centrifuge électrique « Ecco-Super-Rapid » de Wagner et Munz, Munich, faisant 10.000 tours à la minute, et ayant des tubes d'une contenance de 2 à 3 cc. Par ce procédé, il suffit de centrifuger quelques secondes). Après centrifugation, on aura dans le premier tube un précipité rose-lilas plus ou moins coloré suivant la concentration en glutathion; le second tube présentera une opalescence vert-clair ou un minime précipité vert pâle. Cette méthode de centrifugation offre donc un moyen de contrôle indubitable.

Il résulte de ces expériences que le réactif au nickel-nitroprussiate possède une sensibilité pour le glutathion réduit qui est 400 fois supérieure à Hopkins, 40 fois supérieure à Fleming, 20 fois supérieure à D. Zimmet (I) (ceci, en se basant sur les résultats obtenus avec le glutathion réduit pur). En outre, ce réactif, dans les conditions indiquées, ne réagit pas avec l'acétone et avec la créatinine. Il ne paraît pas non plus réagir avec la cystéine.

(Laboratoire de Physiologie et de Chimie physiologique de l'Université de Genève.)