Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 43 (1952)

Heft: 6

Artikel: Dosage du tryptophane dans les protéines pures et dans quelques denrées alimentaires d'origine animale

Autor: Portner, C. / Högl, O.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982666

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

Dosage du tryptophane dans les protéines pures et dans quelques denrées alimentaires d'origine animale

Par *C. Portner* et *O. Högl*

(Communication du Laboratoire du Service fédéral de l'hygiène publique, Berne)

Le tryptophane est un des acides aminés essentiels à la vie. Le besoin quotidien optimum pour un homme est d'après *Rose* (1942) de 1,2 g. Le besoin minimum requis pour un adulte est d'après *Sahyun* (1948) de 0,4 g. La forme naturelle sous laquelle on le trouve est le l-tryptophane. Or dans le commerce, le produit de synthèse le meilleur marché est le dl-tryptophane. *Baldwin* et *Berg* (1949) ont comparé la valeur alimentaire de ces différents produits et il ont montré que le l-tryptophane joue, dans l'alimentation, le rôle le plus important.

A titre d'indication et sous une forme schématique, le tableau 1, contient les poids de protéines et de tryptophane fournis à l'organisme si l'on considère une nourriture journalière composée de 1 litre de lait, de 120 g de viande, de 220 g de pain et de 2 œufs.

Tableau 1

Poids de protéine et de tryptophane contenus dans des aliments pouvant être facilement ingérés en 1 jour

(*Sahyun* [1948] p. 329)

	Lait	Viande	Pain	Oeufs	Total
	1 l	120 g	220 g	2 œufs	
Protéine	35,0 g	24,0 g	20,0 g	12,0 g	91,0 g
Tryptophane	0,6 g	0,3 g	0,2 g	0,2 g	1,3 g

Le tryptophane et ses produits de transformation comme l'*hétéroauxine* (*Gordon, Wildmann* [1943] et *Gordon, Nieva* [1949]), la *cynurénine* (*Witkop, Graser* [1944], *Wyss* et *Hatz* [1949] et *Heidelberger* et ses coll. [1949]), l'*acide nicotinique* (*Duncan, Sarett* [1951]), jouent un rôle important sur la croissance des plantes (*Keller* [1946]) et la formation des pigments des insectes (*Kuhn* [1941] et *Butenandt* et ses coll. [1949]).

Le manque de tryptophane produit chez les rats une vacuolation du cytoplasme, une atrophie des muscles vicéraux et cardiaques et la kératinisation de la cornée (*Adamston, Spector* [1950]). Une partie de ces effets se retrouvent chez l'homme où *Albanese* et *Buschke* (1942) et *Pearce* et ses coll. (1947) ont montré l'influence du tryptophane sur le développement des cheveux, des dents et de

la cornée alors que *Mirky* et ses coll. (1946) montrent que les protéines des chromosomes en contiennent une quantité appréciable. Notons encore que la salive des personnes possédant des dents cariées contient moins de tryptophane que celle des gens dont les dents ne sont pas cariées (*Turner, Crowell* [1947]) et que souvent dans l'organisme, à un manque en tryptophane correspond un manque en zinc (*Tsui* [1948]).

Au point de vue analytique la détermination du tryptophane contenu dans les protéines, présente quelque difficultés qui sont dues en grande partie à la destruction de cet acide aminé lors de l'hydrolyse de la protéine. Aussi dans la plupart des méthodes modernes de dosage du tryptophane, on renonce à une hydrolyse préalable et l'on se contente de disperser l'échantillon dans les réactifs.

Dans un précédent travail (à paraître dans Analytica Chimica Acta) nous avons discuté des avantages et des inconvénients des différentes méthodes de dosage colorimétrique. Actuellement, la meilleure méthode décrite est celle de *Spies* et *Chambers* (1948). Ces auteurs obtiennent la coloration bleue caractéristique du tryptophane par oxydation du complexe que forme le tryptophane avec le p-diméthyl-aminobenzaldéhyde (p-DAB) en présence d'acide sulfurique environ 19 n. La méthode est spécifique, seuls certains dérivés du tryptophane, tels que la tryptamine, l'acide indolyl-propionique, l'acide indolyl-acétique, donnent une coloration dont l'intensité et la teinte correspondent à celle du tryptophane. *Spies* et *Chambers* indiquent plusieurs modifications de leur méthode qu'ils désignent par les lettres A, B, C, D, . . . et qui diffèrent par la façon d'introduire les réactifs, la durée de réaction, la concentration en acide sulfurique du milieu et la concentration en oxydant. Suivant l'échantillon à analyser l'une ou l'autre des modifications est recommandée.

Il est difficile, en lisant la méthode de *Spies* et *Chambers* de faire un choix entre les différentes modifications indiquées. Nous avons simplifié le problème en ne décrivant qu'une seule méthode et en apportant quelques changements pour qu'elle soit adaptable aussi bien dans des cas simples (analyse du tryptophane libre) que dans des cas plus complexes (analyse du tryptophane contenu dans les protéines et les denrées alimentaires).

I. Détermination de la courbe d'étalonnage

La formation de la coloration se fait en deux temps:

1. Formation du complexe tryptophane-aldéhyde.
2. Oxydation du complexe.

Réactifs

Solution d'acide sulfurique 23,8 n. 1 litre de cette solution contient 665 cm^3 d'acide sulfurique à 95 %.

Solution de p-DAB dans l'acide sulfurique 2 n., à raison de 30 mg de p-DAB dans 1,00 cm^3 de solution. (Cette solution se conserve deux jours.)

Solution de nitrite de sodium à 1 % dans de l'eau. Avant l'emploi on dilue cette solution dans le rapport de 1 à 25. (La solution diluée doit être employée le jour même de sa préparation.)

Description de la méthode

On introduit dans un petit cylindre avec bouchon d'émeri d'environ 20 cm^3, 8,00 cm^3 d'acide sulfurique 23,8 n. et 1,00 cm^3 de la solution de p-DAB. Le mélange est refroidi à 25°.

On ajoute ensuite 1,00 cm^3 d'une solution contenant environ 100 microgrammes de tryptophane. On agite la solution contenant les réactifs et on place le cylindre à l'obscurité, dans un thermostat à la température de 24 à 26°, pendant une heure. (Formation du complexe tryptophane-aldéhyde).

On introduit alors 0,10 cm^3 d'une solution de nitrite de sodium à 0,04 %. On agite la solution. La coloration bleue apparaît. On replace le récipient, pendant 30 minutes, dans le même thermostat, pour obtenir le développement maximum de la coloration. (Oxydation du complexe).

La coloration obtenue est stable au moins un jour. La lecture de l'absorption est faite au photomètre Pulfrich (Filtre S 61 max. d'absorption 619 mmu, cuve de 1 cm d'épaisseur).

Les essais à blanc sont obtenus en ajoutant la solution de tryptophane aux autres réactifs à l'exception de la solution de p-DAB qui est remplacée par une solution de H_2SO_4 2 n.

Le procédé décrit ci-dessus correspond à la modification B de la méthode de *Spies* et *Chambers*. Nous avons cependant apporté les changements suivants:

1. Le tryptophane servant à l'étalonnage est dissous dans une solution de soude caustique n/10 au lieu d'une solution normale indiquée par *Spies* et *Chambers*. Nous avons en effet mesuré que la destruction du tryptophane pur dans des solutions de NaOH n/1 est de l'ordre de 4 % pour la première heure et de 6 % en 1 jour. De toutes façons, il est recommandé d'employer le jour même de leur préparation les solutions de bases (dans NaOH n/10) servant à l'obtention de la courbe d'étalonnage. Dans ces conditions le coefficient d'extinction obtenu avec les solutions de tryptophane correspond avec celui obtenu en introduisant le tryptophane dans les réactifs sous forme solide.
2. Après une première lecture de l'extinction on ajoute encore 0,10 cm^3 de la solution de NO_2Na, on attend 1 heure et on refait la lecture. S'il s'est produit une augmentation de l'extinction on recommence l'opération. Dans le calcul de l'extinction il faut tenir compte de la dilution produite par les adjonctions successives de nitrite de sodium. Dans l'établissement de la courbe d'étalonnage, seuls les cas où la quantité de tryptophane employée pour un essai est importante, nécessitent l'adjonction d'un supplément de nitrite de sodium.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en préparant 3 solutions de base différentes et en diluant 2 de ces solutions pour obtenir différentes concentrations en tryptophane. Les résultats sont donnés dans la figure 1 et dans le tableau 2.

Tableau 2

Extinction en fonction du poids de tryptophane contenu dans un essai

(10,10 cm³)

Tryptophane pur en mg	Extinction		
	Solution 1	Solution 2	Solution 3
0,0047	0,039	—	—
0,0188	—	0,106	—
0,0282	0,144	—	—
0,0470	0,255	0,248	—
0,0752	0,410	0,404	—
0,0940	0,506	0,506	—
0,0955	—	—	0,504
0,1220	0,639	—	—

Erreur quadratique moyenne sur 1 mesure de l'extinction pour une concentration en tryptophane supérieure à 0,03 mg / 10,10 cm³ est inférieure à 0,9 %.

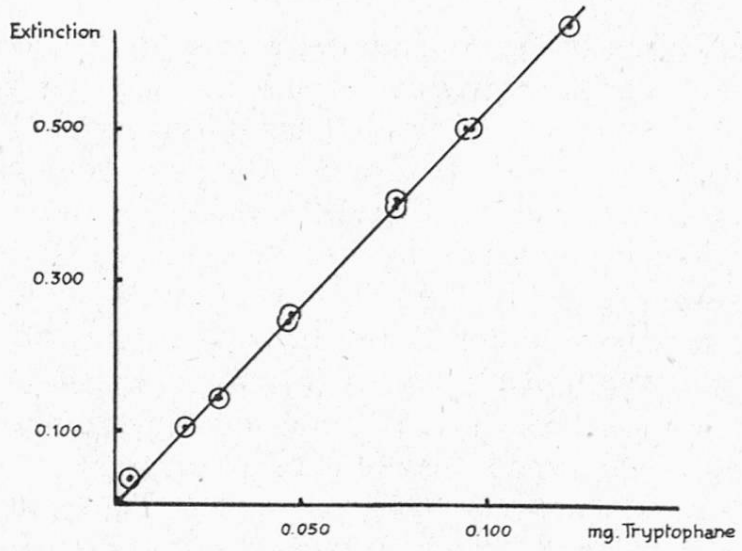

Figure 1

Dosage du tryptophane. Courbe d'étalonnage (Photomètre Pulfrich Filtre S 61 [619 mmu]. Cuve de 1 cm. Volume de la solution 10,10 cm³.)

La droite d'étalonnage passe par l'origine du système de coordonnées, la valeur du coefficient d'extinction est donc directement proportionnelle à la concentration en tryptophane. Les essais à blanc ont le même coefficient d'absorption que l'eau distillée.

II. Dosage du tryptophane libre

Théoriquement l'on entend par tryptophane libre, le tryptophane se trouvant à l'état d'acide aminé. La séparation entre les protéines et les acides aminés étant facile le dosage du tryptophane libre peut paraître simple. Or pratiquement l'on constate que dans les denrées contenant du tryptophane libre il se trouve généralement tout une série de polypeptides provenant de la dégradation des protéines, et qu'une séparation complète n'est pas possible entre les acides aminés et les polypeptides. Les précipitants les plus souvent employés sont l'acide phosqhotungstique, l'acide tungstique, l'acide trichloracétique et l'acide tannique. Comme l'indique déjà *Fischer* (1906), «les dipeptides se comportent à l'égard de l'acide phosphotungstique comme les acides aminés» c'est-à-dire qu'il ne précipite pas. «Avec l'accroissement de la longueur de la chaîne croît la tendance à la précipitation. Certains tripeptides et presque tous les tétrapeptides précipitent.» *Hiller* et *van Slyke* (1922) ont étudié l'action de plusieurs agents de précipitation sur la peptone de Witte. Après précipitation par l'acide tungstique et filtration, il reste dans le filtrat $^1/_4$ de l'azote peptidique contenu primitivement dans la peptone. Par l'emploi de l'acide trichloracétique à 5 %, il en reste les $^2/_3$.

Quelle que soit la méthode de précipitation employée, il faut se rendre compte qu'une grande partie du tryptophane dosé soit-disant sous forme de tryptophane libre peut être en réalité contenu dans la solution à l'état de polypeptides. Cette constatation incite à la prudence quant-à l'interprétation des résultats. Nous avons employé, comme *Schormuller* (1950), la méthode à l'acide trichloracétique, parce que nous n'étions pas alors au courant des travaux de *Hiller* et *van Slyke* (cités ci-dessus). La précipitation par l'acide tungstique aurait permis une précipitation plus complète des polypeptides. Remarquons maintenant, que le dosage du tryptophane libre effectué, d'une part après précipitation par l'acide tungstique et d'autre part après précipitation par l'acide trichloracétique, pourrait donner une première idée des quantités de peptides contenus dans une denrée.

A. Précipitation de la substance protéinique par l'acide trichloracétique

A 5 cm³ d'une solution contenant environ 0,5 mg de tryptophane libre on ajoute 2 cm³ d'une solution d'acide trichloracétique à 20 % (concentration finale en CCl_3COOH = 6,4 %). On laisse reposer 30 minutes puis on filtre. Le tryptophane est dosé dans le filtrat. On emploie 1,00 cm³ du filtrat pour un essai.

B. Description du dosage

Le développement de la coloration est obtenu d'une manière analogue avec la solution contenant le tryptophane libre qu'avec celle contenant le tryptophane pur. La quantité d'oxydant à ajouter ne dépend cette fois non seulement du poids de tryptophane contenu dans un essai, mais aussi des autres substances dissoutes capables de s'oxyder.

C. Remarques

Graham et ses coll. (1947) ont montré que les acides trichloracétique, perchlorique et phosphotungstique interfèrent lors du développement de la coloration obtenue au moyen du p-DAB en présence d'acide chlorhydrique. Nos mesures avec la méthode au p-DAB en présence d'acide sulfurique environ 19 n., montrent que pour une solution de tryptophane pur, l'adjonction d'acide trichloracétique jusqu'à une concentration finale d'environ 6,4 % ne modifie en rien la nature et l'intensité de la coloration.

D'après *Bernhardt* et *Rosenbloom* (1949) l'acide trichloracétique peut produire une hydrolyse de la protéine. Si bien que la durée de la précipitation ne peut pas être prolongée à volonté. *Sharma* et *Bhattacharjee* (1952) ont même montré que cette hydrolyse était plus importante pour les nucléoprotéines que pour les protéines fibreuses.

III. Dosage du tryptophane total

Le dosage du tryptophane total présente sur le dosage du tryptophane libre une difficulté supplémentaire qui est due au fait que la substance introduite dans les réactifs à l'état solide, si possible sous une forme divisée, se disperse souvent avec difficulté. Or il est indispensable que la substance soit complètement dispersée si l'on veut que la coloration de la solution corresponde à celle produite par la totalité du tryptophane contenu dans l'échantillon.

A. Dispersion de l'échantillon dans les réactifs

Bates (1937) disperse la protéine, avant le dosage, dans une solution de soude caustique n/10. Cette méthode donne de bons résultats dans le cas de la caséine, par contre pour d'autres protéines (gluten) la dispersion est loin d'être complète.

La protéine peut aussi être dispersée par un traitement dans de l'urée fondue (F. 132°). L'influence du chauffage produit, dans le cas de la caséine, une destruction d'environ le 30 % du tryptophane. Cette méthode de dispersion est donc inemployable dans le cas d'un dosage.

Spies et *Chambers* (1949) ont montrés que la dispersion de presque toutes les protéines pouvait être obtenue dans des solutions d'acide sulfurique 19 n. Le temps nécessaire jusqu'à solubilisation complète de quelques protéines étant le suivant:

β-lactoglobuline	3 à 4 h.	muscle de bœuf	4 à 5 h.
caséine	5 à 6 h.	zéine	4 à 6 h.
ovalbumine	3 h.	gélatine	0,5 à 1 h.

Cette dispersion de la protéine doit se faire en présence de p-DAB qui empêche la destruction du tryptophane. Nos mesures ont montré que sans p-DAB, le 17 % du tryptophane pur et le 37 % du tryptophane contenu dans la caséine sont détruits lors d'un séjour de 1 jour dans une solution d'acide sulfurique 19 n.

B. Description de la méthode de dosage du tryptophane total

On introduit dans un petit cylindre avec bouchon d'émeri d'environ 20 cm³, 8,00 cm³ d'acide sulfurique 23,8 n. et 1,00 cm³ de la solution de p-DAB. Le mélange est refroidi à 25°.

On ajoute ensuite directement dans le mélange la substance à doser. Par exemple s'il s'agit de fromage, on pèse un petit morceau de 30 mg (contenant environ 100 mug. de tryptophane), coupé en une lamelle très fine. Si la substance a une certaine dureté, on la broye au mortier avant de la peser et de l'introduire dans les réactifs. On ajoute ensuite 1,00 cm³ d'eau distillée ou d'une solution de NaOH n/10 (même développement final de la coloration) pour obtenir un volume de 10,00 cm³ et se placer dans les conditions établies pour la courbe d'étalonnage. Si la substance est liquide on introduit directement 1,00 de la solution concentrée ou diluée de façon que l'échantillon contienne entre 50 et 100 mug. de tryptophane. Par exemple pour le lait, un centimètre cube contenant environ 50 mug. de tryptophane, il est ajouté directement aux réactifs sans dilution ou concentration préalable.

On agite la solution et on place le cylindre à l'obscurité, dans un thermostat à la température de 24 à 26°, pendant une heure.

On introduit alors 0,10 cm³ d'une solution de nitrite de sodium à 0,04 %. On agite la solution en faisant attention que tous les fragments de la substance à doser restent immergés dans la solution des réactifs. La coloration bleue apparaît. On ne fait une première lecture de l'absorption qu'après la dispersion totale de la substance.

On ajoute seulement ensuite encore 0,10 cm³ de la solution de nitrite de sodium. On attend une heure et l'on fait une seconde lecture de l'absorption. On recommence ces opérations jusqu'à l'obtention du maximum de la coloration (voir p. 4).

C. Remarques

1. Si la solution colorée contient des substances en suspension provenant d'impuretés contenues dans l'échantillon à analyser, les solutions colorées sont filtrées ou centrifugées avant la lecture au photomètre.

2. Il est avantageux lors des premiers essais de dosage d'employer deux échantillons de poids différents, l'un pesant par exemple, les $^2/_3$ du poids de l'autre. Si l'on obtient pour les deux échantillons la même teneur en tryptophane, on peut être certain que la quantité de nitrite de sodium ajoutée a été suffisante pour développer toute la coloration. Notons en passant qu'un excès d'oxydant produit souvent une diminution de l'intensité de la coloration.
3. Il est recommandé de faire pour chaque dosage 2 essais et 2 essais à blanc. L'erreur sur les essais à blanc étant souvent importante.

IV. Dosage du tryptophane dans quelques protéines pures

Les teneurs en tryptophane sont données d'une part par rapport à la substance telle qu'on la rencontre dans le commerce c'est-à-dire non-séchée et d'autre part par rapport à la substance protéinique. Cette dernière est calculée pour toutes les protéines examinées, en multipliant la teneur en azote par 6,25. Le dosage de l'azote est effectué par la méthode de *Kjeldhal* en employant un catalyseur au sélénium, oxyde de mercure et sulfate de potassium (*Ogg, Brand, Willits* [1948]).

Tableau 3

Dosage du tryptophane dans les protéines

(% en poids par rapport à la substance non-séchée)

Protéines			Dosage du tryptophane		Littérature [1]
	Teneur en eau %	Azote %	par rapport à la subst. non-séchée	par rapport à la protéine brute N · 6,25	N · 6,25
Caséine I [2]	9,04	12,98	1,21	1,49	1,50 ± 0,1
Blanc d'œufs	12,71	12,55	1,39	1,77	1,7
Fibrine	9,88	13,94	2,96	3,39	3,4 ± 0,4
Fibroine	6,21	17,10	0,35	0,33	
Edestine	7,66	16,69	1,30	1,25	1,25 ± 0,1
Zéine techn.	6,54	14,94	0,04	0,04	0,1
Gélatine	14,00	15,10	0,002	0,002	0,0
Gluten	11,57	12,20	0,42	0,55	0,7
Plasma sanguin	11,52	10,21	1,10	1,44	1,4 ± 0,3

[1]) *Block, Bolling* (1947)

[2]) Pour trois autres caséines les résultats sont les suivants: 1,26—1,25—1,19; eau 9,38—10,51—9,37; azote 13,79—12,91 – 12,86.

La méthode donne des résultats très reproductibles. 5 dosages de tryptophane dans la caséine I, ont permis de calculer l'erreur quadratique moyenne sur la moyenne qui est de l'ordre de 0,5 %. Pour les protéines contenant de faibles teneurs en tryptophane, la reproductibilité est moins bonne ce qui est dû au fait que l'absorption de l'essai à blanc devient importante et que les fluctuations entre deux essais à blanc le sont aussi.

La concordance entre les teneurs en tryptophane que nous avons obtenues et celles fournies par la littérature est bonne.

V. Dosage du tryptophane dans les produits laitiers

Le dosage du tryptophane dans les produits de base de l'industrie alimentaire tels que le lait et la viande et dans les produits de transformation comme le lait en poudre, le fromage, les extraits de viande, peut donner des indications précises sur l'action de l'évaporation, du chauffage, du stockage, sur la stabilité du tryptophane et permettre de déceler quels sont les traitements qui peuvent produire une perte en tryptophane et par là même de la valeur nutritive des denrées.

Parmi les acides aminés contenus dans les denrées alimentaires, l'histidine, l'arginine, la lysine et la tyrosine semblent être les moins stables. D'après *Schormuller* (1951) le tryptophane semble être particulièrement résistant aux traitements thermiques. Les résultats d'analyses du tryptophane dans les produits laitiers sont donnés dans le tableau 4.

D'après les données du tableau 4 on voit que le chauffage du lait ne produit aucune modification de la teneur en tryptophane. De même l'évaporation, ne modifie pas le rapport entre le tryptophane et la substance protéinique brute. Des mesures de la conservation pendant 5 années du lait en poudre faites par *Hodson* (1950) confirme la stabilité du tryptophane. Dans les fromages d'Emmenthal et de Gruyère la teneur en tryptophane semble relativement constante quel que soit l'âge du fromage considéré. La teneur par rapport à la protéine brute se rapproche beaucoup de celle de la caséine qui constitue la presque totalité de la substance protéinique du fromage. La teneur en tryptophane libre ne semble pas augmenter avec l'âge, tout au moins pour des fromages n'ayant pas plus d'une année. Elle correspond environ au 5 % du tryptophane total.

Pour les fromages à pâte molle, la teneur en tryptophane par rapport à la protéine brute est du même ordre de grandeur que pour les fromages à pâte dure. La teneur en tryptophane du Schabzieger qui est un peu inférieure à celle des autres fromages à pâte molle paraît encore élevée si l'on considère la manière dont il est préparé. Il est cependant étonnant de constater que la teneur en tryptophane libre de tous ces fromages à pâte molle ne soit pas plus grande qu'elle n'est en réalité.

Tableau 4

Dosage du tryptophane dans des produits laitiers

(% par rapport à la substance non-séchée)

Denrée			Tryptophane total		Tryptophane libre
	Eau %	Azote %	par rapport à la subst. non-séchée %	par rapport à la protéine brute N · 6,25 %	par rapport à la subst. non-séchée %
Lait frais	—	0,45	0,050	1,8	—
Lait chauffé à 90° 15 min.	—	0,45	0,050	1,8	—
Lait en poudre	7,57	3,82	0,43	1,8	—
Fromage de Gruyère de différents âges					
6 mois	35,2	4,40	0,40	1,4	0,020
6 mois	29,2	4,56	0,42	1,5	—
8 mois	35,0	4,33	0,42	1,6	0,021
8 mois	26,3	4,55	0,40	1,4	0,020
11 mois	35,0	4,33	0,42	1,6	0,021
12 mois	35,3	4,33	0,39	1,4	0,016
13 mois	26,9	4,48	0,38	1,3	—
Fromage d'Emmenthal					
3 mois	—	—	0,40	—	0,023
5 mois	29,5	4,77	0,42	1,4	0,027
10 mois	29,3	4,75	0,41	1,4	0,024
12 mois	29,2	4,45	0,42	1,5	0,025
Limbourg pasteurisé frais					
Zone blanche centre	—	3,62	0,31	1,4	0,018
Zone jaune extérieur	—	—	0,34	—	—
Centre 5 jours plus tard	—	4,45	0,43	1,5	—
Tomme de vaches					
Centre	—	3,54	0,34	1,5	0,017
Tomme de chèvres					
Centre	49,7	2,81	0,33	1,8	0,003
Extérieur	—	—	0,24	—	—
Schabzieger	—	5,63	0,45	1,3	0,009
Caséine	9,04	12,98	1,21	1,5	—

D'après *Block* et *Bolling* (1947) la lactalbumine contient 2,3 % de tryptophane, la lactoglobuline 2,0 % (par rapport à la protéine brute).

A. Dosage du tryptophane libre formé lors de l'hydrolyse de la caséine par une solution de soude caustique n/10

La faible teneur en tryptophane libre des fromages à pâte molle, nous a incité à étudier la formation du tryptophane libre à partir de caséine, en présence de soude caustique n/10. Le rendement en tryptophane libre, par rapport au tryptophane total contenu dans le caséine, en fonction du temps, est reporté dans la figure 2.

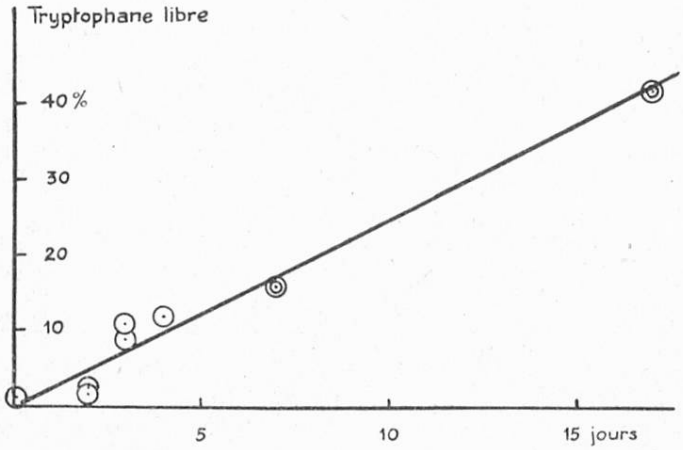

Figure 2

Production de tryptophane libre à partir de caséine dans une solution de soude caustique n/10, à la température ambiante

La formation du tryptophane libre est proportionnelle au temps. Après 15 jours, plus du 40 % du tryptophane se trouve sous forme de tryptophane libre.

VI. Dosage du tryptophane dans les extraits de viande

Nous avons pensé que les teneurs en tryptophane des extraits de levures et des extraits de viande présentent de grosses différences. Les teneurs en tryptophane des extraits de levures étant connues, nous avons analysé des extraits de viandes provenant de différents animaux et fabriqués soit industriellement soit au laboratoire. Les résultats des analyses sont donnés dans le tableau 5.

Seul, l'extrait de viande de baleine se différencie des autres extraits de viande par sa faible teneur en tryptophane. La teneur légèrement supérieure de l'extrait de viande de poule par rapport à l'extrait de viande de bœuf ne permet en aucun cas une différentiation de ces deux produits. Notons à titre de comparaison que l'extrait de levure est beaucoup plus riche en tryptophane que n'importe quel extrait de viande.

La teneur en tryptophane par rapport à la protéine brute des extraits de viande est beaucoup plus petite (environ 10 fois) que celle de la viande fraîche. Comme nous le montrerons ultérieurement cette diminution n'est pas due à une

Tableau 5

Dosage du tryptophane dans les extraits de viande

(% par rapport à la substance non-séchée)

Extrait			Tryptophane total	
	Eau %	Azote %	par rapport à la subst. non-séchée %	par rapport à la protéine brute N · 6,25 %
Liebig	15,1	9,25	0,026	0,045
Bœuf Argentine	—	8,47	0,035	0,066
Bœuf préparation [1]) faite au laborat.	50,9	5,50	0,035	0,102
Baleine Norvège	—	9,50	0,001	0,002
Poule USA	—	7,73	0,041	0,085
Poule fabr. suisse	—	10,75	0,124	0,184
Extrait de levures [2])	22,4	7,66	0,54	1,14
Produit à base d'extrait de levures	32,7	5,46	0,21	0,62
Viande de bœuf fraîche	74,1	3,65	0,22	0,96

[1]) Voir le détail de la préparation à la page 15.

[2]) Analyses effectuées par *Schormuller* (1951, p. 179) que nous avons calculées par rapport à la substance non-séchée.

destruction du tryptophane lors de la préparation de l'extrait. Elle peut provenir, en partie du moins, du fait qu'une petite partie de la substance protéinique de la viande passe dans l'extrait alors que d'autres substances azotées telles que la créatine-créatinine, les purines, sont extraites. Le calcul de la substance protéinique, obtenu en multipliant le pourcent d'azote par 6,25 donne une valeur supérieure à celle de la réalité. Il en découle ainsi directement une valeur trop petite de la teneur en tryptophane par rapport à cette substance protéinique.

Nous avons préparé un extrait de viande à partir de viande de bœuf et nous avons établi un bilan de l'opération pour le tryptophane, la matière sèche et l'azote.

A. Préparation d'un extrait de viande de bœuf

La méthode de préparation de l'extrait employée est celle de *Lebbin* (1915): 1 kg de viande hachée et 1 litre d'eau sont chauffé à 50° pendant 1 h. 3/4. On ammène ensuite rapidement la solution à ébullition. On filtre et on concentre l'extrait sous pression réduite.

Pour établir un bilan nous avons considéré les trois produits suivants: le produit de départ, la viande fraîche et les produits de la réaction: l'extrait de viande et la viande extraite. Les résultats des analyses sont donnés dans le tableau 6, alors que le bilan de l'opération se trouve dans le tableau 7.

Tableau 6

Dosage du tryptophane, de l'azote et de la matière sèche dans la viande fraîche, l'extrait de viande et la viande extraite

Echantillon			Tryptophane total		
	Eau %	Azote %	par rapport à la subst. non-séchée %	par rapport à la subst. sèche %	par rapport à la protéine brute N · 6,25 %
Viande fraîche	74,1	3,65	0,22	0,85	0,96
Extrait de viande	50,9	5,50	0,035	0,071	0,10
Viande extraite	57,8	6,30	0,40	0,95	1,05

Tableau 7

Etablissement d'un bilan pour le tryptophane, la matière sèche et l'azote lors de la préparation de l'extrait de viande

Echantillon		Bilan du tryptophane		Bilan des résidus secs		Bilan de l'azote	
	Poids de l'échantillon	% Trypt.	Poids Trypt.	%	Poids	%	Poids
1) Viande fraîche	1000 g	0 22	2,20 g	25,9	259	3,65	36,5
2) Extrait de viande	55 g	0,035	0,02 g	49,1	27	5,50	63,0
3) Viande extraite	538 g	0,40	2,15 g	42,2	227	6,20	33,4
Somme 2) + 3)	—	—	2,17 g	—	254	—	36,4

Il ressort du tableau 6 que la teneur en tryptophane de l'extrait de viande, calculée par rapport à la substance protéinique ou par rapport à la substance sèche, correspond environ au 1/10 de la teneur de la viande fraîche. Chose curieuse la viande extraite qui est le sous-produit de la réaction apparaît, par comparaison avec la viande fraîche, comme un produit enrichi en tryptophane.

Vu uniquement sous l'angle du tryptophane d'après le tableau 7, l'extrait de viande ne représente en tous cas pas une concentration de toutes les valeurs nutri-

tives de la viande fraîche, puisque seul le 1 % du tryptophane contenu primitivement dans la viande se retrouve dans l'extrait. Remarquons d'ailleurs qu'il n'a jamais été considéré comme pouvant apporter à l'organisme les substances protéiniques indispensables. Les considérations de *Steiner* (1943, pag. 24) sur les bienfaits «de l'extrait de viande qui contient dans des relations biologiques équivalentes tous les acides aminés importants et indispensables à la vie» semblent un peu utopiques si l'on considère que l'ingestion de 55 g d'extrait ne représente que le 2 % du besoin journalier en tryptophane.

Notons encore que l'on retrouve dans la somme extrait de viande + viande extraite, la totalité du tryptophane contenu primitivement dans la viande fraîche. Ce point met nettement en évidence que la *préparation de l'extrait et sa concentration ne produit aucune destruction de cet acide aminé.*

Le tryptophane étant stable, il en reste dans la viande extraite, la presque totalité. C'est pour cette raison que nous avons esquissé dans le paragraphe suivant une méthode permettant lors d'une deuxième extraction de la viande d'obtenir un extrait plus riche en tryptophane.

B. Quelques données sur la mise en valeur de la viande qui a déjà été extraite par de l'eau

Une étude complète des conditions les plus avantageuses de traitement de la viande déjà extraite à l'eau, nécessiterait la connaissance du comportement de tout une série d'acides aminés en fonction de la nature de la solution employée pour l'extraction, de sa concentration, du volume de la solution pour un poids déterminé de viande, de la durée de l'extraction et de la température. Dans le tableau 8 sont résumés quelques essais d'extraction avec une solution d'acide sulfurique n/10 et une solution de soude caustique n/10.

538 g de viande extraite une première fois avec de l'eau (correspondant à 1 kg de viande fraîche) sont traités par un volume connu de solution. Après filtration on dose le tryptophane dans le filtrat. Lors de l'extraction par des solutions de soude caustique on neutralise les solutions filtrées par l'acide chlorhydrique.

Les résultats de ces mesures sont réunis dans le tableau 8.

Tableau 8

Essais d'extraction du tryptophane de la viande déjà extraite à l'eau

Solutions	Durée de l'extraction temp. ambiante	Volume de la solution pour 538 g de viande	Résidu sec	NaCl calculé	Poids de tryptophane extrait
H_2SO_4 n/10	1 heure	10,7 l	—	—	0,00 g
NaOH n/10	10 minutes	19,1 l	147 g	132 g	0,31 g
NaOH n/10	1 heure	13,1 l	149 g	77 g	0,60 g
NaOH n/10	1 jour	11,2 l	(200-250)	—	0,55 g

La solution d'acide sulfurique ne produit pas d'extraction de tryptophane. Par contre, les solutions de soude caustique en extraient assez rapidement une quantité importante. Si l'on ajoute à un extrait de viande normal, l'extrait obtenu par un second traitement par une solution de soude caustique n/10 à la température ambiante (1 h.), on obtient à partir de 1 kg de viande fraîche un produit ayant les caractéristiques suivantes:

Extrait total 204 g. NaCl 77 g.[1]) Tryptophane 0,62 g.
% de tryptophane par rapport au résidu sec total 0,30 %.
% de tryptophane par rapport au résidu sec total moins le chlorure de sodium 0,49 %.

Ce produit tiendrait mieux compte des différentes propriétés nutritives de la viande et pourrait être considéré comme étant riche en tryptophane. Notons, en passant, que la forte teneur en NaCl de l'échantillon que nous avons préparé dépasse les limites prévues par l'ODA.

Résumé

1. Une méthode simple de dosage colorimétrique du tryptophane est décrite. Elle dérive de la méthode de *Spies* et *Chambers* à laquelle il a été apporté de petites modifications permettant d'appliquer la même méthode à la fois aux cas simples de dosage (tryptophane libre) ou aux cas plus complexes (dosage du tryptophane total dans les denrées).
2. Un certain nombres de résultats de dosage sont donnés pour quelques protéines pures et pour des produits d'origines animales (lait, produits laitiers-viande, extraits de viande).
3. Le tryptophane semble stable dans presques tous les produits laitiers.
4. La teneur en tryptophane des extraits de viandes est petite, alors qu'elle est relativement importante dans la viande fraîche et la viande qui a été extraite. Une seconde extraction de la viande, par une solution de soude caustique n/10 permet d'obtenir un nouvel extrait ayant une teneur appréciable en tryptophane.

Zusammenfassung

1. Eine einfache kolorimetrische Bestimmungsmethode für Tryptophan wird beschrieben. Sie leitet sich von der Methode von *Spies* und *Chambers* ab, an welcher gewisse Modifikationen angebracht wurden. Dadurch gelingt es, mit der gleichen Methode das freie sowie das gesamte Tryptophan in Lebensmitteln zu bestimmen.
2. Eine Anzahl von Resultaten betr. einige reine Proteine sowie einige Produkte tierischen Ursprungs (Milch, Milchprodukte, Fleisch, Fleischextrakte) wird gegeben.
3. Das Tryptophan scheint in den meisten Milchprodukten weitgehend erhalten zu bleiben.

[1]) Provenant de la neutralisation par HCl de la soude caustique employée pour l'hydrolyse.

4. Der Tryptophangehalt der Fleischextrakte ist gering, während derjenige des frischen und des extrahierten Fleisches beträchtlich ist. Eine zweite Extraktion des Fleisches mit n/10 Natronlauge erlaubt es, einen neuen Extrakt zu erhalten, welcher einen höheren Gehalt an Tryptophan aufweist.

Bibliographie

Ph. Ackermann, L. Hofstatter, B. Kountz (1949): J. Lab. Clin. Med. **34**, 234–8; C.A. **43**, 4361 d (1949).

F. B. Adamston, H. Spector (1950): Arch. Path. **49**, 173–84; C.A. **44**, 7392 f (1950).

A. A. Albanese, W. Buschke (1942): Science **95**, 584; cité par *J. Schormuller* (1951).

— , *J. E. Frankstone* (1945). J. Biol. Chem. **157**, 59–68.

H. K. Baldwin, C. P. Berg (1949): Journ. of Nutr. **39**, 203–18 (1949).

R. W. Bates (1937): J. Biol. Chem. **119**, Vii (1937).

A. Bernhardt, L. Rosenbloom (1949): Science **110**, 402; C.A. **44**, 688e (1950).

R. Block, D. Bolling (1947): The amino acid composition of proteins and foods. Ch. Thomas Publ. Springfield, Illinois. 398 p.

A. Butenandt, W. Weidel, H. Schlossberger (1949): Z. Naturforsch. **4b**, 242–4; cité par *O. Wiss* et *F. Hatz* (1949).

M. Duncan, H. P. Sarett (1951): J. Biol. Chem. **193**, 317–24.

R. J. Evans, J. A. Davidson, S. L. Brandemer, H. A. Butts (1949): Poultry Sci **28**, 697–702; C.A. **44**, 1617 g (1950).

E. Fischer (1906): Untersuchungen über Aminosäuren, polypeptide und Proteine. Verlag J. S. Springer, Berlin. 770 p.

S. A. Gordon, F. S. Nieva (1949): Arch. Biochem. **20**, 356–66, 267–85.

— , *S. G. Wildmann* (1943: J. Biol. Chem. **147**, 389–98.

C. E. Graham, E. P. Smith, S. W. Hier, D. Klein (1947): J. Biol. Chem. **168**, 711–16.

C. Heidelberger, M. E. Gulberg, A. E. Morgan, S. Lepkousky (1949); J. Biol. Chem. **179**, 151–5.

A. Hiller, D. van Slyke (1922): J. Biol. Chem. **53**, 253–67.

A. Z. Hodson (1950): Ind. eng. Chem. **42**, 694–5 (1950).

W. J. Keller (1946): Science (NY) **103**, 137; cité par *J. Schormuller* (1951).

A. Kuhn (1941): Nachr. Akad. Wiss. Göttingen Math. Phys. Klasse **1941**, 231–61; C.A. **38**, 33682 (1944).

Lebbin (1915): Neue Untersuchungen über Fleischextrakt. Hirschwald, Berlin, 64 p.

E. A. Mirky, R. W. Pollister, H. Ris (1946): Genetics **31**, 224–5; C.A. **42**, 5969 a (1948).

M. T. S. Mogens (1949): Proc. 12th. intern. Dairy Congr. (Stockholm), **2**, 849–73; C.A. **44**, 10201 f (1950).

C. L. Ogg, R. W. Brand, C. O. Willits (1948): Assoc. Off. Agr. Chem. **31**, 663–9.

A. R. Patton, E. G. Hill (1948): Science **107**, 68–9; C.A. **42**, 2318 c (1948).

— , *E. M. Foreman* (1948): Science **107**, 623–4; C.A. **42**, 6896 d (1948).

E. L. Pearce, H. E. Sauberlich, C. A. Baumann (1947): J. Biol. Chem. **168**, 271; cité par *J. Schormuller* (1951).

W. C. Rose, W. J. Haines, J. E. Jonnson (1942): J. Biol. Chem., **146**, cité par *H. B. Lewis* (1943). Handbook of nutrition, Chicago.

M. Sahyun (1948): Proteins and amino acids in nutrition. Reinhold publ. corp. N.Y. 566 p.

J. Schormuller (1950): Ztschr. Lebensm. Unters. Forsch. **90**, 337–44.
— (1951): Dtsche. Lebensm. Rundsch. **47**, 191–5.
A. K. Sharma, D. Bhattacharjee (1952): Nature (London) **169**, 417–8.
J. R. Spies, D. C. Chambers (1948): Anal. Chem. **20**, 30–9.
— (1949): Anal. Chem. **21**, 1249–66.
P. Steiner (1943): Physiologische Wirkungen und therapeutischer Wert des Fleischextraktes. Schwabe & Co., Basel. 31 p.
N. C. Turner, G. E. Growell (1947): J. dent. Research **26**, 99–104; C.A. **41**, 4563 a (1947)
Ch. Tsui (1948): Amer. Journ. Botany **35**, 172–9; C.A. **42**, 4251 f (1948).
O. Wiss, F. Hatz (1949): Helv. Chim. Acta **32**, 532–7.
B. Witkop, G. Graser (1944): Annalen **556**, 103–14.
N. Yoshida (1950): J. Japan Bioch. Soc. **22**, 234–5; C.A. **45**, 9101 c (1951).

Examen organoleptique des huiles et graisses comestibles

Par *P. Balavoine*, Genève

Les fins que l'on se propose d'atteindre en procédant à l'examen organoleptique sont de deux sortes différentes: d'une part, juger les huiles fines sur les qualités de saveur pour lesquelles elles sont estimées, d'autre part, contrôler si la substance grasse analysée est rance ou non.

Pour le premier cas, prenons l'exemple typique de l'huile d'olive, toutes les autres huiles et graisses comestibles étant réputées devoir être douces, sans saveur et sans odeur. On sait qu'il y a une multitude de sortes d'huile d'olive, dont la finesse de qualité dépend de l'origine, de la variété, du monde de récolte des fruits, du degré de maturité, etc. On trouve dans la littérature l'indication générale pour la finesse de l'huile d'olive, qu'elle a une faible saveur douçâtre et une odeur caractéristique presque nulle, agréable cependant pour le connaisseur. On fait en outre cette remarque que les huiles trop pressées sont d'autant plus âcres que la couleur est plus verte, parallèlisme intéressant. D'autre part, cependant, *Bonnet* [1]) affirme que les huiles d'olive choisies n'ont aucune saveur de fruit. Il en résulte que l'examen organoleptique doit être confié à des *connaisseurs*, d'une capacité gustative reconnue, qui procéderont soit par comparaison, soit en faisant appel à leur mémoire sensorielle et à leur expérience.

Pour la rancidité, il existe, dans la littérature, une certaine relation entre les réactions chimiques et la saveur de rance. Il faut toutefois distinguer entre les diverses espèces de rancidité, et il règne là, à mon avis, une certaine confusion.

C'est par la réaction de *Kreis* que la rancidité aldéhydique est démontrée. Le Manuel des denrées alimentaires, éd. IV, emploie indifféremment la résorcine ou la phloroglucine en concluant que la coloration rouge violacée moindre que