

# **Destruction enzymatique de l'ABIA**

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **12 (1958-1961)**

Heft 6

PDF erstellt am: **10.07.2024**

## **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.

mais on peut poser que :

$$S \text{ mm}^2 = 100 \text{ ‰}$$

par conséquent :

$$S' \text{ mm}^2 = \frac{S'}{S} \cdot 100 \text{ ‰}$$

et

$$s \text{ mm}^2 = \frac{s}{S} \cdot 100 \text{ ‰} = \frac{S - s'}{S} \cdot 100 \text{ ‰} = \left(1 - \frac{S'}{S}\right) \cdot 100 \text{ ‰}.$$

## 8. DESTRUCTION ENZYMATIQUE DE L'ABIA\*

### 8.1. Principe.

A une quantité déterminée d'extrait (on emploie le plus souvent le mélange suivant : *a*) extrait brut ... 4 ml — *b*) Sol. tampon (pH 6,1) ... 4 ml — *c*) Eau déionisée ... 8 ml), on ajoute de l'ABIA\* en solution aqueuse (4 ml d'ABIA\* à 50 µg/ml). Après une incubation variable qui se déroule dans les mêmes conditions que pour l'analyse biochromatographique (v. p. 234) on récupère l'ABIA qui n'a pas encore été détruit dans la solution, ainsi que les composés qui se sont formés par dégradation enzymatique, dans de l'éther (v. p. 226). On procède ensuite à la séparation chromatographique du mélange et on détermine la distribution du C<sup>14</sup> sur le chromatogramme (v. 249).

L'ABIA qui reste sera représenté par la teneur en C<sup>14</sup> trouvée dans les zones de Rf correspondant à l'ABIA (Rf compris entre 0,45 et 0,60) et les composés résultant de la décomposition de l'ABIA seront également caractérisés par la présence de C<sup>14</sup> sur le chromatogramme ailleurs que dans les régions où s'est accumulé l'ABIA.

### 8.2. Premiers résultats.

Ainsi qu'on l'a vu plus haut, on peut exprimer la teneur en C<sup>14</sup> de diverses façons. Pour une analyse préliminaire, on se borne à reporter, en fonction du Rf, les résultats :

- a*) en impulsions / mm (fig. 16 A) :
- b*) en mm<sup>2</sup> (planimètre) (fig. 16 B).

Ces graphiques, qui donnent la distribution du C<sup>14</sup> sur le chromatogramme en fonction de la durée d'incubation enzymatique, permettent de tirer quelques conclusions :

- 1° C'est dans une zone à peu près identique à celle où l'on avait localisé l'ABIA que se trouve, du moins pour un temps d'incubation faible, le maximum du C<sup>14</sup> décelé.

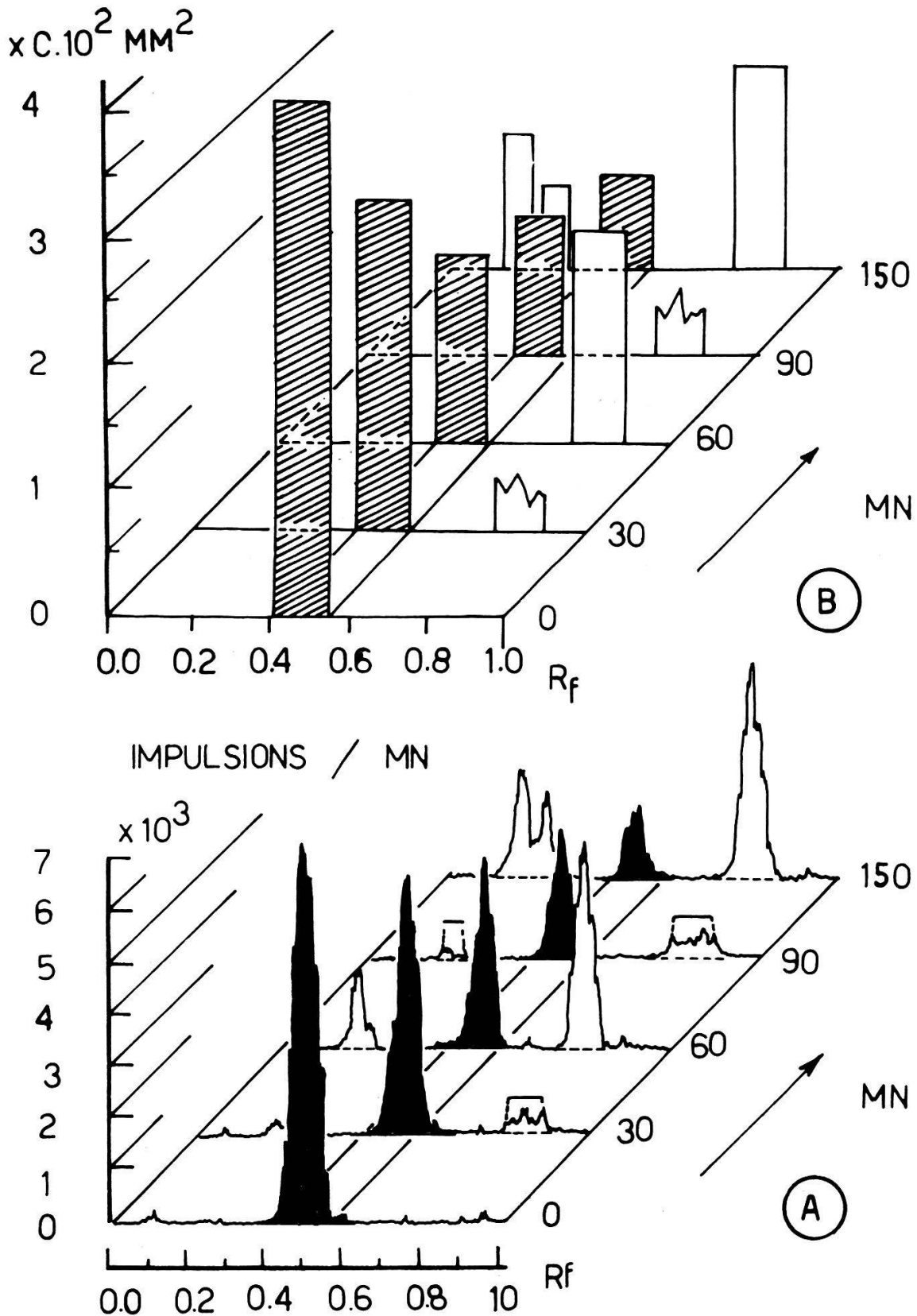


FIG. 17. — Dégradation enzymatique de l'ABIA marqué par du radiocarbonate.  
 A. Impulsions trouvées pour les diverses zones ( $R_f$  différent) du radio-chromatogramme et ceci pour divers temps d'incubation enzymatique en mn (contact de la solution d'ABIA marqué avec un extrait de nature auxines-oxydasique).  
 B. Ces impulsions sont « converties » en valeurs planimétriques ( $\text{mm}^2$ ).

- 2° Plus le temps d'incubation enzymatique augmente, moins on trouve de  $C^{14}$  dans cette zone. Ceci signifie évidemment que l'ABIA est progressivement détruit.
- 3° Parallèlement à cette réduction du taux en  $C^{14}$  dans la zone correspondant au  $R_f$  de l'ABIA, on note l'apparition de  $C^{14}$  dans d'autres régions du chromatogramme.
- 4° Ces zones qui s'« enrichissent » en composés marqués par du  $C^{14}$ , doivent donc correspondre à des produits nouveaux qui se sont formés aux dépens de l'ABIA\*. Il s'agit de véritables substances de dégradation, par voie enzymatique, de l'ABIA\*.

### 8.3. Dosages quantitatifs.

Les valeurs données en termes d'impulsions par mm, ne sont pas commodes pour la discussion des résultats. Nous avons vu plus haut (fig. 16 B) qu'on pouvait les exprimer par des mesures de surface; et nous avons dit, à propos des techniques radiochimiques, qu'il s'agissait de déterminer la surface comprise entre la courbe d'impulsions et l'axe des X (fig. 18). La mesure de cette surface se fait au planimètre, mais deux méthodes peuvent être envisagées :

1) On peut d'abord découper la courbe d'impulsion en une série de bandes (fig. 18 A) de hauteurs différentes, mais dont la largeur correspond très exactement à une zone déterminée du  $R_f$ ,

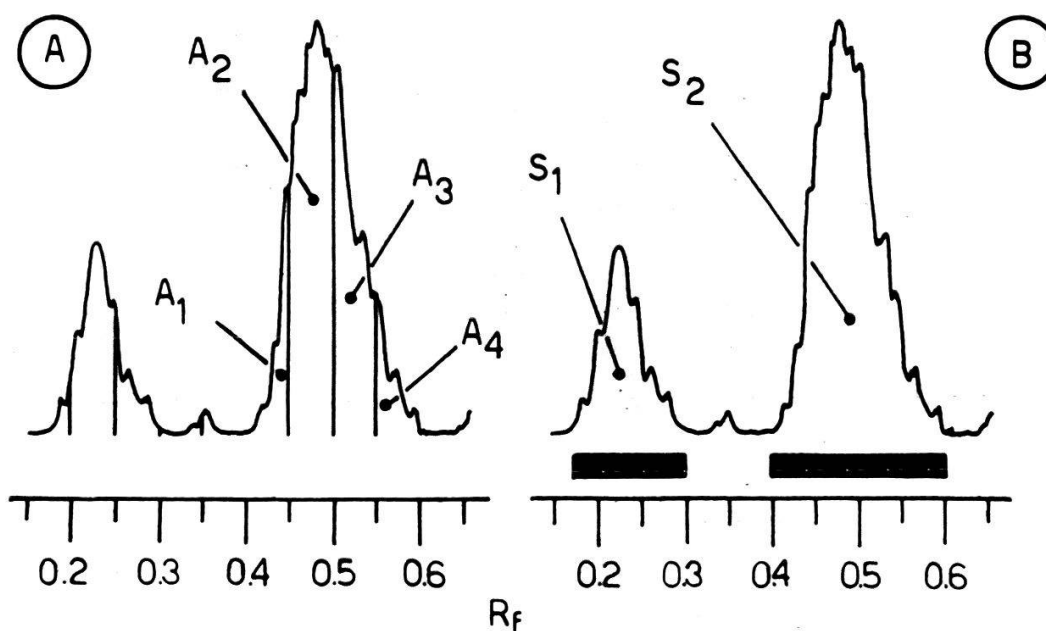


FIG. 18. — Mesures planimétriques.

- A. Chaque courbe est découpée en bandes correspondant à un  $R_f$  donné et dont on mesure la surface partielle ( $A_1, A_2, A_3, A_4$ ).
- B. Chaque zone, correspondant à une substance déterminée, est exprimée par une surface particulière (par exemple  $S_2$ ).

$$\text{Dans ce cas : } S_2 \cong A_1 + A_2 + A_3 + A_4.$$

TABLEAU 7.

## Dosages radiochromatographiques

ABIA détruit par des extraits auxines-oxydasiques  
(pointes (6 mm) de racines de 18 mm de longueur)  
Valeurs planimétriques (en mm<sup>2</sup>) par « unité » de Rf.

Rf	Temps d'incubation (minutes)		
	0	60	150
0,00 - 0,05	2	0	0
0,05 - 0,10	1	2	0
0,10 - 0,15	3	6	12
0,15 - 0,20	1	27	80
0,20 - 0,25	0	8	16
0,25 - 0,30	2	9	12
0,30 - 0,35	0	5	29
0,35 - 0,40	4	2	1
0,40 - 0,45	72	24	13
0,45 - 0,50 <sup>(1)</sup>	310	103	31
0,50 - 0,55	68	40	10
0,55 - 0,60	9	6	7
0,60 - 0,65	3	1	0
0,65 - 0,70	0	3	2
0,70 - 0,75	2	2	4
0,75 - 0,80	1	53	31
0,80 - 0,85	3	112	77
0,85 - 0,90	4	29	54
0,90 - 0,95	2	1	3
0,95 - 1,00	1	0	2

(1) ABIA\*

par exemple, de 0,00 à 0,05 — 0,05 à 0,10 ... 0,95 à 1,00. Le chromatogramme est ainsi découpé en 20 parties, chacune étant définie par une surface particulière. Cette méthode est évidemment à rapprocher de la technique biochromatographique dans laquelle nous découpons, pour l'éluion, le chromatogramme en 20 parties égales dont on déterminait la teneur en facteurs actifs sur la croissance.

2) Lorsqu'on examine les courbes d'impulsions, on voit très facilement un certain nombre de « pics » qui correspondent chacun à

une substance ou à un groupe de produits caractérisés par un Rf identique. Au lieu de découper la courbe et de donner la valeur de la surface pour chaque zone de Rf, on peut alors mesurer la surface correspondant à ces produits et qui s'étale sur plusieurs « unités » de Rf) (fig. 18 B). Chaque substance séparée se trouvera ainsi caractérisée par une surface déterminée.

TABLEAU 8.

Distribution du C<sup>14</sup> (mesures planimétriques (S en mm<sup>2</sup>) et valeurs en %) en fonction du Rf et de la durée de l'incubation enzymatique (T en mn)

Extrait enzymatique : pointes (6 mm) de racines de 18 mm.

T	Mesures	ABIA	Prod. de dégradation			Total	Δ <sup>(1)</sup>
			I	II	III		
0	S	450	0	0	0	450	0
	%	100	0	0	0	100	0
30	S	351	59	14	9	432	16
	%	78	13	3	2	96	4
60	S	167	194	41	14	416	34
	%	37	43	9	3	92	8
90	S	104	167	104	23	398	52
	%	23	37	23	5	88	12
120	S	90	135	108	59	392	58
	%	20	30	24	13	87	13
150	S	54	162	108	41	365	85
	%	12	36	24	9	81	19

(1) Δ = Différence entre le total des valeurs initiales et celui qui a été calculé au temps T.

Le premier mode de représentation n'est pas très précis, il présente aussi le gros inconvénient de ne pas faciliter la « lecture » des résultats. Cette méthode est en outre relativement longue, car au lieu de mesurer planimétriquement quatre ou cinq surfaces assez grandes, il faut déterminer vingt surfaces, dont quelques-unes très petites. Toutefois, dans le tableau 7, nous donnerons quelques-uns des résultats obtenus à l'aide de cette technique de mesure.

Le second mode de représentation est plus rapide, plus simple, plus précis et surtout plus commode pour la discussion des valeurs

trouvées. Nous donnerons dans le tableau 8 les résultats obtenus de cette façon. Nous y avons ajouté les valeurs en % calculées comme on l'a indiqué plus haut (v. p. 252).

Ces deux tableaux, le second surtout, nous permettent les quelques remarques suivantes :

1. La dégradation enzymatique de l'ABIA s'accompagne d'une formation régulière de trois catégories de substances dont nous parlerons plus loin.

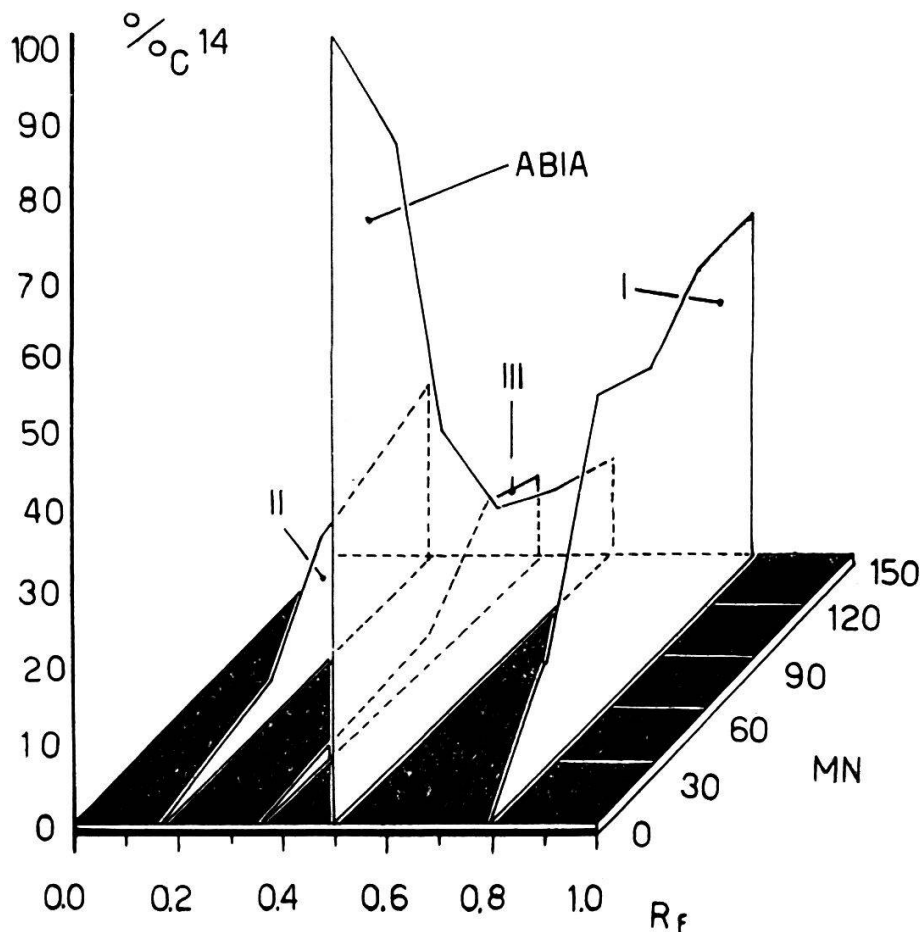


FIG. 19. — Concentration relative (exprimée en % de C<sup>14</sup>) pour divers composés (I, II et III) formés à partir de l'ABIA marqué. Chacun de ces corps se trouve caractérisé par un R<sub>f</sub> moyen. L'apparition de ces produits et la dégradation de l'ABIA sont donnés en fonction de la durée de l'incubation enzymatique (de 0 à 150 mn).

2. En fixant arbitrairement à 100 le taux en C<sup>14</sup> pour de l'ABIA non dégradé, on constate que plus le temps d'incubation augmente, plus le total de tout le C<sup>14</sup> étalé sur le chromatogramme s'éloigne de 100. On peut attribuer cette différence qui, après 150 mn d'incubation, atteint 19 %, au fait que d'autres composés se forment : les causes d'erreurs augmentent aussi sensiblement. Ajoutons que l'expérience étant évidemment plus longue si l'incubation se prolonge, les pertes de tout

ordre (malgré les corrections apportées aux valeurs définitives) s'accroissent dans la même mesure.

Ces résultats peuvent être donnés encore sous une autre forme qui mettra mieux en évidence, en fonction de la durée d'incubation et pour divers Rf, la transformation de l'ABIA\* en composés également porteurs de C<sup>14</sup> (fig. 19). On peut voir qu'après 150 mn d'incubation, certains produits au Rf différent de celui de l'ABIA sont plus abondants que cette substance. Nous reparlerons plus loin de ces composés.

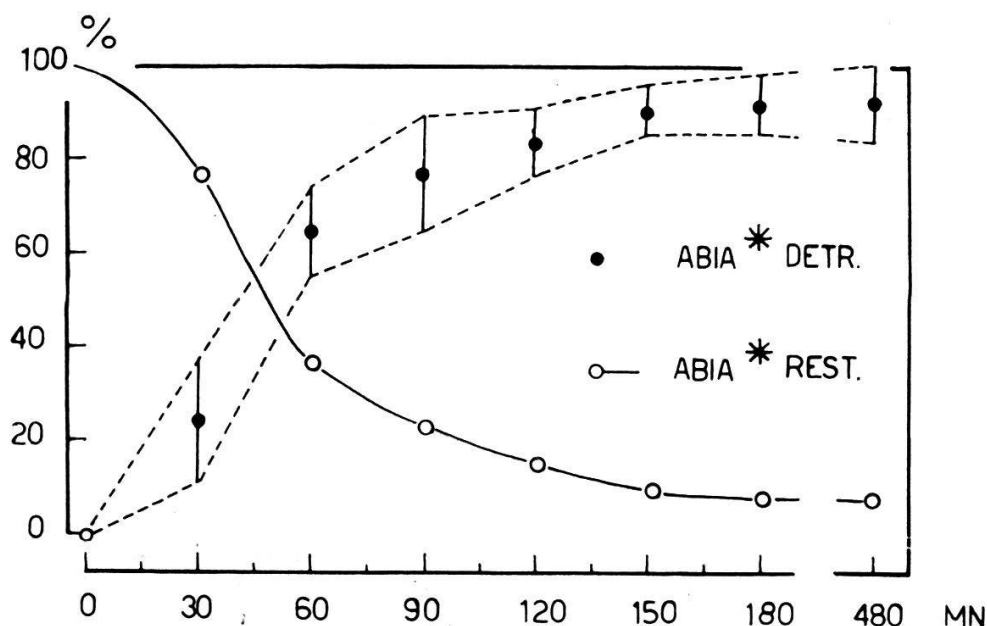


FIG. 20. — Destruction de l'ABIA marqué en fonction de la durée d'incubation enzymatique (de 0 à 480 mn). Les résultats sont donnés en % et calculés à partir des valeurs trouvées précédemment (v. FIG. 19).

#### 8. 4. Dégradation de l'ABIA.

Si l'on suit la dégradation de l'ABIA\* en fonction du temps (fig. 20) en mesurant la quantité (donnée en % de C<sup>14</sup>) d'ABIA\* qui reste sur le chromatogramme, on peut constater que l'inactivation de cette substance est particulièrement rapide au début du traitement par l'extrait enzymatique. On peut alors introduire la *vitesse de dégradation de l'ABIA* qu'on calculera de la façon suivante :

- 1° L'ABIA\* est rapporté en % de C<sup>14</sup> par unité de poids frais de l'extrait enzymatique.
- 2° A partir des valeurs qui donnent la quantité d'ABIA\* restant dans la solution c'est-à-dire celle qu'on peut évaluer sur le chromatogramme au Rf correspondant, nous déterminons, toutes les 5 mn, la concentration de l'ABIA disparu.
- 3° On a donc  $\frac{dc}{dt}$  = vitesse de dégradation.



4° Pour éviter d'utiliser des valeurs en %, on exprimera la teneur relative en ABIA en fonction d'une constante N.

Les résultats de ces calculs sont donnés dans la fig. 21 et on peut, à ce propos, faire les remarques suivantes :

- 1° Pendant les 30 premières minutes d'incubation, la destruction enzymatique de l'ABIA\* est relativement lente; la vitesse de dégradation augmente toutefois rapidement avec le temps d'incubation.
- 2° C'est pendant les 15 minutes (de 30 à 45 mn) qui suivent que la destruction est la plus intense; la vitesse de dégradation atteint sa valeur maximum.

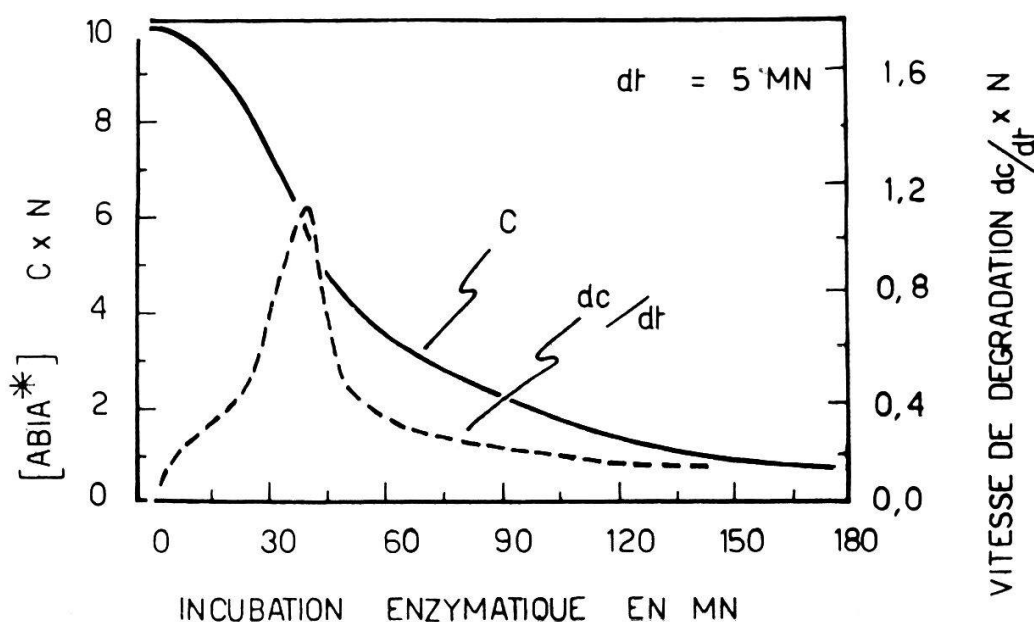


FIG. 21. — Dégradation enzymatique de l'ABIA marqué donnée en valeurs absolues (C) et en termes de vitesse de destruction ( $dc/dt$ ) en fonction de la durée d'incubation enzymatique (en mn).}

- 3° Puis pendant les nouvelles 30 minutes (de 45 à 75), la décomposition de l'ABIA\* reste importante tout en diminuant sensiblement; la vitesse de dégradation est progressivement réduite.
- 4° Enfin, dès que la durée d'incubation dépasse 75 minutes, la destruction de l'ABIA est fortement ralentie et la vitesse de dégradation devient constante, tout en étant très faible.

### 8.5. Produits de dégradation.

Dans les résultats précédents (v. tableaux 7 et 8 et fig. 19), nous avons déjà pu constater que la décomposition de l'ABIA, sous l'action de systèmes enzymatiques s'accompagnait de l'apparition de trois ca-

tégories de substances distinctes. La fig. 22 nous permettra de mieux comprendre l'importance relative de ces corps.

Il est évidemment difficile, pour le moment, d'affirmer si ces composés sont des substances simples ou au contraire diverses substances dont le Rf serait semblable. Pour simplifier la discussion, nous admettons qu'il s'agit de trois « produits » que nous pouvons caractériser ainsi (tableau 9).

TABLEAU 9.

Rf de l'ABIA\*, des produits de dégradation enzymatique de l'ABIA\* et de quelques composés indoliques

Séparation par chromatographie descendante (25°C); solvant :  
80 % isopropanol — 10 % NH<sub>3</sub> à 28 % — 10 % H<sub>2</sub>O.

Composés	Rf		
	Inférieur	Supérieur	Moyen
ABIA*	0,41	0,53	0,46
Produit I	0,75	0,90	0,83
» II	0,10	0,25	0,18
» III	0,25	0,35	0,30
Ac. $\beta$ -indolyl-propionique	0,43	0,55	0,49
Ac. $\beta$ -indolyl-butyrique	0,50	0,64	0,57
$\beta$ -indolyl-acétonitrile	0,75	0,89	0,82
$\beta$ -indolyl-aldéhyde	0,80	0,96	0,88
Tryptophane	0,23	0,27	0,25
Tryptamine	0,69	0,81	0,75
Indole	0,91	0,99	0,95
Scatole	0,95	0,99	0,97

1° *Produit I* — Rf de 0,75 à 0,90.

Ce produit apparaît immédiatement au moment où l'ABIA commence à se dégrader. Après une incubation enzymatique de 60 mn approximativement, ce produit est plus abondant même que l'ABIA et sa concentration relative va rester constante pendant une période relativement grande alors que celle de l'ABIA continue à diminuer progressivement.

2° *Produit II* — Rf de 0,10 à 0,25.

Ce produit semble se former également assez tôt, il est toutefois moins abondant que le précédent. C'est après une incubation de l'ordre de 105 mn que sa concentration dépasse celle de l'ABIA.

3° *Produit III* — Rf de 0,25 à 0,35.

Ce produit est toujours peu abondant et jamais sa concentration n'est supérieure à celle de l'ABIA.

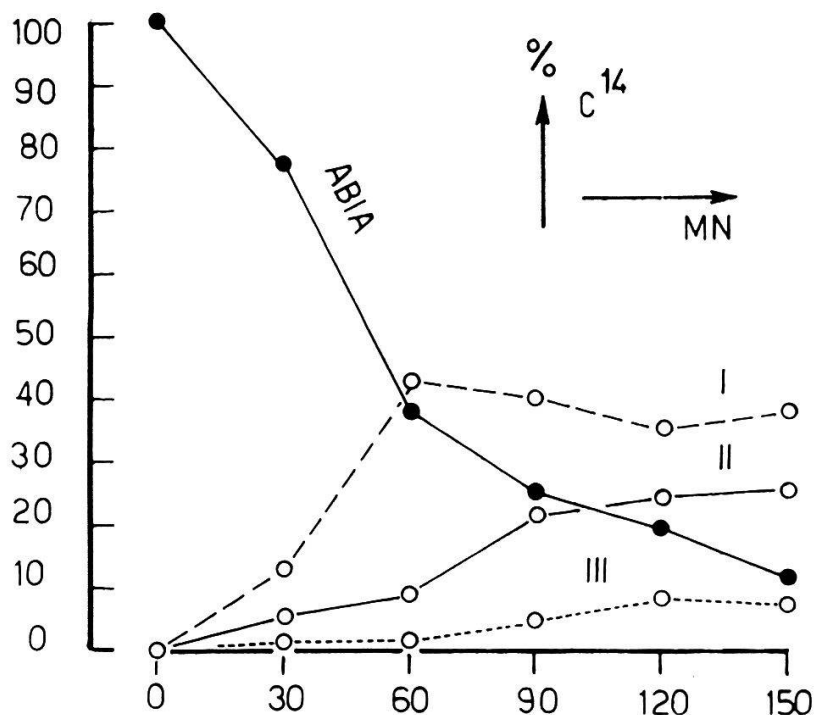


FIG. 22. — Concentration relative de l'ABIA et des composés (I, II et III) résultant de sa dégradation (en % de  $C^{14}$ ) en fonction de la durée de l'incubation enzymatique (en mn.)

Quelle est la nature chimique des trois produits que nous avons mis en évidence ? Il est tout d'abord très clair que les produits I, II et III dérivent directement ou indirectement (v. discussion) de l'ABIA marqué, puisque, tous les trois, ils contiennent également du radiocarbone.

Le produit I semble être de la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde, et ceci confirmerait les observations de RACUSEN (1955), tout en étant en contradiction avec celles de MANNING et GALSTON (1956). Nous avons identifié ce produit en faisant les observations suivantes :

- a) Le produit I, isolé par radiochromatographie, a le même Rf approximativement que la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde (séparée par chromatographie avec un solvant identique et dans de mêmes conditions).

- b) Ce produit I doit être un composé indolique, il donne (par analyse directement sur le papier ou après élution) une coloration positive avec les trois réactifs suivants :

Réactif de Salkowski ( $H_2SO_4$  et  $FeCl_3$ )  
 Réactif d'Ehrlich (HCl et p-diméthylaminobenzaldéhyde)  
 Réactif d'Hopkins-Cole ( $H_2SO_4$  et acide glyoxylique).

- c) Ce produit I enfin est certainement une aldéhyde. Après élution, il a été recueilli et traité par le réactif suivant : la p-rosaniline hydrochlorique décolorée par  $H_2SO_3$ . En présence de mélange incolore, les aldéhydes donnent une coloration rouge-pourpre (formation de composés quinoïdiques) qui ne peut être confondue avec la coloration prise par la fuchsine. Or nous avons obtenu une telle coloration.

Les produits II et III sont différents des substances que MANNING et GALSTON (1955) ont signalées. Avec un solvant chromatographique identique, les Rf de ces corps sont très différents (GALSTON trouvait respectivement 0,91 et 0,94). Pourtant, il n'est pas impossible que les produits II et III ne soient tout de même des composés voisins de l'o-formamido-acétophénone et de l'o-amino-acétophénone.

Il est certain, en effet, que ces substances ne sont pas de nature indolique. L'emploi des réactifs précédents, sur les papiers chromatographiques et dans les zones où se sont accumulées ces substances, n'a donné aucune coloration. On pourrait toutefois remarquer que ces produits sont trop dilués pour que le réactif chimique puisse les révéler. Mais, nous avons concentré trois fois (élution) ces substances sans pouvoir obtenir de résultats positifs.

## 8. 6. Discussion.

Comme on vient de le voir, les produits I, II et III, également marqués par du  $C^{14}$ , proviennent sans aucun doute de l'ABIA qui est, en fait, la seule « source » de radiocarbone. A première vue, on peut admettre que toutes ces substances dérivent directement de l'ABIA; pourtant cette conclusion n'est pas, comme on va le voir, aussi sûre qu'elle le paraît.

Le produit I qui semble bien être la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde, peut être considéré comme le produit le plus important qui résulte de la dégradation de l'ABIA marqué, sous l'action d'un système auxines-oxydasique. Si l'on se rapporte aux valeurs données en % de  $C^{14}$ , on peut constater que la disparition de l'ABIA est immédiatement suivie par l'apparition du produit I. Il est clair que cette substance dérive directement de l'ABIA. Cependant si l'on établit un bilan du  $C^{14}$  tout le long du chromatogramme et si l'on tient compte des

pertes inévitables le long du papier, on doit constater que la concentration de l'ABIA détruit est nettement supérieure à celle du produit I formé. Il faut donc admettre que l'ABIA donne encore, parallèlement, mais dans une moindre mesure, des composés distincts du produit I. C'est bien ce que montre l'analyse radiochromatographique qui permet de mettre en évidence les produits II et III.

Ces produits II et III ne paraissent pas être des composés indoliques et l'on est donc obligé d'admettre que l'ABIA se dégrade non seulement par des modifications de sa chaîne (décarboxylation oxydative) mais encore par des changements appréciables dans son noyau (destruction du cycle pyrrole).

Si l'on suit, en fonction de la durée de l'incubation, la genèse du produit I, on constate que la vitesse de formation de cette substance coïncide à peu près avec celle qui traduit la dégradation de l'ABIA. Cette observation semble indiquer que cette voie de décomposition de l'ABIA est certainement la plus importante, du moins pour les premières phases de destruction, par voie enzymatique, de l'ABIA.

Pourtant, au bout d'un certain temps, alors que l'ABIA continue à être décomposé régulièrement, la concentration relative du produit I cesse pratiquement d'augmenter, sa vitesse de synthèse (nous devrions écrire d'apparition) devient constante. Comment expliquer ce phénomène ?

On peut admettre tout d'abord, que la formation de ce produit I est réellement réduite. Mais comme la décomposition de l'ABIA n'est que faiblement diminuée, il faut alors supposer que la synthèse, à partir de l'ABIA, de substances différentes s'accroît. C'est bien ce que montre l'expérience puisqu'on constate que la concentration relative des produits II et III augmente.

Cette hypothèse est pourtant difficilement soutenable, car on a peine à envisager en première analyse, qu'un système enzymatique se mette à dégrader d'une autre façon un substrat resté identique. Il est vrai qu'on pourrait faire intervenir ici des processus d'induction enzymatique (PILET, 1959 c)<sup>12</sup>. Mais une autre solution à ce problème nous paraît plus probable.

On pourrait imaginer que le produit I continue tout simplement à se former, à partir de l'ABIA, comme dans les premières phases de l'incubation enzymatique. Il faut alors supposer que parallèle-

<sup>12</sup> Par induction, nous entendons une adaptation de l'enzyme soit à la concentration de son substrat, soit à la nature chimique de ce substrat. Il est clair que l'apparition de substances de dégradation de l'ABIA (la  $\beta$ -indolylaldéhyde par exemple) peut être considérée comme une modification du substrat auxines-oxydasique.

ment, peut-être sous l'action des mêmes systèmes enzymatiques, il se dégrade lui aussi. Dans ce cas, rien ne nous empêche d'admettre que les produits II et III résulteraient non seulement de la décomposition de l'ABIA, mais pourraient se former aussi aux dépens du produit I.

La dégradation de l'ABIA se déroulerait ainsi en deux étapes :

- 1) raccourcissement de la chaîne latérale avec formation de la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde (produit I);
- 2) dégradation du noyau (décyclisation du pyrrole) avec formation soit directement à partir d'ABIA, soit (ce qui est plus probable) aux dépens du produit I, des produits II et III.

## 9. COMPARAISON DES TECHNIQUES

Nous nous proposons de comparer les différentes techniques précédemment examinées avec la méthode radiochromatographique. Mais remarquons tout d'abord que l'ABIA marqué par du  $C^{14}$  (ABIA\*) étant une substance coûteuse, dans bien des cas nous nous sommes bornés à travailler sur l'ABIA non marqué. Il était indispensable de s'assurer si, du point de vue réaction chimique (test de coloration au réactif de Salkowski modifié, v. p. 219) ou biologique (dosage colorimétrique de l'activité enzymatique) l'ABIA\* se comportait comme l'ABIA non marqué.

### 9.1. ABIA\* et ABIA.

Nous avons dit que nous disposions de deux types d'ABIA\* :

1° l'ABIA\*<sub>(1)</sub>: acide  $\beta$ -indolyl-acétique [ $C^{14} \alpha$ ]

2° l'ABIA\*<sub>(2)</sub>: acide  $\beta$ -indolyl-acétique [ $C^{14} \alpha'$ ]

Seule la première de ces deux substances est employée dans le dosage radiochromatographique. Nous utiliserons, pour ces essais comparatifs, simultanément les trois produits.

#### 9.1.1. RECHERCHE DU COEFFICIENT COLORIMÉTRIQUE.

Nous préparons des solutions aqueuses d'ABIA, et à l'aide du réactif décrit plus haut, nous déterminons au colorimètre de Klett-Summerson, le développement de la coloration (rouge) prise par la solution. Les résultats contenus dans le tableau 10 nous permettent les remarques suivantes :

1. Il n'y a pratiquement aucune différence dans les valeurs données au colorimètre, après coloration par le réactif entre de l'ABIA et de l'ABIA\*<sub>(2)</sub>.
2. Les coefficients colorimétriques de solution d'ABIA\*<sub>(1)</sub> sont en général plus faibles que ceux des solutions d'ABIA et d'ABIA\*<sub>(2)</sub>.