

27. Recherches sur la catalase du *Phaseolus vulgaris*

par O. T. Rotini.

(15 XII 44)

Ce travail fait suite à une série de recherches sur l'activité des catalases, effectuées au Laboratoire de recherches sur les fermentations «Lazzaro Spallanzani» de l'Université royale de Milan¹⁻⁹). Dans plusieurs de ces travaux, nous avons montré qu'il est possible d'obtenir une classification des catalases, en prenant pour point de départ la valeur de l'énergie d'activation de la décomposition de l'eau oxygénée. Parmi les nombreuses publications sur le mécanisme des réactions catalasiques, nous citerons la détermination par E. Nordefeldt¹⁰), de l'énergie d'activation de la réaction provoquée par la catalase de la graisse.

Nos recherches sur la catalase des semences de citrouille⁶) avaient démontré que l'énergie d'activation (appelée aussi «énergie critique relative») est, dans ce cas, de 9450 ± 160 calories pour la décomposition de l'eau oxygénée par la catalase de la semence au repos, alors que la valeur obtenue avec la catalase de la semence germinée est de 8750 ± 210 . La différence est de 700 ± 260 , valeur nettement significative puisqu'elle est trois fois plus grande que l'erreur probable.

La présente recherche se rapporte à la catalase contenue dans les semences d'une variété de *Phaseolus vulgaris*, le Haricot nain *Lecerf*. Les mesures, portant d'une part sur de la semence au repos, d'autre part sur la semence en germination, donnent des résultats analogues à ceux que nous avons constatés pour la semence de

¹) Voir: Annali del Laboratorio di Ricerche sulle Fermentazioni «Lazzaro Spallanzani» 1 (1930), 2 (1931), 3 (1935), 4 (1937), 5 (1940).

²) O. T. Rotini: Ricerche sopra un gruppo di catalasi: Annali Spallanzani 2, 129 (1931).

³) O. T. Rotini et F. Snassel: A ferrihidroxiid hidrogénperoxydbonto katasa; Mag. Chem. Folyoirat 39, 65 (1933).

⁴) O. T. Rotini et A. Fabris: Ricerche sulle attività enzimatiche a bassa temperatura. II. Le Catalasi. Annali Spallanzani 2, 477 (1931).

⁵) O. T. Rotini: Indagini sopra un gruppo di catalasi. Giorn. Chim. ind. appl. 14, 456 (1932).

⁶) O. T. Rotini: Sopra il meccanismo di azione della catalasi dei semi di zucca. Annali Spallanzani 4, 57 (1937).

⁷) P. Parisi: La catalasi del latte vaccino. Annali Spallanzani 2, 105 (1931).

⁸) O. T. Rotini et F. Snassel: Über die Giftwirkung von NaNO_2 auf die Katalase von Rinderblut. Fermentf. 13, 449 (1933).

⁹) O. T. Rotini et F. Snassel: Sopra il potere catalasico del terreno. Annali Spallanzani 2, 333 et 353 (1931).

¹⁰) E. Nordefeldt: Bioch. Z. 109, 2036 (1920).

citrouille. Pendant la germination, non seulement l'«activité catalasique brute» (c. à d. la quantité de catalase) augmente, mais aussi l'«activité catalasique vraie» (ce qui correspond à une diminution de l'énergie d'activation).

L'«activité catalasique brute» est mesurée par la constante de vitesse k de la décomposition de l'eau oxygénée (réaction du 1er ordre). La table suivante (résumé de l'expérience N° 3), ainsi que la figure 1, montrent comment la constante de vitesse varie en fonction de la durée de la germination, les autres conditions restant les mêmes.

Jours de germination	Constante de vitesse $k \times 10^4$
0 (au repos)	146
3	441
5	564
7	603

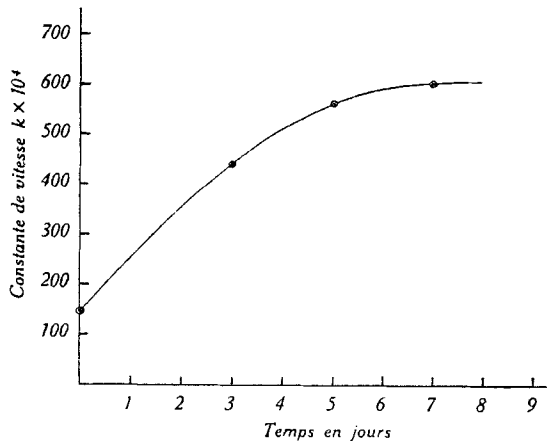


Fig. 1.

Activité catalasique des semences du *Phaseolus vulgaris* pendant la germination.

Il résulte de l'examen de la figure et des données numériques qui s'y rapportent, que l'«activité catalasique brute» augmente avec la durée de la germination. Elle atteint une valeur à peu près stationnaire après 7 jours environ; elle est alors cinq fois plus grande que celle des semences au repos.

Nous avons déterminé, d'autre part, l'énergie d'activation (activité catalasique vraie) de la réaction catalasique obtenue au moyen des extraits de semence de *Phaseolus vulgaris* au repos et en germination. Ces mesures ont été répétées de nombreuses fois

afin d'évaluer les erreurs probables correspondantes. Les résultats sont contenus dans la Table 1, résumé de la Table 3. Pour les semences au repos, l'énergie d'activation est de 6100 ± 400 calories; pour les semences en germination, elle est de 4400 ± 400 calories. La différence entre ces deux valeurs est de 1700 ± 560 ; elle est trois fois plus grande que l'erreur probable et est ainsi nettement significative.

Table 1.
Energie d'activation de la réaction catalasique produite par les semences du «Phaseolus vulgaris».

Semences germinées					Semences en repos			
Expér. N°	Jours germin.	Tempér. en °C	Const. de vit. $k \times 10^4$	Energ. d'activ. A	Expér. N°	Tempér. en °C	Const. de vit. $k \times 10^4$	Energ. d'activ. A
4	7	9,3	223	4980	1	8,4	381	5790
		14,3	268			14,4	472	
5	7	9,2	271	4240	2	8,5	406	5850
		14,2	310			15,5	522	
8	7	9,5	249	4970	6	9,4	357	5300
		14,8	293			14,6	424	
10	3	9,7	312	3750	7	9,5	320	5860
		15,0	353			14,6	383	
12	3	9,6	200	4780	9	9,9	326	7420
		14,8	233			14,7	406	
13	3	9,8	225	4370	11	9,6	376	5630
		15,0	260			14,6	447	
14	3	9,7	216	3150	17	9,6	355	6460
		16,5	248			14,4	431	
15	5	9,9	616	4785	18	9,6	338	6190
		13,8	691			14,6	409	
16	5	9,9	613	4695	19	10,0	303	5660
		13,9	689			15,0	361	
moyenne 4410 ± 400					20	9,9	288	6610
						15,2	357	
					moyenne 6080 ± 400			
$\Delta A = 1670 \pm 560$								

Il ressort de l'ensemble de ces résultats que l'«activité catalasique brute» et l'«activité catalasique vraie» augmentent toutes deux pendant la germination. L'augmentation de l'«activité catalasique vraie» (diminution de l'énergie d'activation) signifie que les caractéristiques particulières du mécanisme de la réaction sont modifiées.

Pour situer cette recherche dans l'ensemble des travaux qui ont été effectués dans ce domaine, nous avons reporté dans la Table 2 les résultats obtenus pour les différents agents catalasiques étudiés par nous-même ou d'autres auteurs. Les catalases sont disposées dans l'ordre des valeurs croissantes des énergies d'activation. Ce classement met en évidence des discontinuités entre divers groupes de catalases.

Table 2.

Constantes cinétiques de la réaction de décomposition de l'eau oxygénée produite par diverses catalases.

	Valeur de l'énergie critique relative	Observateurs
1. Catalase des semences du <i>Phaseolus vulgaris</i> germées	4414 ± 401	<i>O. T. Rotini</i>
2. Catalase des ferments lactiques spontanés	4600	<i>P. Parisi</i>
3. Cat. des semences du <i>P. v.</i> en repos	6076 ± 400	<i>O. T. Rotini</i>
4. Cat. du « <i>Penicillium glaucum</i> »	6866	<i>O. T. Rotini</i>
5. Cat. de la graisse de porc	6800	{ <i>E. Nordejeldt,</i> <i>O. T. Rotini</i>
6. Cat. du « <i>Pus streptococcique</i> »	6900	<i>O. T. Rotini</i>
7. Cat. du sang.	7000	{ <i>G. Senter,</i> <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
8. Hémoglobine.	7100	<i>O. T. Rotini</i>
9. Cat. du foie de bœuf	7200	<i>O. T. Rotini</i>
10. Cat. des semences de citrouille germées	8750 ± 210	{ <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
11. Cat. des semences de citrouille en repos	9500 ± 160	{ <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
12. Hydroxyde de fer(III) chauffé à 180°	9700 ± 570	{ <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel,</i> <i>G. Lemoine</i>
13. Hydroxyde de fer(III)	12100 ± 600	{ <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
14. Cat. ferments lactiques diplococciques	12450	<i>P. Parisi</i>
15. Ions iode	12800	{ <i>J. H. Walton,</i> <i>O. T. Rotini</i>
16. Bioxyde de manganèse	13000	{ <i>G. Bredig,</i> <i>A. Marck, Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
17. Cat. du colostre de vache	13500	<i>P. Parisi</i>
18. Hydroxyde de fer(III) vieilli	14250 ± 770	{ <i>O. T. Rotini,</i> <i>F. Snassel</i>
19. Cat. du lait de vache	14610	<i>P. Parisi</i>

Partie expérimentale.

La germination des semences a été effectuée à 25° C; les semences germées ont été ramenées à leur teneur en eau primitive, en les maintenant quelque temps, à la température ordinaire, dans un exsiccateur à acide sulfurique.

L'extrait d'enzyme se prépare en broyant 1 gr. de semence (au repos ou en germination, suivant les cas) dans 10 cm³ d'une solution de glycérine à 20%. L'extrait glycérique, filtré sur toile, est mélangé à 100 cm³ de substratum; le mélange est immédiatement soumis aux mesures.

Table 3.

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	log $\frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 1. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos.</i>				
100 cm ³ de substratum.				
8,4° C.				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	10,0	34,0	0,114	379
6'	7,7	26,2	0,228	379
9'	6,0	20,4	0,336	373
12'	4,6	15,6	0,451	376
15'	3,5	15,7	0,570	380
18'	2,6	8,8	0,699	388
21'	1,95	6,6	0,824	392
				moy. 381
14,4° C.				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	9,3	31,6	0,145	485
6'	6,6	22,4	0,294	491
9'	4,7	16,0	0,442	491
12'	3,5	11,9	0,570	475
15'	2,6	8,8	0,699	466
18'	1,9	6,5	0,835	464
21'	1,6	5,4	0,910	433
				moy. 472
A = 5790.				
<i>Exp. 2. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos.</i>				
100 cm ³ de substratum.				
8,5° C.				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	9,8	33,3	0,123	409
6'	7,3	24,8	0,251	418
9'	5,65	19,2	0,362	402
12'	4,2	14,3	0,491	409
15'	3,25	11,0	0,602	491
18'	2,5	8,5	0,716	398
21'	1,85	6,3	0,847	403
				moy. 406
15,5° C.				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	8,9	30,3	0,165	548
6'	6,3	21,4	0,315	524
9'	4,5	15,3	0,461	512
12'	3,2	10,9	0,609	507
15'	2,3	7,8	0,752	501
18'	1,4	4,8	0,968	538
				moy. 522
A = 5850.				

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	log $\frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 3. — 1 cm³ d'extrait de semence au repos et en germination. 100 cm³ substratum.</i>				
<i>semence au repos Temp. 15,3° C.</i>				
0'	22,9	77,9	—	—
5'	18,8	63,9	0,086	171
10'	16,4	55,8	0,145	144
15'	14,9	50,7	0,187	124
				moy. 146
<i>semence en germination (3 jours)</i>				
0'	22,9	77,9	—	—
5'	12,8	46,9	0,221	441
10'	8,1	27,5	0,454	454
15'	5,2	17,7	0,642	428
				moy. 441
<i>semence en germination (5 jours)</i>				
0'	22,9	77,9	—	—
5'	12,0	40,8	0,280	560
10'	6,1	20,7	0,571	571
15'	3,3	11,2	0,842	561
				moy. 564
<i>semence en germination (7 jours)</i>				
0'	22,9	77,9	—	—
5'	11,5	39,1	0,300	600
10'	5,6	19,0	0,614	614
15'	2,9	9,9	0,893	595
				moy. 603
<i>Exp. 4 — 1 cm³ d'extrait de semence en germination (7 jours). 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,3° C.</i>				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	11,0	37,4	0,073	241
6'	9,4	32,0	0,141	235
9'	8,0	27,2	0,211	234
12'	6,9	23,5	0,275	229
15'	5,9	20,1	0,343	229
18'	5,1	17,3	0,406	226
21'	4,4	15,0	0,470	224
				moy. 231
<i>14,3° C.</i>				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	10,7	36,4	0,085	281
6'	8,9	30,3	0,165	274
9'	7,4	25,2	0,245	272
12'	6,3	21,4	0,315	262
15'	5,3	18,0	0,385	257
18'	4,4	15,0	0,470	261
				moy. 268
A = 4980.				

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	$\log \frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 5. — 1,2 cm³ d'extrait de semence en germination (7 jours). 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,2° C.</i>				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	11,0	37,2	0,073	241
6'	8,6	29,2	0,179	299
9'	7,1	24,1	0,263	292
12'	5,9	20,1	0,343	286
15'	5,0	17,0	0,415	243
18'	4,1	13,9	0,501	278
21'	3,6	12,2	0,558	256
				moy. 271
<i>14,2° C.</i>				
0'	13,0	44,2	—	—
3'	10,5	35,7	0,093	309
6'	8,3	28,2	0,195	325
9'	6,6	22,4	0,294	327
12'	5,4	18,4	0,382	318
15'	4,6	15,6	0,451	301
18'	3,9	13,3	0,523	291
21'	3,3	10,3	0,632	301
A = 4240.				moy. 310
<i>Exp. 6. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,4° C.</i>				
0'	14,0	47,6	—	—
3'	11,1	37,7	0,101	336
6'	8,7	29,6	0,207	344
9'	6,5	22,1	0,333	380
12'	5,2	17,7	0,430	358
15'	4,1	13,9	0,533	356
18'	3,1	10,5	0,655	364
21'	2,3	7,8	0,784	374
				moy. 357
<i>14,6° C.</i>				
0'	14,0	47,6	—	—
3'	10,4	35,4	0,129	410
6'	7,6	25,8	0,265	442
9'	5,85	19,9	0,379	421
12'	4,3	14,6	0,513	427
15'	3,35	10,4	0,661	441
18'	2,55	8,7	0,740	411
21'	1,9	6,5	0,867	413
A = 5300.				moy. 424

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	$\log \frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 7. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,5° C.</i>				
0'	16,0	54,4	—	—
3'	13,0	44,2	0,090	301
6'	10,3	35,0	0,191	319
9'	8,1	27,5	0,296	328
12'	6,6	22,4	0,385	320
15'	5,1	17,3	0,497	331
18'	4,2	14,3	0,581	323
21'	3,4	11,6	0,773	320
27'	2,2	7,5	0,864	320
				moy. 320
<i>14,6° C.</i>				
0'	16,0	54,4	—	—
3'	12,2	41,5	0,118	393
6'	9,2	31,3	0,240	400
9'	7,1	24,1	0,353	392
12'	5,6	19,0	0,456	380
15'	4,3	14,62	0,577	380
18'	3,4	11,6	0,673	373
21'	2,7	9,2	0,773	368
27'	1,5	5,1	1,028	381
				moy. 383
A = 5860.				
<i>Exp. 8. — 1,2 cm³ d'extrait de semence en germination (7 jours). 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,5° C.</i>				
0'	14,5	49,3	—	—
3'	12,2	41,5	0,075	250
6'	10,2	34,7	0,153	254
9'	8,6	29,4	0,224	252
12'	7,2	24,5	0,304	253
15'	6,1	20,7	0,376	251
18'	5,3	18,0	0,437	243
21'	4,5	15,3	0,508	242
				moy. 249
<i>14,8° C.</i>				
0'	14,5	49,3	—	—
3'	11,7	39,8	0,093	310
6'	9,5	32,3	0,184	306
9'	7,7	26,2	0,275	305
12'	6,5	22,1	0,348	290
15'	5,3	18,0	0,437	291
18'	4,45	15,1	0,513	281
21'	3,9	13,3	0,580	271
				moy. 293
A = 4970.				

Table 3 (suite)

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	$\log \frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 9. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,9° C.</i>				
0'	17,5	59,5	—	—
3'	14,2	48,3	0,091	303
6'	11,25	38,3	0,192	319
9'	8,7	29,6	0,304	326
12'	6,9	23,1	0,411	342
15'	5,5	18,7	0,503	335
18'	4,5	15,3	0,590	328
21'	3,6	12,2	0,687	327
				moy. 326
<i>14,7° C.</i>				
0'	17,5	59,5	—	—
3'	13,1	44,5	0,126	419
6'	9,7	33,0	0,256	427
9'	7,5	25,5	0,368	409
12'	5,7	19,4	0,487	405
15'	4,35	14,8	0,605	403
18'	3,5	11,9	0,699	390
21'	2,7	9,2	0,812	386
				moy. 406
A = 7420.				
<i>Exp. 10. — 1,2 cm³ d'extrait en germination (3 jours). 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,7° C.</i>				
0'	15,3	52,0	—	—
3'	12,5	42,5	0,088	293
6'	9,9	33,7	0,189	315
9'	7,8	26,5	0,292	325
12'	6,25	21,3	0,389	314
15'	5,1	17,3	0,477	318
18'	4,2	14,3	0,572	314
21'	3,5	11,9	0,641	305
				moy. 312
<i>15° C.</i>				
0'	15,3	52,0	—	—
3'	11,8	40,1	0,113	376
6'	9,2	21,3	0,221	368
9'	7,2	24,3	0,331	368
12'	5,9	20,1	0,414	345
15'	4,8	16,2	0,504	336
18'	3,95	13,4	0,588	327
				moy. 353
A = 3750.				

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	$\log \frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 11. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,6° C.</i>				
0'	17,0	57,8	—	—
3'	13,0	44,2	0,117	388
6'	10,0	34,0	0,230	383
9'	7,7	26,2	0,344	383
12'	6,0	20,4	0,452	377
15'	4,7	16,0	0,558	372
18'	3,8	12,9	0,651	361
21'	2,9	9,9	0,768	366
				moy. 376
<i>14,6° C.</i>				
0'	17,0	57,8	—	—
3'	12,1	41,1	0,148	492
6'	8,9	30,3	0,281	468
9'	6,6	22,4	0,411	457
12'	5,15	17,5	0,519	432
15'	3,9	13,3	0,639	426
18'	2,9	9,9	0,768	426
21'	2,2	7,5	0,888	426
				moy. 447
A = 5630.				
<i>Exp. 12. — 1,2 cm³ d'extrait de semence en germination (3 jours) 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,6° C.</i>				
0'	14,0	47,6	—	—
3'	12,3	41,5	0,060	199
6'	10,6	36,0	0,121	201
9'	9,1	30,9	0,187	212
12'	8,0	27,2	0,283	202
15'	7,2	24,5	0,289	193
18'	6,3	21,4	0,347	193
21'	5,3	18,0	0,422	201
				moy. 200
<i>14,8° C.</i>				
0'	14,0	47,6	—	—
3'	11,8	40,1	0,074	247
6'	9,9	33,7	0,151	250
9'	8,65	29,4	0,209	233
12'	7,5	25,5	0,271	226
15'	6,3	21,4	0,347	232
18'	5,4	18,4	0,414	230
				moy. 233
A = 4780.				

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	$\log \frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>Exp. 13.</i> — 1,2 cm ³ d'extrait de semence en germination (3 jours). 100 cm ³ de substratum.				
9,8° C.				
0'	15,2	51,7	—	—
3'	13,0	44,2	0,068	226
6'	11,1	37,7	0,137	227
9'	9,5	32,3	0,204	227
12'	8,1	27,5	0,273	228
15'	7,1	24,1	0,331	220
18'	6,0	20,4	0,404	224
				moy. 225
15° C.				
0'	15,2	51,7	—	—
3'	12,6	42,8	0,082	272
6'	10,6	36,0	0,565	261
9'	8,9	30,3	0,232	258
12'	7,5	25,5	0,307	256
15'	6,3	21,4	0,383	255
				moy. 260
A = 4370.				
<i>Exp. 14.</i> — 1,2 cm ³ d'extrait de semence en germination (3 jours). 100 cm ³ de substratum.				
9,7° C.				
0'	15,2	51,7	—	—
3'	13,1	44,5	0,065	215
6'	11,2	38,1	0,133	221
9'	9,6	32,6	0,200	222
12'	8,6	29,2	0,237	198
15'	7,0	23,8	0,337	224
				moy. 216
16,5° C.				
0'	15,2	51,7	—	—
3'	12,8	43,5	0,075	249
6'	10,8	36,7	0,148	247
9'	9,0	30,6	0,228	253
12'	7,9	26,9	0,283	236
				moy. 248
A = 3150.				
<i>Exp. 15.</i> — 1,2 cm ³ d'extrait de semence en germination (3 jours). 100 cm ³ de substratum.				
9,9° C.				
0'	15,0	51,0	—	—
3'	9,8	33,3	0,185	616
6'	6,3	21,4	0,377	628
9'	4,0	13,6	0,574	638
12'	2,35	9,7	0,721	601
15'	1,9	6,5	0,897	598
				moy. 616

Table 3 (suite)

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	log $\frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>13,8° C.</i>				
0'	15,0	51,0	—	—
3'	8,9	30,2	0,227	756
6'	5,7	19,4	0,420	700
9'	3,8	12,9	0,585	662
12'	2,5	8,5	0,778	648
A = 4785.				moy. 691
<i>Exp. 16. — 1,2 cm³ d'extrait de semence en germination (3 jours). 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,9° C.</i>				
0'	15,0	51,0	—	—
2'	11,1	37,7	0,131	654
4'	8,4	28,6	0,252	729
6'	6,4	21,8	0,370	616
8'	4,8	16,3	0,495	618
10'	3,7	12,6	0,608	606
12'	2,85	9,7	0,721	601
14'	2,2	7,5	0,834	595
16'	1,75	6,0	0,933	583
A = 4695.				moy. 613
<i>13,9° C.</i>				
0'	15,0	51,0	—	—
2'	10,6	36,0	0,151	754
4'	7,7	26,2	0,290	724
6'	5,6	19,0	0,428	712
8'	4,2	14,3	0,553	691
10'	3,2	10,9	0,671	671
12'	2,4	8,2	0,796	663
14'	1,8	6,2	0,921	657
16'	1,4	4,8	1,030	643
A = 4695.				moy. 689
<i>Exp. 17. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ substratum.</i>				
<i>9,6° C.</i>				
0'	17,5	59,5	—	—
3'	13,9	47,3	0,100	334
6'	10,6	36,0	0,218	363
9'	8,1	27,5	0,335	371
12'	6,5	22,1	0,430	358
15'	5,1	17,3	0,546	363
18'	4,0	13,6	0,641	356
21'	3,3	11,2	0,725	345
A = 4695.				moy. 355

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	log $\frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>14,4° C.</i>				
0'	17,5	59,5	—	—
3'	12,8	43,5	0,136	452
6'	9,3	31,6	0,275	457
9'	7,0	23,8	0,408	453
12'	5,35	18,2	0,515	428
15'	4,0	13,6	0,641	417
18'	3,3	11,2	0,725	402
21'	2,5	8,5	0,845	402
A = 6460.				moy. 431
<i>Exp. 18. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,6° C.</i>				
0'	17,5	59,5	—	—
3'	13,85	47,1	0,102	338
6'	10,7	36,4	0,214	356
9'	8,6	29,2	0,309	342
12'	6,9	23,5	0,404	336
15'	5,4	18,4	0,511	340
18'	4,5	15,3	0,590	327
21'	3,6	12,2	0,687	327
<i>14,6° C.</i>				moy. 338
0'	17,5	59,5	—	—
3'	12,7	43,2	0,139	464
6'	9,6	32,6	0,261	434
9'	7,35	25,0	0,377	418
12'	5,8	19,7	0,480	399
15'	4,5	15,3	0,590	393
18'	3,6	12,2	0,687	381
21'	2,8	9,5	0,796	379
A = 6190.				moy. 409
<i>Exp. 19. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>10° C.</i>				
0'	13,2	44,9	—	—
3'	10,7	36,4	0,091	304
6'	8,6	29,2	0,186	310
9'	6,9	23,5	0,282	313
12'	5,7	19,4	0,365	303
15'	4,7	16,0	0,449	299
18'	3,8	12,9	0,541	300
21'	3,2	10,9	0,616	293
				mov. 303

Table 3 (suite).

durée min.	cm ³ de KMnO ₄ ds. 10 cm ³	mgr. H ₂ O ₂ ds. 100 cm ³	log $\frac{a}{a-x}$	k × 10 ⁴
<i>15^o C.</i>				
0'	13,2	44,8	—	—
3'	10,2	34,7	0,112	373
6'	7,8	26,5	0,229	381
9'	6,2	21,1	0,328	372
12'	5,0	17,0	0,422	351
15'	4,0	13,6	0,519	345
18'	3,15	10,7	0,622	345
A = 5660.				moy. 361
<i>Exp. 20. — 2 cm³ d'extrait de semence au repos. 100 cm³ de substratum.</i>				
<i>9,9^o C.</i>				
0'	13,2	44,9	—	—
3'	10,85	36,9	0,086	287
6'	8,8	29,9	0,176	293
9'	7,1	24,1	0,269	299
12'	5,9	20,1	0,350	290
15'	4,9	16,7	0,430	286
18'	4,0	13,6	0,519	288
21'	3,5	11,9	0,577	274
				moy. 288
<i>15,2^o C.</i>				
0'	13,2	44,9	—	—
3'	10,2	34,7	0,112	373
6'	7,8	26,5	0,229	381
9'	6,1	20,7	0,336	371
12'	4,8	16,3	0,439	366
15'	4,0	13,6	0,519	345
18'	3,2	10,9	0,615	341
21'	2,7	9,2	0,689	327
A = 6610.				moy. 357

Le substratum est une solution contenant environ 0,1% de peroxyde d'hydrogène et 30 ou 40% d'un tampon phosphorique (KH₂PO₄ 0,2 N et N₂HPO₄ 0,2 N par parts égales). Le tampon suffit à maintenir un p_H de 6,8 (contrôlé au moyen d'un indicateur) pendant toute la durée des expériences.

Pour suivre l'avancement de la réaction, on retire, à intervalles réguliers, 10 cm³ du mélange que l'on ajoute immédiatement à une solution d'acide sulfurique dilué (ce qui inactive instantanément la catalase). L'eau oxygénée est alors dosée au moyen d'une solution de KMnO₄ 0,02 N.

Les réactions étudiées étant du 1er ordre, la constante de vitesse est donnée par

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

où a est la quantité de peroxyde d'hydrogène au temps zéro, a-x la quantité de peroxyde d'hydrogène au temps t.

L'équation de *van t'Hoff* et *Arrhénius*

$$\log k = - \frac{A}{2,303 RT} + C$$

appliquée à deux températures, permet de déduire A:

$$A = 2,303 R \frac{T_1 \cdot T_2}{T_1 - T_2} \log \frac{k_1}{k_2}$$

On choisit des températures comprises entre 0 et 20° C afin d'éviter les perturbations qui commencent à se faire sentir au-dessus de 20°, par suite de la «désactivation thermique».

Nous remercions l'Institut de chimie de l'Université de Neuchâtel, qui a mis à notre disposition le laboratoire et le matériel nécessaires à l'exécution de ce travail, ainsi que M. *Claude Favarger*, qui nous a offert les échantillons de semences.

Institut de chimie de l'Université de Neuchâtel,
décembre 1944.

28. Über den Nachweis der *l*-Ascorbinsäure als Stoffwechselprodukt von *Aspergillus niger*

von M. Geiger-Huber und H. Galli.

(28. XII. 44.)

Lässt man Konidiosporen von *Aspergillus niger* bei hohen Temperaturen auf Nährlösungen keimen, die einen hohen Gehalt an Zuckern und stark saure Reaktion aufweisen, also der Bildung organischer Säuren wie Citronensäure und Gluconsäure förderlich sind, so treten in der Kulturlösung schon nach wenigen Tagen stark reduzierende Stoffe auf, die sich mit 2,6-Dichlorphenol-indophenol titrieren lassen (s. a. *Bernhauer* und Mitarb.¹⁾, *Clutterbuck* und Mitarb.²⁾).

Es entsteht daher die Frage, ob sich unter diesen Stoffen vielleicht auch *l*-Ascorbinsäure vorfindet; ist dies der Fall, so wäre offenkundig, dass niedere pflanzliche Organismen, deren Stoffwechsel infolge ihrer Kohlenstoff-Heterotrophie dem tierischen viel mehr entspricht, als derjenige chlorophyllführender, autotropher Pflanzen, auch wie diese befähigt sind, *l*-Ascorbinsäure zu bilden. Ausserdem aber wäre auch die Möglichkeit gegeben, bei solchen Schimmelpilzen wie *Aspergillus niger*, die Bedingungen der biologischen Ascorbinsäuresynthese mit mehr Aussicht auf Erfolg zu studieren, als dies bei grünen Pflanzen der Fall ist, bei denen zudem die ständige Bildung von Kohlenhydraten durch Photosynthese die Übersicht über die Ausgangsbedingungen stark erschwert.

Um diese Frage zu klären, haben wir uns dreier Methoden der Untersuchung bedient: 1. Isolierung der *l*-Ascorbinsäure aus den zuckerhaltigen Nährlösungen, 2. Isolierung der *l*-Ascorbinsäure aus zuckerfreien Nährlösungen, indem *Aspergillus niger* als Substrat

¹⁾ Bioch. Z. **286**, 60 (1936).

²⁾ Biochem. J. **27**, 654 (1933); **28**, 94 (1934); **29**, 871, 1300 (1935).