

## DES DIPEPTIDES SOUFRES DIFFERENCIENT NETTEMENT *VIGNA RADIATA* DE *VIGNA MUNGO*

EMILE OTOUL et ROBERT MARECHAL

Phytotechnie des Régions Chaudes, Faculté des Sciences Agronomiques, B-5800, Gembloux, Belgique

et

GASTON DARDENNE et FRANCINE DESMEDT

Chimie Organique et Biologique, Faculté des Sciences Agronomiques, B-5800, Gembloux, Belgique

(Reçu 15 May 1974)

**Key Word Index**—*Vigna radiata*; *V. mungo*; Leguminosae; acides aminés libres; peptides soufres libres; dosage; chimiotaxonomie.

**Abstract**—The presence of  $\gamma$ -glutamyl-S-methylcysteine and its sulfoxide characterizes the seeds of *Vigna radiata*; on the other hand, those of *Vigna mungo* do not contain these compounds but are particularly rich in  $\gamma$ -glutamylmethionine and its sulfoxide. These two peptides, absent in *V. radiata*, represent an important fraction of the methionine existing in *V. mungo* and bring the total amount of this amino acid up to a relatively high level. Thereby, they are liable to play an important part in the improvement of the nutritive value of certain legume crops.

**Résumé**—Les graines de *Vigna radiata* se caractérisent par la présence de  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylcystéine et de son sulfoxyde; par contre, celles de *Vigna mungo* ne contiennent pas ces deux dipeptides mais sont particulièrement riches en  $\gamma$ -glutamylméthionine et en son sulfoxyde. Ces derniers peptides, absents chez *V. radiata*, apportent une fraction importante de la méthionine présente chez *V. mungo* et amènent la teneur totale en cet acide aminé à un niveau relativement élevé. De ce fait, ils sont susceptibles de jouer un rôle primordial dans l'amélioration de la valeur alimentaire de certaines espèces de légumineuses.

### INTRODUCTION

Cette étude s'intègre dans le cadre d'un ensemble de recherches dont l'objectif est de déterminer les possibilités d'améliorer, pour l'homme, la valeur nutritive des protéines d'espèces végétales de la sous-tribu des *Phaseolinae*. Les graines de légumineuses contiennent des quantités appréciables de protéines. La plus grande partie de celles-ci se présentent sous la forme de globulines [1,2]. L'analyse de la fraction protéique révèle que les acides aminés non soufrés sont souvent présents à des concentrations supérieures à celles requises pour une alimentation animale et humaine bien équilibrée [3,4,5]. Par contre, les acides aminés soufrés se trouvent généralement en faible quantité et constituent de ce fait les facteurs limitants du point de vue nutritionnel.

Dardenne *et al.* [6] ont étudié la répartition des acides aminés totaux et libres dans les genres *Macrotyloma*, *Dolichos* et *Pseudovigna*. Ils ont pu

montrer l'importance de certains acides aminés et peptides libres. Ainsi, la phénylalanine libre et provenant du  $\gamma$ -glutamylphénylalanine représente, dans certaines espèces de *Macrotyloma*, plus de 45% de la phénylalanine totale et plus de 90% de la phénylalanine protéique.

Sur la base des résultats obtenus pour ces 3 genres, nous avons commencé l'étude des acides aminés totaux et libres ainsi que des dipeptides acides libres dans des espèces cultivées et sauvages du genre *Vigna*. Le présent travail envisage plus spécialement le dosage des acides aminés totaux et la caractérisation des dipeptides libres des formes de *V. radiata* et de *V. mungo*.

### RESULTATS ET DISCUSSION

La sous-tribu des *Phaseolinae* groupe un nombre élevé d'espèces souvent mal définies; elle pose au systématique des problèmes ardu. Depuis

de nombreuses années, il existe une grande confusion quant à la dénomination botanique des deux espèces de *Vigna* envisagées dans ce travail. C'est ainsi que *V. mungo* est repris sous les vocables *Phaseolus radiatus* (L.), *P. radiatus* var. *typicus* Prain, *P. mungo* (L.), Black-gram, Green-gram, Mung bean, Urd. Ceci démontre que des études biochimiques, nutritionnelles et en particulier chimio-taxonomiques menées à partir d'un matériel végétal dont la détermination botanique n'a pas été soigneusement contrôlée, sont souvent sujettes à caution. Il nous a semblé utile de préciser les connaissances actuelles sur ces espèces de *Vigna* qui ont été décrites par Linné sous les noms de *P. radiatus* et de *P. mungo*. Le transfert des deux espèces dans le genre *Vigna* par Wilczek [7] n'est actuellement plus contesté mais leur aspect peu dissemblable laisse les systématiciens hésitant quant à leur maintien sous deux dénominations spécifiques distinctes. Il semble que ce soit notamment le cas pour Verdcourt [8] qui mentionne les deux espèces tout en formulant des doutes au sujet de leur distinction au niveau spécifique. En effet, elles ne diffèrent morphologiquement que par des caractères mineurs tels que la teinte des fleurs, la forme et la pilosité des gousses.

Toutefois, aux Indes où ces plantes sont largement cultivées, des généticiens [9] auraient réussi

à croiser les deux espèces entre elles. La semi-stérilité des hybrides obtenus et les différenciations chromosomiques décelées grâce à leur analyse cytologique, montreraient qu'il s'agit bien de deux espèces distinctes. D'autre part, des essais d'hybridation réalisés récemment à Gembloux [10] indiquent la présence de certaines barrières qui précèdent leur distinction au niveau spécifique.

Nous avons adopté la nomenclature telle qu'elle a été maintenue par Verdcourt: elle est précisée ci-après:

*Vigna radiata* (L.) Wilczek var. *radiata* (cultivé). Syn.: *Phaseolus radiatus* L., *P. aureus* Roxb.; Noms vulgaires: Ambérique, Mung-bean, Green-gram. Folioles entières; fleurs crème-jaunâtre; gousses longues, étalées à pubescence courte; graines de couleur verte ou jaune, rarement brune.

*Vigna radiata* (L.) Wilczek var. *sublobata* (Roxb.) Verdc. (sauvage). Syn.: *Phaseolus sublobatus* Roxb. Folioles sublobées; fleurs crème-jaunâtre; gousses longues, étalées, à pubescence courte; graines très petites de couleur brune foncée.

*Vigna mungo* (L.) Hepper. Syn.: *Phaseolus mungo* L.; Noms vulgaires: Mungo, Black-gram, Urd. Folioles entières; fleurs jaunes; gousses courtes et hirsutes, graines noires, brunes, rarement verdâtres.

Tableau 1. Liste des espèces de *Vigna* étudiées

Espèces et no. d'introduction	Types*	Provenance	Aire d'origine
<i>V. radiata</i> (L.) Wilczek var. <i>radiata</i>			
4	C	U.S.A.	Asie
37	C	Guyane hollandaise	Asie
38	C	Argentine	Asie
39	C	Trinidad	Asie
40	C	Argentine	Asie
49	C	Mexique	Asie
127	C	Guyane britannique	Asie
138	C	Danemark	Asie
159	C	Ghana	Asie
209	C	Zaïre, Kasai	Asie
263	C	Chine, Pékin	Asie
334	C	U.S.A.	Asie
<i>V. radiata</i> (L.) Wilczek var. <i>sublobata</i> (Roxb.) Verdc			
104	S	Australie, Camberra	Asie
366	S	France	Madagascar
<i>V. mungo</i> (L.) Hepper			
160	C	Ghana	Asie
207	C	Zaïre, Kasai	Asie
208	C	Zaïre, Kasai	Asie
499	C	Japon	Asie

\* C = cultivar; S = spontané.

Toutes les espèces ont un nombre de chromosomes égal à 22.

Tableau 2. Poids de 100 graines, pourcentage de matière azotée totale et estimation semi-quantitative de dipeptides libres

Espèces et no d'intr.	Provenance des graines	Poids de 100 graines (g)	Matière azotée totale $N \times 6,25$	Peptides*			
				I	II	III	IV
<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>							
4 C†	U.S.A. 1962	2,60	23,00	4	1	—	—
4 C	Serre 1969	2,60	21,55	4	1	—	—
37 C	Serre 1967	3,50	26,25	4	1	—	—
38 C	Serre 1966	2,70	19,25	4	2	—	—
39 C	Serre 1966	3,15	23,95	4	1	—	—
40 C	Serre 1966	3,80	23,25	4	2	—	—
49 C	Serre 1964	4,00	22,55	4	2	—	—
127 C	Guyane 1967	3,70	22,05	4	2	—	—
127 C	Serre 1969	5,40	24,75	4	2	—	—
138 C	Serre 1966	3,90	23,15	4	2	—	—
159 C	Ghana 1963	3,75	25,10	4	2	—	—
159 C	Serre 1964	3,40	30,75	4	2	—	—
209 C	Zaire 1966	3,15	25,70	4	2	—	—
263 C	Chine 1966	6,20	24,75	3	1	—	—
263 C	Serre 1967	6,85	24,50	3	1	—	—
334 C	Serre 1968	4,80	18,55	4	2	—	—
<i>V. radiata</i> var. <i>sublobata</i>							
104 S	Serre 1967	0,90	25,00	4	2	—	—
366 S	Serre 1968	1,30	22,80	4	2	—	—
<i>V. mungo</i>							
160 C	Ghana 1963	3,80	24,60	—	—	4	1
160 C	Serre 1970	2,95	25,60	—	—	4	2
207 C	Zaire 1966	3,25	25,95	—	—	4	2
207 C	Serre 1967	3,20	21,45	—	—	4	2
208 C	Zaire 1966	3,58	25,70	—	—	4	2
208 C	Serre 1972	2,70	17,30	—	—	4	2
499 C	Japon 1973	4,00	25,00	—	—	4	2

\* Peptides: I,  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylcystéine; II,  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylcystéine sulfoxyde; III,  $\gamma$ -glutamylméthionine; IV,  $\gamma$ -glutamylméthionine sulfoxyde. Estimation des peptides: le chiffre 4 indique la concentration la plus forte, le chiffre 1 la plus faible non douteuse et le tiret l'absence de peptide.

† C = cultivar; S = spontané.

Le Tableau 1 nous renseigne sur les différentes formes des espèces étudiées. Les résultats mentionnés au Tableau 2 nous montrent que les types spontanés (no. 104 et 366) sont caractérisés par de très petits grains. Entre les cultivars, on constate des écarts considérables des poids moyens de 100 graines (2,60 à 6,85 g) et des pourcentages de matière azotée totale (17 à 30% du poids sec des graines). Plusieurs formes de *V. radiata* var. *radiata* et de *V. mungo* ont été étudiées à partir de graines produites en deux endroits différents: pays étrangers et culture en serre à Gembloux. Les semences en provenance de ces premiers pays ont constitué l'introduction du matériel dans notre collection. Des variations importantes tant du point de vue de la grosseur des graines que du pourcentage en matière azotée totale sont observées entre deux cultures différentes d'une même forme. Il faut cependant noter que les dif-

férences sont très hétérogènes et qu'elles peuvent être dues aux conditions écologiques. Comme nous l'avons déjà signalé lors d'études antérieures [6], ici encore, il n'y a pas de relation entre la valeur de la fraction azotée et la forme spontanée ou cultivée du végétal. De plus, le poids de 100 graines ne peut être considéré comme un facteur déterminant dans les teneurs en matière azotée totale.

Au niveau des différentes formes, nous avons étudié la répartition des acides aminés et peptides acides libres tant par chromatographie bidimensionnelle sur papier que par électrophorèse à haut voltage. Toutes ces formes renferment des quantités importantes d'acide aspartique et d'acide glutamique. Nous avons aussi mis en évidence la présence de dipeptides soufrés (voir Tableau 2). Tous les *V. radiata* var. *radiata* et *V. radiata* var. *sublobata* se caractérisent par la présence de  $\gamma$ -glu-

tamyl-S-méthylcystéine et de  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylcystéine sulfoxyde. Les formes de *V. mungo* ne contiennent pas ces dipeptides mais elles sont particulièrement riches en  $\gamma$ -glutamylméthionine; elles renferment également le  $\gamma$ -glutamylméthionine sulfoxyde mais à des concentrations moins importantes. Du point de vue chimiotaxonomique, la présence de ces deux types de dipeptides permet de différencier nettement les espèces envisagées en deux groupes bien distincts.

Kasai et Sakamura [11-14] ont étudié la fraction acides aminés libres de *Phaseolus radiatus* L. var. *typicus* Prain (Green-gram). Ces graines ont été déterminées par Maréchal comme étant en réalité *V. mungo*. Les auteurs ont séparé, à partir de quantités très importantes de graines (30 kg), plusieurs dipeptides dont les  $\gamma$ -glutamylméthionine et  $\gamma$ -glutamylméthionine sulfoxyde. Avec les quantités de matériel dont nous disposons (de 1 à 5 g de graines pour la plupart des formes), seuls ces deux dipeptides soufrés ont pu être mis facilement en évidence. Dans certaines formes de *V. mungo*, il a été possible d'identifier aussi le  $\gamma$ -glutamylleucine.

Nous avons également étudié la répartition des acides aminés totaux après hydrolyse acide. Le Tableau 3 nous montre les pourcentages des acides aminés par rapport à la matière aminée totale. Toutes les formes ont été analysées. Pour sept d'entre elles, quatre cultivars de *V. radiata* et trois cultivars de *V. mungo*, nous avons dosé les acides aminés dans deux lots de graines, les unes proviennent du pays d'origine, les autres ont été récoltées en serre.

Pour la plupart des acides aminés, les écarts observés entre les différentes formes sont relativement faibles et restent du domaine de l'erreur expérimentale. Il n'y a pas non plus des variations significatives entre les échantillons provenant du pays d'origine et ceux cultivés en serre excepté pour les teneurs en méthionine qui sont plus importantes chez *V. mungo* provenant des serres. La présence en quantité variable de S-méthylcystéine qui passe presque en même temps que la proline sur la colonne de résine est responsable des variations observées pour cet acide aminé (4 à 4,7%). Baldi et Salamini [15] signalent d'ailleurs que la S-méthylcystéine est présente dans *P. radiatus* à la concentration de 0,14%. Une des formes de *V. radiata* (159) est spécialement riche en arginine (9,3%); il faut remarquer que ces graines contien-

nent plus de matière azotée totale. Toutes les formes de *V. radiata* var. *radiata* et var. *sublobata* présentent des teneurs en méthionine totale très stables. Cette méthionine est presque essentiellement protéique; en effet, le pourcentage de la forme libre, par rapport à la matière azotée totale, est inférieure à 0,05%. Les pourcentages de méthionine totale, de l'ordre de 1,15%, sont inférieures aux normes préconisées par la FAO (2,2%) [16]. Baldi et Salamini [15] renseignent pour *P. radiatus* une concentration de 1,39%; cette valeur est élevée et se rapproche plutôt des résultats que nous avons obtenus pour *V. mungo*. L'observation la plus remarquable est la teneur moyenne élevée en méthionine totale dans les graines de *V. mungo* (1,58%). Des différences importantes sont observées pour les quatre formes de cette espèce (1,37-1,90%). Les variations enregistrées dépassent de loin l'erreur expérimentale ( $\pm 5\%$ ). La présence en quantité importante de  $\gamma$ -glutamylméthionine et en proportion moins forte de  $\gamma$ -glutamylméthionine sulfoxyde dans les graines de *V. mungo* augmente de façon appréciable le taux de méthionine totale. Cette constatation est importante car elle ouvre éventuellement deux voies d'amélioration possibles. L'une concerne la phytotechnie car l'on sait que les teneurs en acides aminés et peptides libres chez les végétaux sont généralement sous la dépendance des facteurs écologiques et pourraient par conséquent être influencées par les techniques culturales. L'autre intéresse plus spécialement le sélectionneur; en effet, les deux espèces envisagées ici sont bien distinctes et présentent donc des barrières d'incompatibilité mais celles-ci ne sont pas totales et la sélection généalogique d'hybrides interspécifiques semble possible. Nous avons également analysé les graines de deux formes de *V. mungo* (no. 208 et 499) dont la fraction acides aminés et peptides libres avait été extraite préalablement. Les résultats des analyses sont mentionnés au Tableau 4. L'extraction des acides aminés et peptides libres et dans une moindre mesure la simple cuisson des graines ont provoqué une solubilisation assez importante de substances non azotées. La perte en poids qui en a résulté est responsable de l'augmentation des pourcentages en matière azotée totale enregistrée dans les produits traités. Les pourcentages de la plupart des acides aminés sont peu modifiés excepté les acides aspartique et

Tableau 3. Pourcentage des acides aminés totaux dans différentes espèces de *Vigna*

Espèces	<i>V. radiata</i> var. <i>radiata</i>			<i>V. radiata</i> var. <i>sublobata</i>			<i>V. mungo</i>		
Nbre d'analyses	32			6			16		
Acide aminés	$\bar{x}$	$\sigma\bar{x}$	<i>V</i>	$\bar{x}$	$\sigma\bar{x}$	<i>V</i>	$\bar{x}$	$\sigma\bar{x}$	<i>V</i>
Ac. aspartique	12,63	0,03	1,45	12,65	0,06	1,13	12,74	0,04	1,34
Thréonine	3,46	0,02	4,03	3,49	0,07	4,94	3,48	0,04	4,30
Sérine	5,01	0,02	2,56	4,98	0,04	2,17	5,10	0,02	1,92
Ac. glutamique	19,32	0,04	1,22	19,22	0,10	1,27	18,58	0,10	2,21
Proline	4,45	0,03	3,39	4,36	0,12	6,65	4,34	0,04	3,23
Glycine	4,20	0,04	4,79	4,63	0,10	5,22	4,35	0,05	4,95
Alanine	4,54	0,02	2,03	4,57	0,03	1,85	4,53	0,03	2,63
Valine	5,64	0,02	1,41	5,66	0,04	1,93	5,85	0,04	2,52
Méthionine	1,15	0,01	2,18	1,14	0,01	1,69	1,58	0,04	10,76
Isoleucine	4,57	0,02	1,97	4,58	0,02	1,05	4,75	0,02	1,72
Leucine	8,30	0,03	1,71	8,13	0,04	1,21	8,65	0,04	2,00
Tyrosine	2,96	0,02	3,77	3,16	0,04	3,45	2,93	0,05	6,35
Phénylalanine	5,91	0,03	2,77	5,78	0,07	3,12	5,96	0,05	3,04
Lysine	7,48	0,02	1,58	7,62	0,03	1,11	7,25	0,03	1,86
Histidine	2,90	0,02	4,36	2,81	0,04	3,09	3,00	0,04	4,78
Arginine	7,43	0,08	6,20	7,23	0,18	6,03	6,91	0,04	2,47

$\bar{x}$  = moyenne;  $\sigma\bar{x}$  = erreur standard; *V* = coefficient de variabilité.

glutamique qui accusent une légère diminution et la méthionine qui voit son taux diminuer de moitié environ. Ces résultats montrent que la méthionine protéique ne semble pas dépasser 0,7–0,8% chez les deux cultivars analysés.

Ces valeurs ne confirment pas en tout point celles publiées par Kasai *et al.* [12] qui ne mentionnent que des traces de méthionine protéique. Il semble que ces auteurs se sont limités à l'analyse des protéines extractibles à l'eau chaude.

Comme la fraction acides aminés et peptides libres est très soluble dans l'eau et qu'elle est susceptible de "disparaître" lors de préparations culinaires, nous avons soumis un lot de graines (no. 499) cuites à l'analyse des acides aminés. Après un trempage de 12 hr dans l'eau, les graines ont subi une cuisson sous 7,5 kg de pression pendant 20 min. Les résultats du Tableau 4 montrent que le spectre des acides aminés après cuisson est semblable à celui obtenu au départ de graines fraîches, mais pas identique. Une différence sensible se manifeste au niveau de la méthionine qui voit son pourcentage diminuer d'environ 15%. La quantité présente dans les graines cuites est cependant encore appréciable et souvent supérieure à celle rencontrée chez la plupart des espèces de *Vigna* que nous avons étudiées. Dans certains cas, il serait peut-être intéressant de récolter les eaux de

cuisson et de les utiliser pour l'alimentation animale.

Cette étude est intéressante à deux points de vue: taxonomie et valeur alimentaire. Il existe une certaine confusion dans la détermination des "*V. radiata*". Même les spécialistes des légumineuses ne sont pas encore parvenus à fixer une dénomination précise aux espèces envisagées. Or la chimie des dipeptides libres semble, ici, en mesure de clarifier cette question délicate de nomenclature taxonomique. En ce qui concerne la valeur alimentaire, les résultats obtenus laissent entrevoir un réel espoir aux nutritionnistes confrontés avec le problème de la grande stabilité des acides aminés protéiques des graines de légumineuses. Un ou des peptides libres, susceptibles de variations quantitatives importantes, sensibles aux influences écologiques, seraient capable d'apporter, en quantité parfois appréciable, des acides aminés essentiels et en particulier, l'acide aminé soufré le plus limitant de la famille des légumineuses, la méthionine.

Il n'est peut-être pas impossible que, les progrès de la science aidant, ces peptides de grand intérêt alimentaire puissent être introduits chez d'autres espèces de grande culture, soit par la voie traditionnelle de croisements interspécifiques, soit par des techniques plus élaborées qui commencent à voir le jour. Il convient donc actuellement de con-

Tableau 4. Pourcentage des acides aminés dans deux formes de *Vigna mungo*

No d'intr.	208		499		
	Graines d'origine Kasai		Graines d'origine Japon		
Acide aminés	A	B	A	B	C
Matière azotée totale (%)	25,70	31,00	25,00	30,00	26,50
Ac. aspartique	12,73	12,48	12,68	12,44	12,79
Thréonine	3,39	3,51	3,45	3,58	3,48
Sérine	5,26	5,41	5,10	5,65	5,11
Ac. glutamique	18,24	17,74	18,50	17,73	18,10
Proline	4,40	4,28	4,25	4,28	4,08
Glycine	4,37	4,57	4,34	4,49	4,33
Alanine	4,45	4,56	4,54	4,59	4,57
Valine	5,86	6,07	6,04	5,70	6,21
Méthionine	1,40	0,72	1,47	0,76	1,25
Isoleucine	4,82	4,94	4,81	4,82	4,96
Leucine	8,89	9,16	8,76	9,11	8,92
Tyrosine	3,02	3,02	2,67	3,09	2,70
Phénylalanine	6,16	6,24	6,14	6,29	6,32
Lysine	7,26	7,50	7,32	7,50	7,23
Histidine	2,93	2,90	2,95	2,94	2,96
Arginine	6,89	6,88	7,03	6,94	7,03

A: AA totaux dans les graines crues; B: AA protéiques après extraction des AA et peptides libres; C: AA totaux dans les graines cuites. Les résultats sont exprimés en % par rapport à la matière aminée totale.

sidérer le problème de ces dipeptides sous l'angle de la génétique avant de se prononcer quant aux possibilités de leurs utilisations.

## PARTIE EXPERIMENTALE

**Matériel.** La liste des formes analysées figure au Tableau 1. Les numéros d'introduction correspondent aux numéros d'herbiers conservés à la Chaire de Phytotechnie des Régions Chaudes, Gembloux. Les graines proviennent soit des pays d'origine soit de plantes cultivées en serres conditionnées. La détermination du matériel a été contrôlée par Maréchal avec la collaboration de Wilczek. Le nombre de chromosomes a été déterminé à partir du même matériel [17, 18].

**Préparation des extraits.** Les graines préalablement séchées à l'étuve à 40° pendant 48 hr sont broyées très finement. Une prise d'essai est extraite plusieurs fois avec un mélange EtOH-H<sub>2</sub>O (1:1) jusqu'à réaction négative à la ninhydrine. Les extraits sont rassemblés et homogénéisés. Les échantillons destinés à la 2-D PC sont purifiés sur une petite colonne de Lewatit® S 1080, forme H<sup>+</sup>. Le résidu provenant de l'éluat ammoniacal est repris par H<sub>2</sub>O et une quantité adéquate est chromatographiée. Les échantillons destinés à l'électrophorèse à haut voltage ne sont pas purifiés sur résine.

**Dosage des acides aminés.** Le dosage des acides aminés totaux a été réalisé au moyen d'un appareil automatique. Après une hydrolyse acide (HCl 6 N) de la poudre de graine pendant 22 hr à 110°, nous avons appliqué la méthode de Devenyi [19] sur simple colonne avec deux tampons au citrate Na (pH 3,28 et 4,25). Dans tous les cas, au moins deux prises d'échantillon par forme ont été analysées; la norleucine a été ajoutée comme étalon interne. Les résultats de chaque acide aminé sont exprimés en pour cent de la matière aminée totale.

**Chromatographie bidimensionnelle et électrophorèse à haut voltage.** La chromatographie sur papier Whatman 3 MM a été réalisée en utilisant comme solvant pour la première dimension

*n*-BuOH-NCO<sub>2</sub>H-H<sub>2</sub>O (15:3:2) et pour la seconde dimension PhOH saturé par un tampon à pH 4,2 (acide citrique-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,08 M). HVE a été réalisée sur papier MN 214 en utilisant un tampon à pH 3,6 [20] pendant 90 min à 3000 V et 40 mA. Les acides aminés et les peptides ont été révélés par pulvérisation d'une soln de ninhydrine à 0,25% dans EtOH et chauffage à l'étuve à 110° pendant 10 min. Nous avons aussi utilisé pour les acides aminés et peptides souffrés le réactif à l'iodoplatinate [21].

**Séparation des dipeptides.** Les fractions acides aminés acides, préalablement séparées sur une petite colonne de Lewatit® M 5080, ont été passées sur une colonne de Lewatit® M 5080, forme acétate, 100-200 mesh, 3,8 × 40 cm. L'élution a été effectuée par HOAc 0,5 puis 2 N. Nous avons séparé à l'état pur le  $\gamma$ -glutamylméthionine et son sulfoxyde à partir des graines de *V. mungo* no. 207 ainsi que le  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylecystéine et son sulfoxyde à partir des graines de *V. radiata* no. 209. L'identité des dipeptides de la S-méthylecystéine a été confirmée par comparaison avec les spectres IR de substances témoins [22]; celle des dipeptides de la méthionine a été prouvée par comparaison avec les spectres des produits d'hydrolyse et par co-chromatographie avec les dipeptides présents dans *P. radiatus* [11-14].

**Remerciements.**—Nous tenons à remercier les Professeurs F. Hendrickx et J. Casimir ainsi que Mr. G. Le Marchand pour les encouragements qu'ils nous ont apportés au cours de ce travail. Notre gratitude s'adresse également au Dr T. Kasai qui nous a aimablement fourni un échantillon de graines de *V. mungo* (499). Nous remercions aussi Mr. J. M. Guilmet et MMes E. François et M. R. Lorient dont la collaboration technique a été appréciée.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Boulter, D. et Derbyshire, E. (1971) dans *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, p. 285. Academic Press, London.

2. Danielson, C. E. (1949) *Biochem. J.* **44**, 387.
3. Boulter, D., Evans, I. M. et Derbyshire, E. (1973) *Qual. Plant.-Pl. Fds. Hum. Nutr.* **23**, 1/3, 239.
4. Bayley, C. J. et Boulter, D. (1970) *Eur. J. Biochem.* **17**, 460.
5. Wright, D. J. et Boulter, D. (1972) *Planta (Berl.)* **95**, 103.
6. Dardenne, G., Thonart, Ph., Otoul, E. et Marechal, R. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1983.
7. Wilczek, R. (1954) dans *Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi* **6**, 260.
8. Verdcourt, B. (1970) *Kew Bull.* **24**, 379.
9. De, D. N. et Krishnan, R. (1967) *Genetica* **37**, 588.
10. Le Marchand, G. Communication personnelle.
11. Kasai, T., Sakamura, S. et Sakamoto, R. (1971) *Agr. Biol. Chem. (Japon)* **35**, 10, 1603.
12. Kasai, T., Sakamura, S. et Sakamoto, R. (1971) *Agr. Biol. Chem. (Japon)* **35**, 10, 1607.
13. Kasai, T., Sakamura, S. et Sakamoto, R. (1972) *Agr. Biol. Chem. (Japon)* **36**, 6, 967.
14. Kasai, T., Sakamura, S., Inagaki, S. et Sakamoto, R. (1972) *Agr. Biol. Chem. (Japon)* **36**, 13, 2621.
15. Baldi, G. et Salamini, F. (1973) *Theor. Appl. Genetics* **43**, 75.
16. FAO/WHO Expert Group (1965) *WHO Tech. Rept. Ser.* **301**, 36.
17. Marechal, R. (1969) *Bull. Jard. Bot. Bruxelles* **39**, 125.
18. Marechal, R. (1970) *Bull. Jard. Bot. Bruxelles* **40**, 307.
19. Devenyi, T. (1968) *Acta Biochem. Biophys. Acad. Sci. Hung.* **3**(4), 429.
20. Bell, E. A. et Tirimana, A. S. L. (1965) *Biochem. J.* **97**, 104.
21. Smith, I. (1969) de *Chromatographic and Electrophoretic Techniques*, 3me Ed. Vol. I, 122, William Heinemann Ltd.
22. Thonart, Ph. (1972) Thèse, Faculté des Sciences Agronomiques, Gembloux.