

DEPARTAMENTO DE INDÚSTRIA, INSPEÇÃO E CONSERVAÇÃO DOS
PRODUTOS ALIMENTÍCIOS DE ORIGEM ANIMAL

Diretor: Prof. Dr. P. Mucciolo

UN APPAREIL POUR LA MESURE EN CONTINU
DE L'ABSORPTION D'OXYGÈNE (*)

A DEVICE FOR CONTINUOUS MEASURE OF THE OXYGEN ABSORPTION

LUCIEN KEHREN

Docteur es Sciences de l'Université de Paris
Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas

3 planches (3 figures)

INTRODUCTION

La mesure de l'absorption d'oxygène est d'une grande importance en biologie et en biochimie animale et végétale. Elle a servi de base aux études sur la respiration des tissus, des microorganismes, et sur l'autoxydation des lipides. Les méthodes utilisées jusqu'à présent peuvent se diviser en deux groupes:

1) *Méthodes eudiométriques*: — On soutire l'air qui était en contact avec le tissu ou la plante dans un récipient fermé. Cet air est analysé dans un eudiomètre, où se déterminent, en premier lieu, un volume exact d'air, puis la quantité de gaz carbonique de celui-ci, par passage sur de la potasse, et mesure du nouveau volume des gaz. Cet air privé de son gaz carbonique est envoyé sur du phosphore, ou sur du pyrogallol, qui retient l'oxygène. Le nouveau volume occupé par les gaz est mesuré pour connaître, par différence, la quantité d'oxygène qui était présente dans cet air.

C'est ainsi que PASTEUR, en 1876, a mesuré la quantité d'oxygène absorbée par la levure en aérobie. C'est surtout en biologie végétale, pour mesurer la respiration de végétaux, que la méthode eudiométrique a été la plus souvent employée. Bien que précise, cette méthode, par exemple appliquée avec l'excellent eudiomètre de PLANTEFOL, se prête difficilement à l'étude de trop petites quantités de matière. Elle ne permet naturellement pas de suivre la cinétique de la réaction de l'absorption de l'oxygène. De plus la concentration des

(*) Este aparelho acaba de ser montado nesta Faculdade, a fim de estudar a auto-oxidação dos corpos gordos de origem animal e os meios de prevenir o processo de rancificação.

gaz dans l'air, qui est au contact avec les tissus, varie au cours de l'expérience. La méthode eudiométrique n'est pratiquement pas utilisée pour la mesure de l'absorption d'oxygène par les lipides.

II) *Méthodes manométriques*: — Manquant de précision dans les cas de macro-mesures, ces méthodes sont moins utilisées, sauf en ce qui concerne la *micro-méthode de WARBURG*. Celle-ci est d'une grande précision et d'une haute sensibilité, elle est largement utilisée en biologie. Elle a servi à son auteur pour réaliser ses importants travaux, notamment ses études du métabolisme des tissus cancéreux. L'appareil de WARBURG est un micro manomètre en U, garni d'un liquide spécial tenant en dissolution un sel biliaire pour faciliter le mouillage des parois. La branche droite du manomètre est en relation avec le récipient où se trouve le produit à étudier, ainsi qu'une pastille de potasse placée dans une alvéole. Les deux branches du manomètre aboutissent en bas à un réservoir de caoutchouc muni d'une vis de pression réglable. Le récipient où s'effectue l'absorption d'oxygène est immergé dans une cuve thermostatique à la température stabilisée au 1/10^e de degré C.

Principe: le volume gazeux étant maintenu constant, les gaz disparus (ou formés) modifient la pression. Pour la lecture, on ramène le niveau du liquide dans la branche de droite à une hauteur identique à chaque mesure, en agissant sur la vis du réservoir, et on note la hauteur atteinte par la colonne de liquide dans la branche de gauche. Selon l'intensité de la dépression son niveau descend.

En ce qui concerne l'étude de l'autoxydation des lipides, cet appareil a été utilisé par quelques auteurs. Satisfaisant dans la recherche scientifique, l'appareil présente des inconvénients pour l'emploi dans la recherche industrielle, ou pour le laboratoire de contrôle. L'appareil est en effet d'un maniement très délicat, sa sensibilité est trop poussée pour la mesure de cette sorte de réaction qu'est l'absorption d'oxygène par les corps gras. Il ne fonctionne qu'avec de très petites quantités de matière seulement.

Au stade de la macro-méthode, et pour l'étude de l'autoxydation, on peut citer l'*appareil manométrique* de CH. MOUREU et CH. DUFRAISSE, qui a permis à ses auteurs leur grande démonstration de la généralité du phénomène antioxygène. C'est un appareil à mesures comparatives. Il se compose de tubes barométriques aboutissant à la base à un réservoir de mercure. À chaque extrémité des tubes, on soude une ampoule recourbée qui contient le produit que l'on veut étudier. Autant de produits, autant de tubes. L'air est remplacé dans les tubes par de l'oxygène.

L'absorption d'oxygène se traduit par la montée du mercure dans les tubes. On peut reprocher à cet appareil de ne donner pratiquement que des indications

comparatives et relatives, d'exiger pour son fonctionnement d'assez grandes quantités de matière, et de ne travailler qu'en atmosphère d'oxygène.

Les modalités des appareils que nous venons de voir, du point de vue fonctionnement sont :

1) Eudiomètre: l'absorption d'oxygène pendant la réaction ne peut-être suivie cinétiquement, l'appareil ne donnant que le résultat final. L'absorption d'oxygène se fait dans une atmosphère dont la pression varie. Macro-méthode.

2) Warburg: l'absorption d'oxygène peut-être suivie au cours du temps, elle se réalise dans une atmosphère à volume constant, mais à pression variable. Seulement micro-méthode.

3) Manomètre de MOUREU et DE FRAISSE: l'absorption d'oxygène peut-être suivie au cours du temps, mais seulement à titre comparatif. Elle a lieu à volume variable, et à pression relativement constant. Macro-méthode.

En considérant ces types d'appareils, il paraissait intéressant de mettre au point un appareil qui permette de mesurer au cours du temps sans les inconvénients cités plus haut, l'absorption d'oxygène. En conséquence cet appareil devait :

- permettre de suivre la cinétique de la réaction;
- réaliser cette réaction à pression et à volume constants;
- être de maniement simple, fonctionner automatiquement;
- aborder la macro-méthode, et la semi micro-méthode, suivant la quantité de matière à mettre en étude.

Un appareil de ce type a été imaginé par SALVETTI pour l'étude de l'oxydation du caoutchouc, et appliqué à la mesure de l'autoxydation des esters de l'huile de palme par LOURY et MELLIER. Cet appareil présente quelques défauts: sa forme peu pratique, le dispositif du manomètre à contacts, qui ne permet pas de contrôler et de régler la sensibilité de l'appareil.

L'appareil que je présente ici est donc basé sur le principe de l'appareil de SALVETTI, mais comporte des modifications telles que les inconvénients du modèle primitif ont été éliminés.

PRINCIPE ET DESCRIPTION DE L'APPAREIL POUR LA MESURE EN CONTINU ET AUTOMATIQUE DE L'ABSORPTION DE L'OXYGÈNE

Principe: la quantité d'oxygène absorbée est automatiquement compensée par la production d'une quantité équivalente à l'aide d'une cellule à électrolyse, tandis qu'une cellule identique enregistre volumétriquement cette production.

Électrolyse: la production d'oxygène est assurée par l'électrolyse d'une solution saturée de sulfate de cuivre, entre un cathode de mercure et une anode de platine, sous une tension de 6 ou 12 volts. Le cuivre se dissout dans le mercure au fur et à mesure de son apparition, en donnant, un amalgame, et il se dégage de l'oxygène pur à l'anode, suivant la réaction (simplifiée):



SALVETTI avait vérifié qu'il ne se produisait aucun dégagement d'hydrogène à la cathode tant que la solution de sulfate de cuivre restait suffisamment concentrée, c'est-à-dire tant que l'électrolyse secondaire de l'acide sulfurique, produit par la première électrolyse, n'avait pas lieu. La décoloration de la solution de sulfate de cuivre permet de prévoir l'épuisement de celle-ci. J'ai aussi vérifié que l'oxygène produit était exempt d'ozone lors de l'électrolyse normale.

Appareillage: — Il se compose de:

1) *Une cuve à eau* dont la température est maintenue constante par un thermostat à un 1/5° de degré C. près. Tous les appareils baignent dans cette cuve. La température peut-être comprise entre 20 et 50 degrés C, suivant les conditions de l'expérience.

2) *Un couple, ou des couples de cellules à électrolyse.* Le couple comprend:

a) *Une cellule dite compensatrice* (figure 2). C'est un récipient de verre Pyrex de 2,5x8 cm, pourvu d'un capuchon rodé par lequel passent l'électrode de platine et l'électrode de tungstène. La première plonge dans la solution de sulfate de cuivre, l'autre dans le mercure. Le haut de l'appareil communique avec le récipient destiné à recevoir la substance que l'on veut étudier. Une alvéole est prévue sur le côté de ce récipient pour y recevoir un peu de potasse (pour absorber le CO₂ éventuellement formé). Un conduit à robinet rodé est prévu pour pouvoir évacuer l'air contenu dans le récipient afin de le remplacer par de l'oxygène dans le cas de certaines expériences. Pour cela il suffit de brancher l'appareil sur un tube de trompe à eau muni latéralement d'un manomètre ordinaire. La vide étant fait (on n'oublie pas d'obturer pendant cette opération la branche de gauche du manomètre à contacts), on branche les électrodes dans le circuit de l'accumulateur; il se dégage de l'oxygène dans la cellule jusqu'au moment où le manomètre extérieur indique que la pression initiale a été rétablie par l'oxygène produit. On enlève alors le tube à vide, après avoir

fermé le robinet rodé, et on dégage la branche du manomètre à contacts que l'on avait obturée.

La cellule est terminée par le bas par un tube recourbé qui forme vase communiquant avec elle, et qui aboutit à un tube en U contenant du mercure. La branche de gauche de ce tube est fermée hermétiquement par un bouchon traversé par une vis manœuvrable, sur laquelle est soudée un fil de contact. L'autre branche est ouverte à l'air libre, un fil de cuivre y pénètre et plonge dans le mercure.

b) Une cellule dite *enregistreuse* (figure 3). Elle est de mêmes dimensions que la première cellule, mais elle ne comporte ni manomètre à contacts, ni récipient à expériences. Le haut de cette cellule communique seulement avec une burette graduée en $1/10^{\circ}$ de cc, plongeant dans la cuve à eau.

3) *Un accumulateur de 6 volts ou de 12 volts*: — *Fonctionnement*: quand la matière en expérience absorbe de l'oxygène, une légère dépression se produit dans la cellule qui a pour conséquence de déséquilibrer le niveau du mercure dans les branches du manomètre à contacts. La colonne de mercure B (figure 1) remonte et contacte le fil A. Ainsi le circuit électrique des deux cellules est fermé, la cellule compensatrice débite la quantité d'oxygène nécessaire pour rétablir la pression initiale qui existait dans le récipient avant l'absorption d'oxygène. Dès que cette pression est à nouveau atteinte, la colonne de mercure B retombe à sa place de départ, et de par cela interrompt le contact avec le fil A. La quantité d'oxygène absorbée par la substance en expérience a donc été remplacée par une quantité égale. Comme la cellule enregistreuse fonctionne en même temps, et identiquement, que la cellule compensatrice, il suffit de lire directement dans la burette à eau de la cellule enregistreuse les volumes d'oxygène produits, lesquels correspondent aux volumes d'oxygène absorbés.

On peut régler la sensibilité du manomètre à contacts, en manœuvrant la vis C (figure 1) ce qui a pour effet de raccourcir ou d'éloigner l'espace à parcourir par la colonne de mercure B pour fermer et interrompre le circuit électrique de l'appareil.

Le réglage de cette vis permet de faire travailler l'appareil en macro ou en semi-micro mesures, suivant le type ou la quantité de la substance à mettre en expérience. On peut ainsi obtenir que les intermittences de contact entre A et B correspondent à l'échelle du centième de cc ou du dixième de cc d'oxygène fabriqué et enregistré. Un grand avantage découlant de l'emploi de ce manomètre réglable, c'est qu'il devient possible sans inconvénient d'arrêter momentanément la marche de l'appareil; pour cela, on remonte largement le fil A grâce à la vis C, on ouvre le robinet du récipient communiquant avec la cel-

lule compensatrice, dans lequel il est alors possible d'introduire une substance nouvelle. On procède ensuite aux mêmes manipulations que lors de la mise en marche initiale de l'appareil. L'équilibre de température une fois atteint, on ramène le fil A à la position où il figurait précédemment. Ainsi l'arrêt de l'appareil n'a pas d'influence sur l'ensemble de la mesure. les quantités d'oxygène qui seront absorbées s'ajouteront simplement à la suite des précédents dans la cellule enregistreuse.

EXEMPLE D'UTILISATION

Mesure de l'absorption d'oxygène par un corps gras: — La mesure au cours du temps de l'autoxydation des corps gras. par détermination des quantités d'oxygène qu'ils absorbent, est primordiale dans ce genre d'étude. Le présent appareil s'y prête parfaitement bien. Il suffit de placer une quantité de corps gras. par exemple 1 gramme, de préférence étendu sur un rouleau de papier filtre pour offrir une plus grande surface au contact de l'air. ou de l'oxygène, dans le récipient prévu à cet effet. Après avoir clos soigneusement les appareils, introduit l'eau dans la burette de la cellule enregistreuse jusqu'au zéro, attendu que la température se soit égalisée dans les appareils, on amène le fil A a une distance de 1 mm environ du niveau de la colonne de mercure B. Il suffit de lire aux intervalles désirés, le volume d'oxygène que le corps gras absorbe, dans la burette de la cellule enregistreuse. Il est facile d'inscrire la courbe de cette absorption en fonction du temps.

Autres utilisations: — L'appareil peut servir à la mesure des respirations: levure, petites plantes, morceaux de tissus, etc.. Il peut aussi servir à mesurer la respiration de petits animaux comme des insectes, à étudier la résistance à l'oxydation des métaux, du caoutchouc, des huiles.

CONCLUSIONS

J'ai présenté un appareil de mesure de l'absorption d'oxygène possédant les caractéristiques suivantes:

- a) fonctionne en continu et automatiquement
- b) la réaction se fait à volume et à pression constants
- c) le volume d'oxygène absorbé se lit directement, sans calculs
- d) les expériences peuvent être conduites à l'échelle de la macro ou de la semi-micro méthode

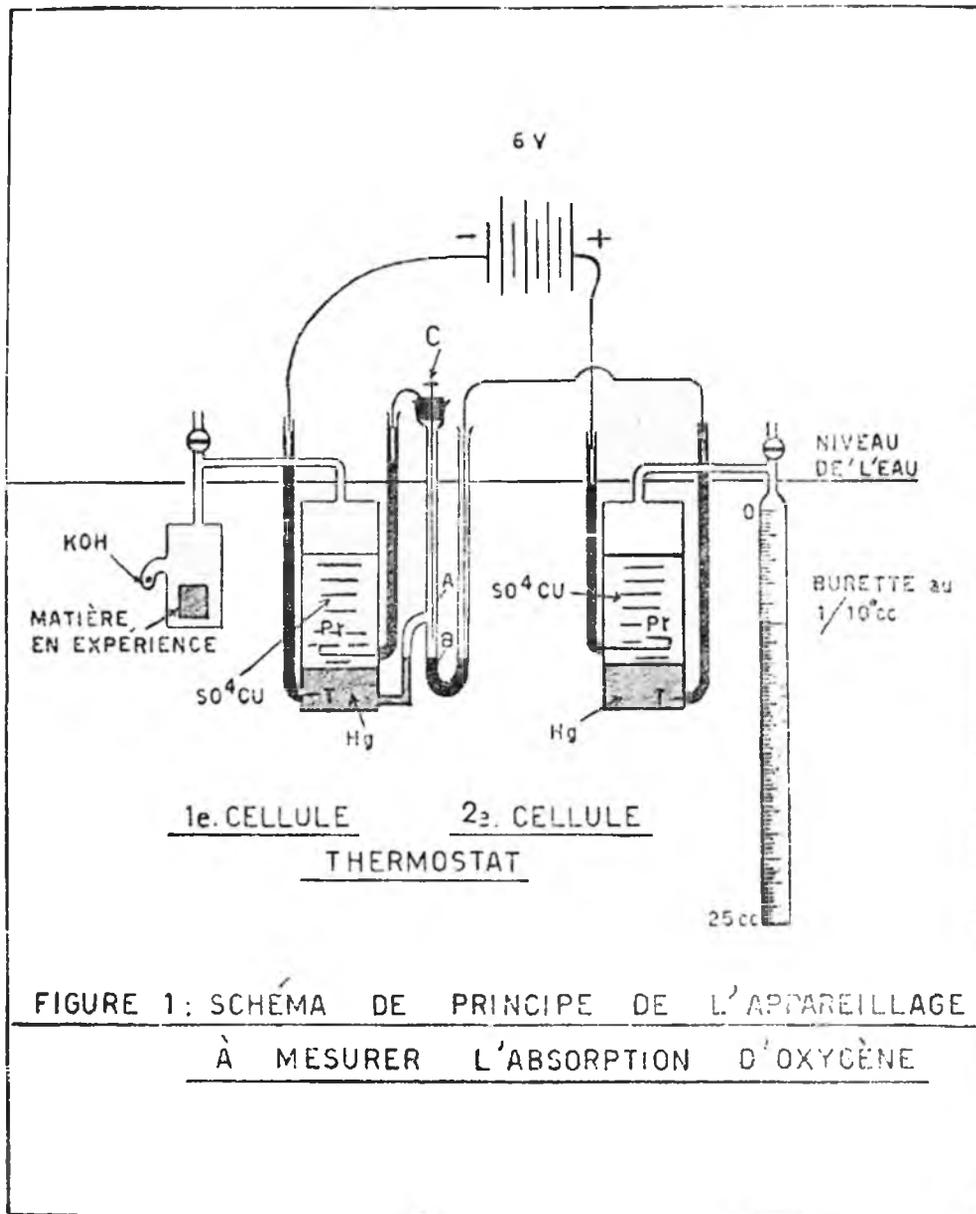
- e) il est possible d'interrompre sans dommage pour l'étude de la cinétique de la réaction le fonctionnement de l'appareil, et pour suivre les mesures.

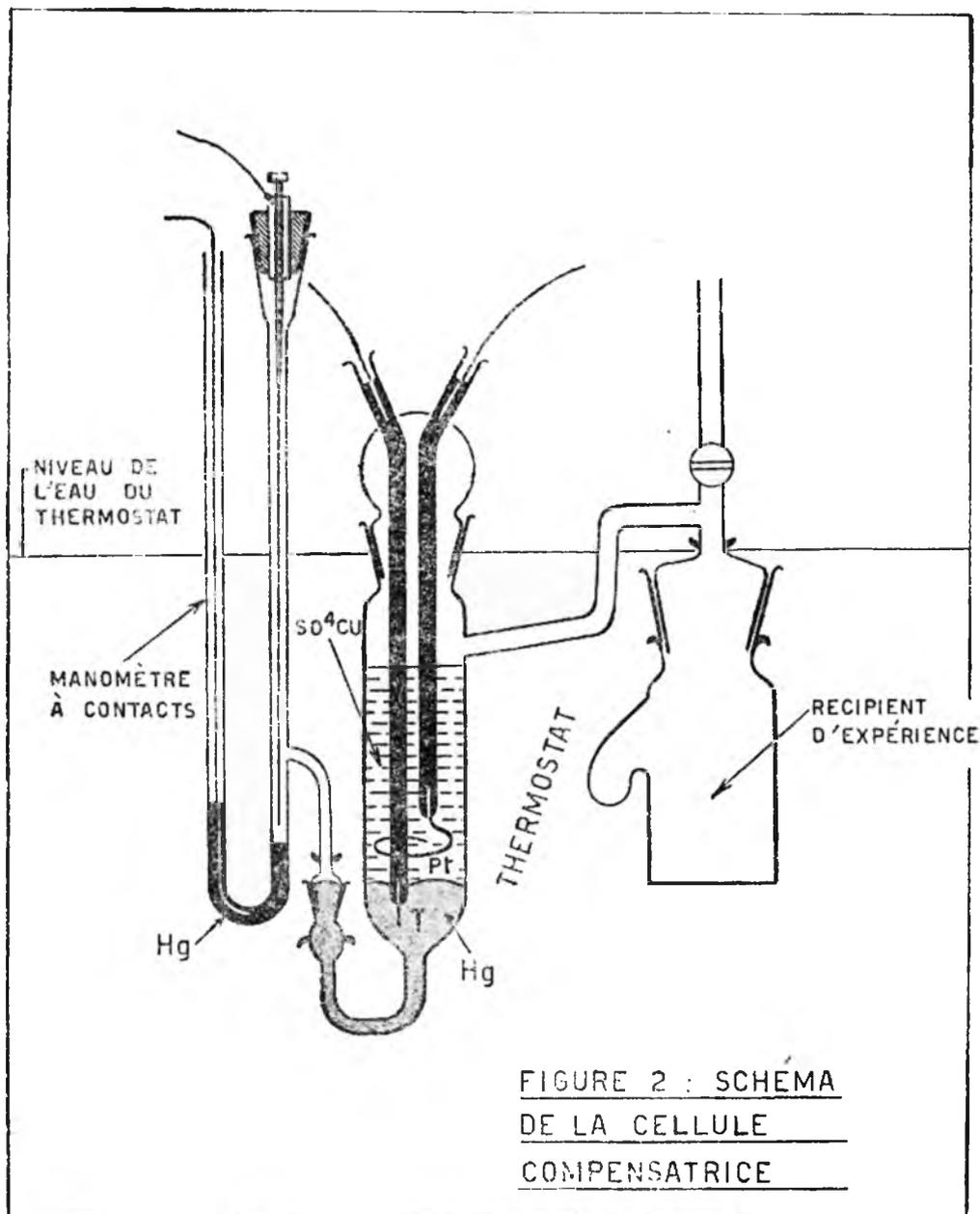
Les applications de cet appareil peuvent être nombreuses: mesures de la respiration des levures, des tissus, de petits animaux, de l'autoxydation des corps gras, de l'oxydation des métaux, etc.. Son automatisme, la simplicité de son fonctionnement, la lecture directe des résultats, son adaptation à l'importance de l'échantillon que l'on veut étudier, le désignent particulièrement pour le laboratoire de contrôle et d'analyse, et pour les essais industriels.

Je tiens à remercier le Professeur Liberalli qui m'a offert l'hospitalité de son laboratoire de Pharmacie Galénique, de la Faculté de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université de S. Paulo, pour y effectuer les premiers essais de l'appareil.

BIBLIOGRAPHIE

- CHEVALIER — MATHÉRON — ROUX — 1941 — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 23:1001
DUBOULOZ, P. — HEDDE, M. F. — GASQUY, C. — 1942 — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 24:1137
DUFRAISSE, Ch. — 1936 — "in" GRIGNARD, V. — *Traité de Chimie Organique*. 2:1153. Paris
GUILHERMOND, A. — MANGENOT, G. — 1941 — *Biologie Végétale*: 326. Paris
LOURY, M. — MEILLER, M. T. — 1949 — *Oléagineux*, 4(2):605
PASTEUR, L. — 1876 — *Études sur la bière*: 248. Paris





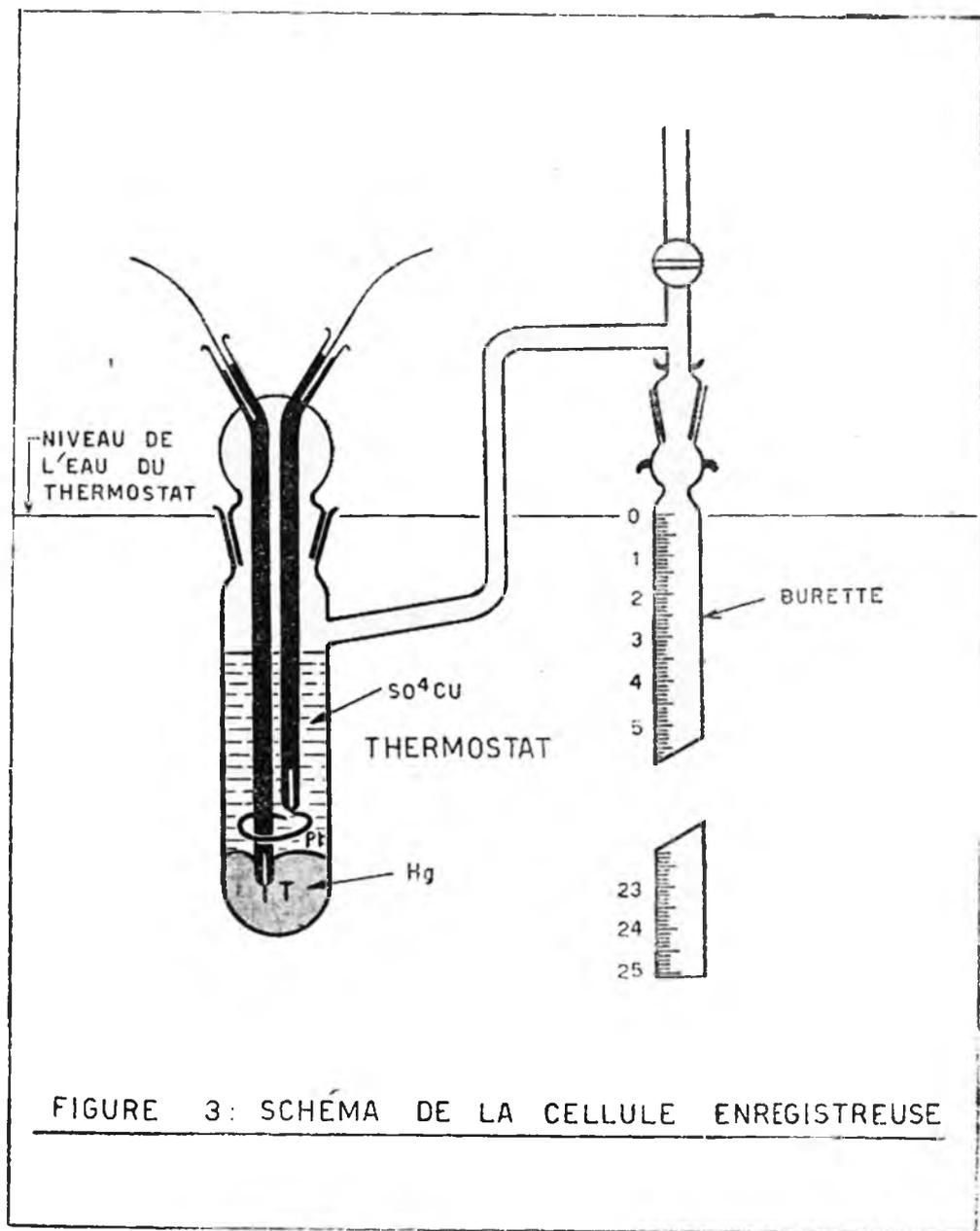


FIGURE 3: SCHEMA DE LA CELLULE ENREGISTREUSE