

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 73 (1982)

Heft: 4

Artikel: Nouveau dispositif pour déterminer la consommation d'oxygène : application au mesurage de diverses oxydations et de quotients respiratoires = New device for measuring oxygen consumption : application to the determination of different oxidations and resp...

Autor: Bosset, J.O. / Graber, B. / Martin, Brigitte

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983463>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 14.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Nouveau dispositif pour déterminer la consommation d'oxygène: application au mesurage de diverses oxydations et de quotients respiratoires*

New Device for Measuring Oxygen Consumption:
Application to the Determination of Different Oxidations and Respiratory
Quotients

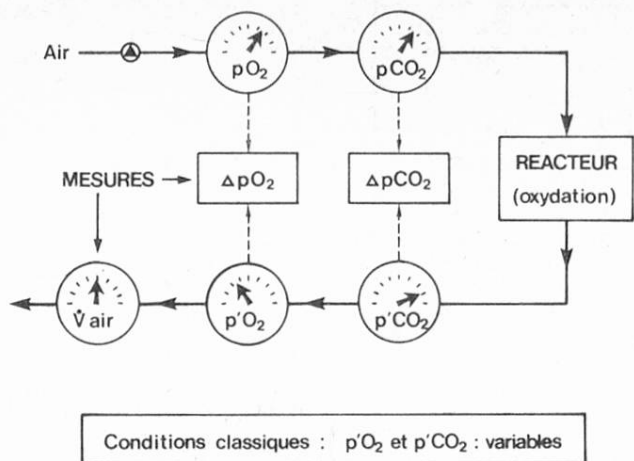
J. O. Bosset, B. Graber, Brigitte Martin et P. Knecht
Station fédérale de recherches laitières, Liebefeld-Berne

Introduction

Les dosages volumétriques ou manométriques classiques de l'oxygène selon *Orsat*, *Haldane*, *Warburg*, et d'autres auteurs (1—6) sont tous basés sur un épuisement de la teneur en ce composé après réaction avec du pyrogallol, du cuivre en poudre, des sels fortement réducteurs, des cellules vivantes etc. Ces procédés sont lents, fastidieux, sensibles à de multiples interférences et dépendent de nombreuses conditions expérimentales. Surtout, ils ne permettent pas de suivre en continu les réactions d'oxydations chimiques ou biochimiques, la stoechiométrie oxygène/réducteur changeant au cours de celles-ci.

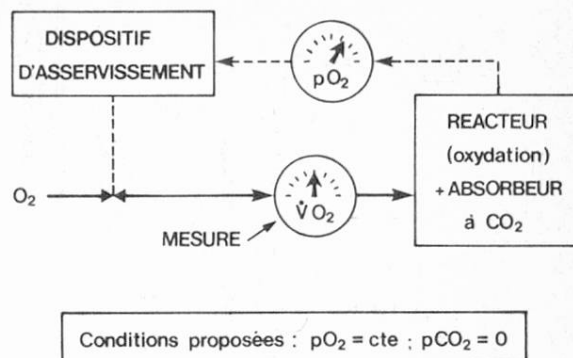
Les méthodes physico-chimiques modernes qui permettent de suivre en continu de telles oxydations sont toutes basées sur un mesurage de l'abaissement de la pression partielle de l'oxygène (pO_2) du flux d'air qui traverse en circuit ouvert le réacteur (7—11). On y mesure la différence ΔpO_2 entre l'entrée et la sortie de ce flux (cf. fig. 1). Ces méthodes exigent néanmoins des détecteurs sensibles, stables et surtout rapides dans leur temps de réponse. En outre, le débit d'air qui traverse le réacteur doit être adapté à la consommation d'oxygène et mesuré de façon précise et exacte. Si un tel principe est bien adapté aux oxydations rapides et intenses telles que combustions, respirations de gros mammifères ou de microorganismes dans de gros bioréacteurs, il s'applique en revanche moins bien à des réactions lentes ou faibles.

* Communication présentée sous la forme de poster lors de la 93^{ème} assemblée annuelle de la Société suisse de chimie analytique et appliquée, les 18 et 19 septembre 1981 à Berne.



Conditions classiques : $p'O_2$ et $p'CO_2$: variables

Fig. 1. Schéma de principe simplifié du dispositif déjà décrit et utilisé pour mesurer la consommation d'oxygène et la production de gaz carbonique lors de réactions d'oxydation telles que combustions et respirations rapides



Conditions proposées : $pO_2 = cte$; $pCO_2 = 0$

Fig. 2. Schéma de principe simplifié — dit par bilan équilibré — du dispositif proposé pour mesurer la consommation d'oxygène et la production éventuelle de gaz carbonique lors de réactions d'oxydation lentes ou faibles

Principe de mesurage proposé

Le nouveau système de mesurage proposé est basé sur un autre principe, celui des bilans équilibrés: on mesure la quantité d'oxygène pur qu'il faut injecter dans le réacteur pour maintenir sa pO_2 constante pendant toute la réaction (oxydation, combustion ou respiration). Un tel système doit donc être isotherme, isobare et de volume constant (cf. fig. 2).

Exemples d'appareillage et d'équipement

L'appareillage et l'équipement nécessaires pour effectuer de tels mesurages doivent être choisis de manière à respecter les conditions ci-dessus définies. De nombreuses variantes sont imaginables. Elles dépendent dans une large mesure du type de réaction et du domaine d'application considérés. Dans son ensemble, un tel dispositif comportera toujours les 4 unités fonctionnelles suivantes:

1. un réacteur;
2. un pO_2 -stat;
3. un système de climatisation;
4. un système d'enregistrement des grandeurs nécessaires.

Un tel dispositif est en fait une version moderne et considérablement améliorée du dispositif proposé en 1849! déjà par *Regnault* et *Reiset* en France et construit plus tard au «Hannah Institute» (8).

Le présent travail propose 2 exemples de réalisation basés sur ce principe, l'un pour des semi-micromesurages (variante A: fig. 3), l'autre pour des macromesurages (variante B: fig. 4).*

* La liste complète détaillée du matériel utilisé pour réaliser ces deux dispositifs peut être obtenue auprès des auteurs.

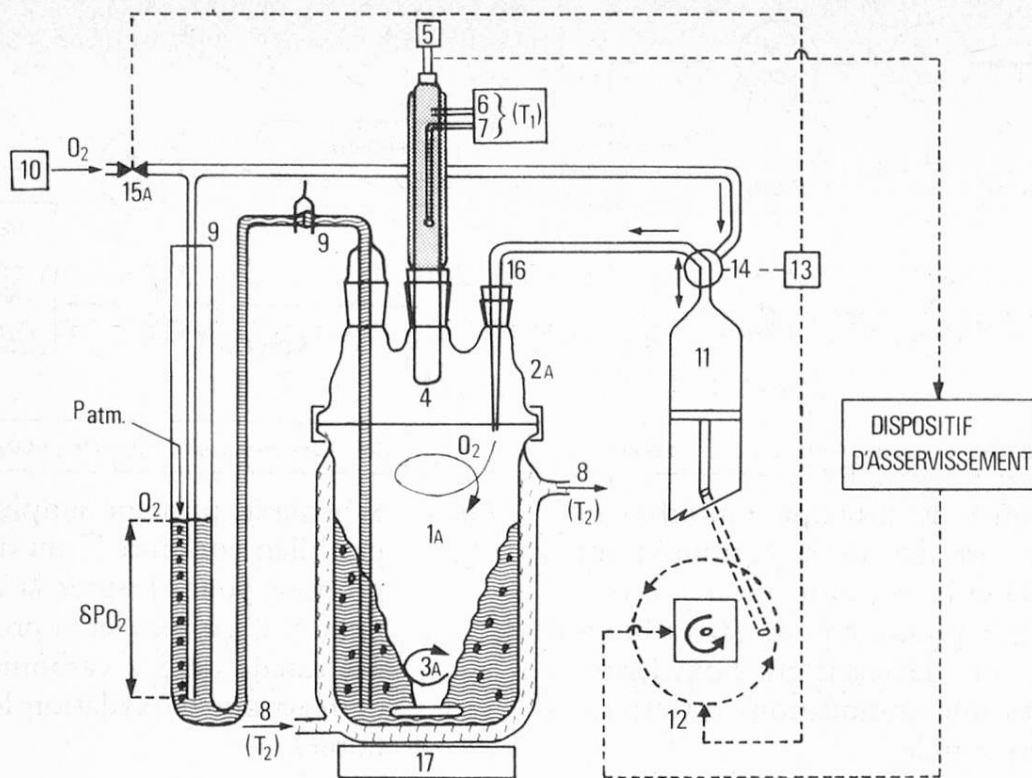


Fig. 3. Détail de l'analyseur proposé pour les semi-micromesures (variante A)

- Pos. 1A: Réacteur en verre de 2 litres
- Pos. 2A: Couvercle en verre à 5 cols rodés avec joint d'étanchéité
- Pos. 3A: Agitateur magnétique très rapide (= turbine radiale)
- Pos. 4: Electrode à pO_2 (= détecteur)
- Pos. 5: Amplificateur de l'électrode à pO_2
- Pos. 6: Alimentation du ruban chauffant
- Pos. 7: Thermorésistance et dispositif de réglage de T_1 } thermostatisation de l'électrode à pO_2
- Pos. 8: Circuit hydraulique de thermostatisation T_2
- Pos. 9: Tube-siphon en S avec une ouverture plongeante et une ouverture à l'air libre (= pressostat)
- Pos. 10: Double manodétendeur à O_2
- Pos. 11: Burette «à gaz» (= DOSIMAT type E 535 de Metrohm, CH-9100 Herisau). Cette burette, constituant l'«unité doseuse de O_2 », est pilotée par les autres éléments modulaires du pO_2 -stat que présente la figure 2 (cf. § Le pO_2 -stat).
N. B. A titre expérimental, ce pO_2 -stat a été équipé d'un double commutateur de valeur limite permettant de faire fonctionner la burette à deux vitesses différentes (très lentement ou très rapidement)
- Pos. 12: Contacts électriques des fins de courses ascendante et descendante du piston de la burette (cf. pos. 11)
- Pos. 13: Totalisateur de burettes complètes
- Pos. 14: Robinet à 3 voies, automatique (cf. pos. 11)
- Pos. 15A: Soupape électromagnétique (s'ouvre seulement pendant le remplissage de la burette, cf. pos. 11)
- Pos. 16: Injection de O_2 par capillaire
- Pos. 17: Moteur d'entraînement de l'agitateur magnétique

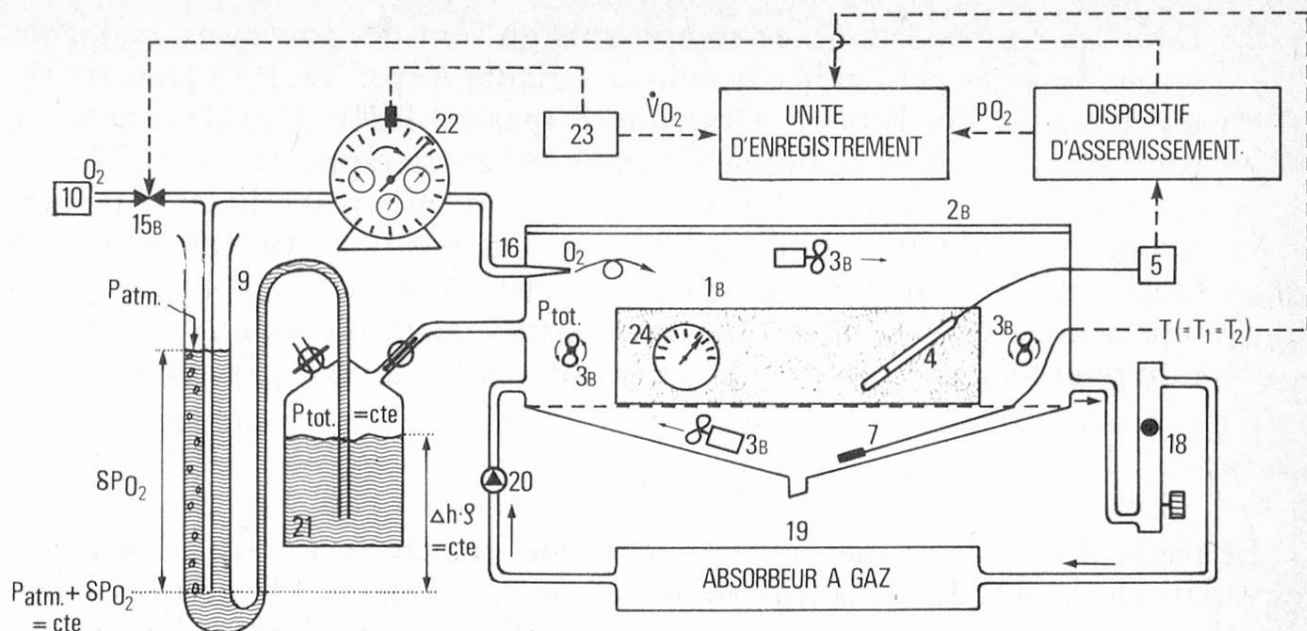


Fig. 4. Détail de l'analyseur proposé pour les macromesures (variante B)

Conditions de travail:

1. $P_{tot} = P_{atm} + \delta P_{O_2} - \rho \Delta h = cte$ (pressostat)
2. $T = T_1 = T_2 = cte$ (thermostat)

- | | |
|---|-----------------|
| Pos. 1B: Réacteur en acier inoxydable de 100 litres | } cf. réf. (12) |
| Pos. 2B: Couverture en plexiglas avec joint d'étanchéité | |
| Pos. 3B: Petits ventilateurs | |
| Pos. 4: Electrode à pO_2 (= détecteur) | |
| Pos. 5: Amplificateur de l'électrode à pO_2 | |
| Pos. 7: Sonde thermique ($T_1 = T_2$) | |
| Pos. 9: Tube-siphon en S avec une ouverture plongeante et une ouverture à l'air libre (= pressostat) | |
| Pos. 10: Double manodétendeur à O_2 | |
| Pos. 15B: Soupape électromagnétique (s'ouvrant à chaque injection de O_2) | |
| Pos. 16: Injection de O_2 par capillaire | |
| Pos. 18: Rotamètre à gaz | |
| Pos. 19: Absorbant à gaz (tels CO_2 , NH_3 , acides/bases volatils etc.) | |
| Pos. 20: Pompe de circulation à gaz | |
| Pos. 21: Flacon de <i>Woufff</i> (faisant office de pressostat avec le tube-siphon (9) grâce à leur grande différence de surfaces libres) | |
| Pos. 22: Montre à gaz | |
| Pos. 23: Marqueur d'impulsions sur le canal d'enregistrement de la température, permettant de repérer chaque tour de la grande aiguille de la montre à gaz (1 impulsion/litre débité) | |
| Pos. 24: Hygromètre à cheveu (= détecteur à pH_2O) | |

La thermostatisation de l'ensemble de l'installation est assurée ici par le local même de thermostatisation.

N. B.: Dans les figures 3 et 4, les composants qui ont des fonctions analogues seront désignés par l'indice A pour la variante A (par. ex. [1A]), respectivement par l'indice B pour la variante B (par ex. [1B]). Afin d'éviter toute confusion, les chiffres indiqués entre crochets se rapporteront aux diverses positions des figures, alors que ceux placés entre parenthèses se rapporteront aux références bibliographiques. Les positions 18 (rotamètre), 19 (absorbeur à CO_2) et 20 (pompe de circulation) de la figure 4 ne sont pas représentées dans la figure 3. Elles constitueraient une boucle de circulation pour les gaz à absorber qui emprunterait les 2 cols rodés non dessinés.

Le réacteur

Le réacteur doit constituer un système fermé, étanche et climatisé. Pour que les variations de $p\text{O}_2$ dues à la consommation, respectivement à l'injection d'oxygène dans le réacteur soient suffisamment sensibles, le volume de ce dernier sera aussi peu surdimensionné que possible par rapport à l'échantillon ou aux réactants. Le réacteur de la variante A permet par exemple le mesurage des quantités de gaz carbonique produit ($+M_{\text{CO}_2}$) et d'oxygène consommé ($-M_{\text{O}_2}$), soit du quotient respiratoire ($QR = M_{\text{CO}_2}/M_{\text{O}_2}$) de petits morceaux de pâte ou de croûte de fromage, de cultures bactériennes ou autres. Le réacteur de la variante B, déjà décrit (12), permet le mesurage du QR de meules de fromage entières, de petits animaux, de plantes etc.

Le $p\text{O}_2$ -stat

Le $p\text{O}_2$ -stat est constitué des composants suivants:

1. une sonde à $p\text{O}_2$ — telle que électrode polarographique selon *Clark* (utilisée dans ce travail), détecteur à susceptibilité magnétique ou autre — placée dans le réacteur;
2. un élément de mesurage analogique de la $p\text{O}_2$;
3. un élément de digitalisation du signal obtenu;
4. un élément de comparaison de ce dernier avec une valeur de consigne, ajustable;
5. un élément permettant une double temporisation (t_1 = attente avant l'injection de O_2 ; t_2 = durée de l'injection de O_2) afin de tenir compte de l'inertie de tout le système, surtout dans la variante B: temps d'injection, d'homogénéisation, de mise en équilibre et de réponse de la sonde à $p\text{O}_2$;
6. un dispositif d'injection et de mesurage de la quantité (M_{O_2}) ou du débit (\dot{M}_{O_2}) d'oxygène injecté dans le réacteur. Dans la variante A, il s'agit d'une burette automatique pour titrage utilisée comme burette à gaz (fig. 3). Dans la variante B, il s'agit d'une montre à gaz munie d'une vanne électromagnétique (fig. 4). Dans les deux variantes, la source est une bouteille d'oxygène comprimé avec double manodétendeur. Pour les micro- et ultramicromesures, on pourrait utiliser un générateur coulométrique d'oxygène, beaucoup plus sensible et très précis.

Le système de climatisation doit assurer le maintien d'une température et d'une pression constantes dans le système.

Thermostatisation

L'électrode de *Clark* a une membrane dont la perméabilité à l'oxygène est modifiée par la présence d'une couche d'eau de condensation. Pour éviter cette interférence, on peut thermostatiser l'électrode à une température T_1 légèrement supérieure (quelques degrés suffisent) à la température de thermostatisation T_2 du réacteur. Cette précaution s'impose (cf. variante A: fig. 3) lorsque la température T_2 est supérieure à la température ambiante (avec des cultures bactériennes par exemple).

Pressurisation

Si l'oxydation étudiée se produit au contact de l'air, ce qui est presque toujours le cas, la pressurisation du réacteur doit prendre en considération chacune des pressions partielles des gaz du milieu réactionnel. Celles des gaz inertes (pN_2 , pAr etc.) demeurent inchangées par définition, tout comme celle, principe de la méthode, du seul gaz qui devrait être consommé (pO_2). Les gaz éventuellement produits par la réaction sont éliminés au fur et à mesure par piégeages sélectifs: gaz carbonique et acides volatils par absorbant alcalin, eau par dessiccatif, ammoniac et bases volatiles par absorbant acide, autres composants organiques par charbon actif etc. En ce qui concerne l'eau, on peut également imposer une pH_2O constante, en utilisant la pression de vapeur d'une solution donnée, par exemple saturée en sel. Lors de l'emploi d'une électrode de type *Clark*, il est recommandé de travailler dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau pour prévenir sa dessiccation.

Une légère surpression δP_{O_2} est nécessaire pour permettre l'injection de l'oxygène dans le réacteur. Cette surpression est ajustée automatiquement et en continu par un «pressostat» constitué par un tube-siphon et un flacon de Woulff, de manière à ce que la pression totale (P_{tot}) dans le réacteur demeure constante et soit indépendante de la pression atmosphérique (P_{atm}), c'est-à-dire que la relation: $P_{tot} = P_{atm} + \delta P_{O_2} - \rho \cdot \Delta h = \text{constante}$ (cf. détail et légende sous fig. 4) soit en tout temps vérifiée. La valeur de pression P_{tot} est utilisée pour le calcul du débit massique ($-\dot{M}_{O_2}$) d'oxygène consommé.

Unité d'enregistrement

Afin de pouvoir contrôler le maintien des conditions de travail, on peut enregistrer en continu certaines grandeurs (pO_2 , T_1 , T_2 etc.). L'enregistrement des déplacements du piston de la burette à O_2 [11] ou des impulsions produites par le capteur de proximité monté sur la montre à O_2 [22 + 23] permet de suivre en continu la réaction.

Résultats expérimentaux

Le bon fonctionnement du dispositif proposé a été vérifié en suivant trois réactions d'oxydation stoechiométriques soit:

- la combustion complète du butane (variante B);
- l'autoxydation de la benzaldéhyde en acide benzoïque (variante A);
- l'oxydation microbiologique de l'éthanol en acide acétique (variante A).

Dans les exemples d'applications pratiques, le dispositif a ensuite été utilisé pour mesurer:

- la consommation d'oxygène et, de façon complémentaire, le comportement du quotient respiratoire de rats soumis à diverses diètes (variante B);
- les mêmes grandeurs, pendant une semaine environ, pour un fromage en maturation (variante B).

Combustion du butane

La combustion du butane a déjà été utilisée pour l'étalonnage d'un respiromètre (13). Pour assurer une combustion complète, sans formation de monoxyde de carbone ou de carbone qui fausseraient la stoechiométrie, il faut veiller à faire brûler le butane très lentement avec une microflamme (bleue: diamètre apparent d'environ 2 à 3 mm). Cette première précaution est également nécessaire pour limiter au strict minimum l'élévation inévitable de la température à l'intérieur du réacteur (de 2 à 3 °C environ). Une seconde précaution est d'attendre d'abord que l'électrode à pO_2 se soit mise en équilibre avec l'espace de tête du réacteur fermé et saturé en vapeur d'eau (= fond légèrement humide). D'où la nécessité de disposer d'un allumage automatique à distance qui se répète d'ailleurs à intervalles réguliers pour prévenir tout danger d'accumulation et d'explosion du butane dans le réacteur au cas où la flamme viendrait à s'éteindre.

Pratiquement, cet essai a été réalisé comme suit: le butane (qualité N 20 de *Air Liquide*, c/o *Carbagas*, CH-3097 Liebefeld-Berne) contenu dans une cartouche de 50 g munie d'une microvanne à aiguille (type Millimite M 1315 G4B de *Air Liquide* également) est introduit au milieu du fond du réacteur [1B], vide, au moyen d'un fin conduit ($\phi = 2$ mm) de cuivre. Le moment voulu, on ouvre la microvanne pour laisser s'écouler le butane à raison d'environ 0,5 à 1 g/h et on l'enflamme électriquement au moyen d'un bref arc électrique à haute tension que l'on reproduit ensuite toutes les minutes environ. En laissant la combustion se dérouler régulièrement pendant divers laps de temps, on obtient diverses valeurs pour $-M_{O_2}$ et $+M_{CO_2}$. Les quantités de butane brûlées sont déterminées chaque fois par gravimétrie avant et après la combustion, à 10 mg près. Les quantités d'eau produites par la combustion n'interviennent pas. L'eau reste d'ailleurs condensée dans la cuve.

Les quantités d'oxygène effectivement consommées (ordonnée I de la fig. 5) après divers temps de réaction sont mesurées sur la montre à gaz du pO_2 -stat à



QR = 0,615

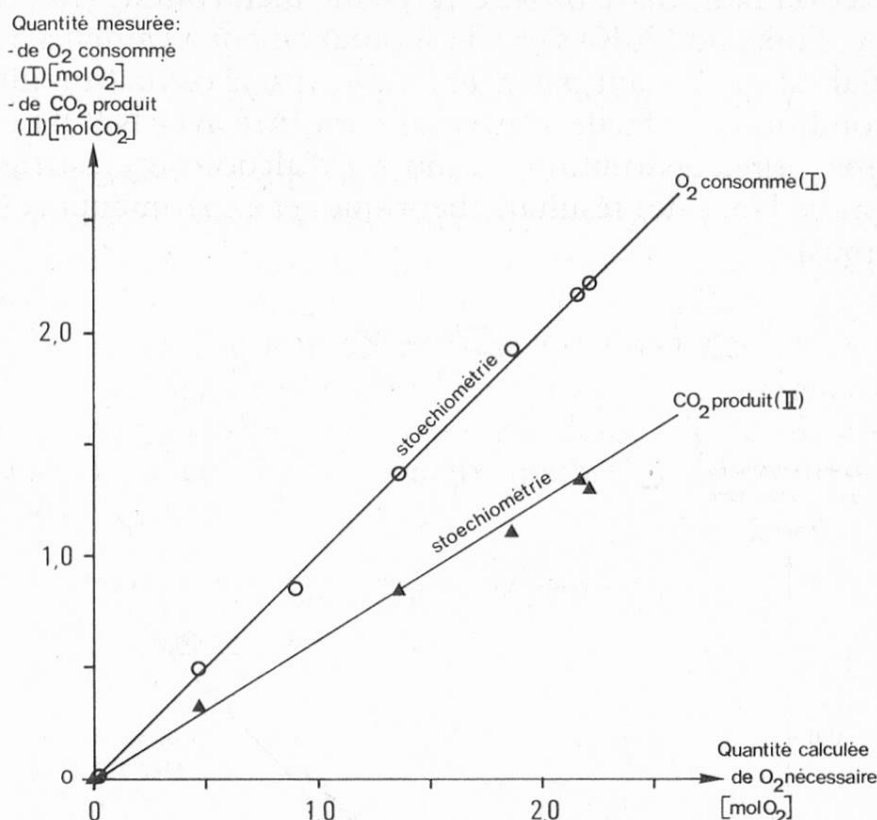


Fig. 5. Vérification expérimentale du fonctionnement du dispositif proposé (variante B pour macromesures) en utilisant la combustion complète du butane comme réaction d'oxydation stoéchiométrique modèle

Droite de régression pour O₂: pente = 1,01; ord. orig. = -0,01

Droite de régression pour CO₂: pente = 0,619; ord. orig. = -0,05

pression totale et à température quasi constantes et connues. Elles sont comparées aux quantités d'oxygène théoriquement nécessaires, calculées selon la stoéchiométrie de la combustion du butane (abscisse de la fig. 5). La concordance de ces valeurs est caractérisée par un coefficient de corrélation $r = 0,999$ ($n = 7$ déterminations). Les quantités de gaz carbonique effectivement produites (ordonnée II de la fig. 5) sont dosées (14) après absorption continue en circuit fermé dans une batterie de 4 barboteurs analytiques (15) montés en série et contenant une solution concentrée d'hydroxyde de sodium et quelques gouttes d'un antimoussant (Emkalxy-Plutonic L 61[®] de Ugine Kuhlmann*). Elles sont également comparées aux quantités d'oxygène théoriquement nécessaires, soit sur la base d'un $QR = 0,615$. A nouveau, la concordance des valeurs théoriques et expérimentales est caractérisée par un coefficient de corrélation $r = 0,994$ ($n = 6$ déterminations).

* 25 bld. Amiral Bruix, F. Paris XVI^{ème}

Représentation Suisse: A. H. Meier & Cie. AG., 8040 Zürich

Autoxydation de la benzaldéhyde

Par une réaction radicalaire photocatalysable bien connue (16), la benzaldéhyde (puriss, p. A., Fluka no 12010) s'oxyde spontanément à l'air en acide benzoïque. Ce produit final est intéressant parce que stable (pas d'oxydation ultérieure possible dans ces conditions) et facile à titrer (aliquot titré avec NaOH en présence de phénolphtaléine, après dissolution au moyen d'alcool pur). La figure 6 montre l'excellente concordance des résultats théoriques et expérimentaux ($r = 1,000$; $n = 5$ déterminations).

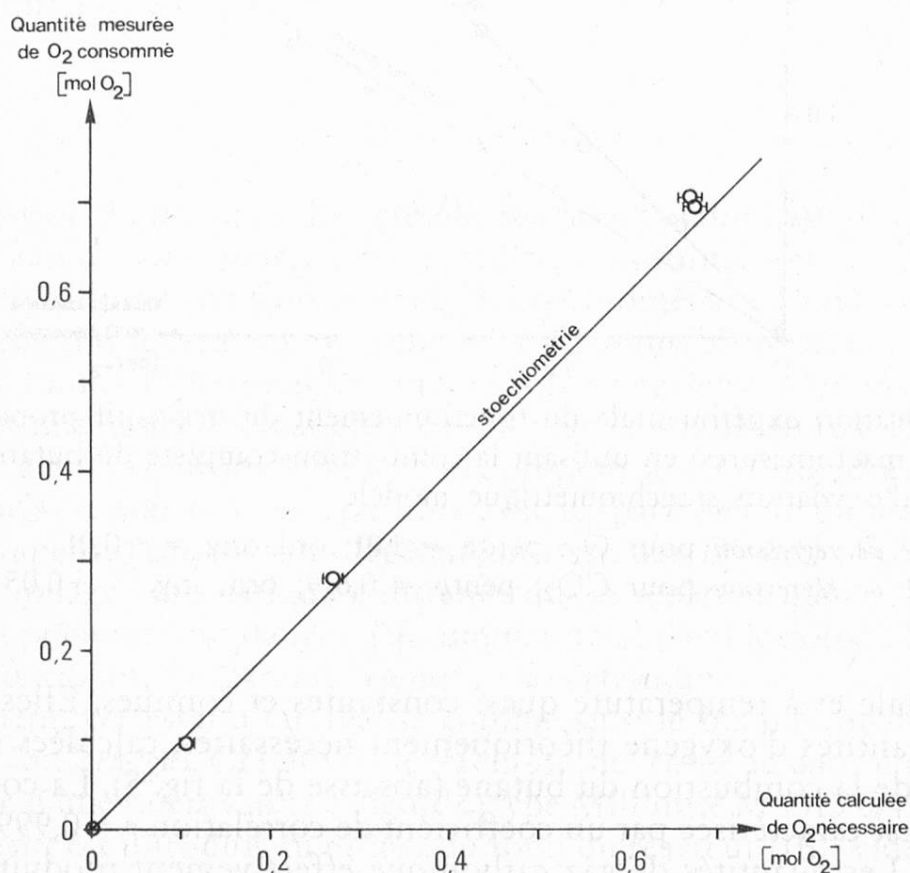
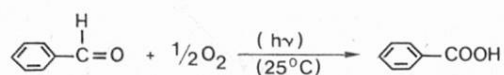


Fig. 6. Vérification expérimentale du fonctionnement du dispositif proposé (variante A pour semi-micromesures) en utilisant l'autoxydation de la benzaldéhyde en acide benzoïque comme réaction stoechiométrique modèle

Droite de régression: pente = 1,05; ord. orig. = -0,01

En pratique, il n'est pas possible d'oxyder en acide benzoïque toute la benzaldéhyde engagée — ce qui eût permis une vérification stoechiométrique supplémentaire — parce que l'acide benzoïque formé, en cristallisant dans la benzaldéhyde liquide, bloque progressivement l'apport de l'oxygène au milieu réactionnel, donc la réaction elle-même. La vitesse de la réaction dépend d'ailleurs fortement

de la vitesse de l'agitation. La réaction est donc stoechiométrique, mais non quantitative.

Oxydation microbologique de l'éthanol en acide acétique

L'oxydation microbologique de l'éthanol (absolu, p. A., Merck no 983) par le *Gluconobacter oxydans* (LBG-B no 4111, aimablement mis à disposition pour cet essai par le Prof. L. Ettlinger, Mikrobiologisches Institut der ETH-Zürich) produit de l'acide acétique (17). La réaction a lieu à 25 °C (cf. fig. 3: $T_2 = 25\text{ °C}$; $T_1 = 30\text{ °C}$ pour éviter la condensation d'eau sur la membrane de l'électrode à pO_2) et dans un tampon phosphate (0,1 mol/l) de pH = 5,5. La présence de ce tampon exclut le titrage direct (NaOH avec phénolphtaléine) de l'acide acétique formé. Aussi, ce dernier a-t-il été dosé par deux méthodes différentes:

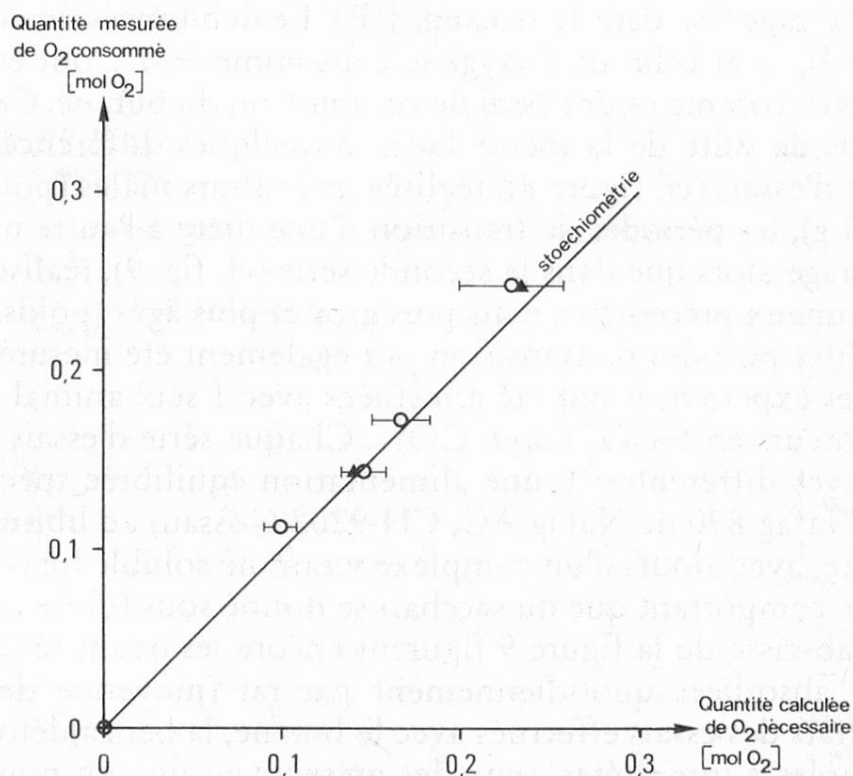
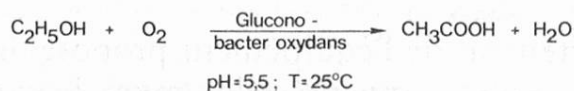


Fig. 7. Vérification expérimentale du fonctionnement du dispositif proposé (variante A pour semi-micromesures) en utilisant l'oxydation enzymatique de l'éthanol en acide acétique comme réaction stoechiométrique modèle

▲ = dosage acidimétrique classique de l'acide acétique formé, après distillation quantitative d'un aliquot à la vapeur d'eau

○ = dosage enzymatique (18) de l'acide acétique formé

Droite de régression: pente = 0,935; ord. orig. = 0,002

1. par le titrage direct susmentionné, après une distillation quantitative d'un aliquot à la vapeur d'eau (cf. les 2 valeurs repérées par un triangle plein sur la fig. 7);
2. par un dosage enzymatique (18) commercialisé (cf. les 4 valeurs repérées par un cercle sur cette même figure).

La figure 7 montre la concordance des valeurs théoriques et expérimentales, aux erreurs de dosage près ($r = 0,997$; $n = 7$ déterminations).

Pour éviter le risque d'inhibition des bactéries utilisées, on ne peut guère aller au-delà de 1,5% v/v d'éthanol pour la concentration initiale. A nouveau, la réaction est stoechiométrique, mais non quantitative, même après plusieurs jours. Une très forte agitation du milieu réactionnel est en outre nécessaire pour éviter une inactivation trop rapide des bactéries par anaérobiose.

Détermination du quotient respiratoire de rats soumis à diverses diètes

Afin de tester le comportement de l'équipement proposé dans des conditions d'utilisation réelles et plus complexes que précédemment, la variante B a été utilisée pour déterminer le quotient respiratoire QR de rats soumis à diverses diètes et placés dans une cage sise dans le réacteur [1B]. Le débit massique du gaz carbonique produit $+\dot{M}_{CO_2}$ et celui de l'oxygène consommé $-\dot{M}_{O_2}$ ont été mesurées expérimentalement comme pour l'essai de combustion du butane. Ces essais ont été effectués 2 fois de suite de la même façon à quelques différences près. Dans la première série d'essais (cf. figure 8), réalisée avec 3 rats mâles (poids initiaux 350 g; 361 g et 403 g), les périodes de transition d'une diète à l'autre n'ont fait l'objet d'aucun mesurage alors que dans la seconde série (cf. fig. 9), réalisée avec 2 seulement des 3 animaux précédents, mais plus gros et plus âgés (poids initiaux: 545 g et 604 g), lesdites périodes de transition ont également été mesurées. Pendant les «week-ends» les expériences ont été effectuées avec 1 seul animal pour ne pas saturer les barboteurs en HCO_3^- ou en CO_3^{2-} . Chaque série d'essais comporte trois diètes successives différentes: 1. une alimentation équilibrée spécialement destinée aux rats (Nafag 890 de Nafag AG, CH-9202 Gossau) ad libitum; 2. une diète hydrique stricte, avec ajouts d'un complexe vitaminé soluble lors du second essai; 3. une diète ne comportant que du saccharose donné sous forme de sucre en morceaux. Sous l'abscisse de la figure 9 figurent encore les quantités approximatives de nourriture absorbées quotidiennement par rat (moyenne de 2 rats).

Si les résultats des essais effectués avec le butane, la benzaldéhyde et l'éthanol sont assez simples à interpréter, ceux des présents essais sont plus complexes vu le nombre de facteurs, parfois interdépendants, susceptibles d'intervenir. Dans les cas du QR des rats, on retrouve pourtant des valeurs bien connues et confirmées (cf. fig. 8 et 9).

Après quelques jours d'une alimentation équilibrée, le QR se stabilise à $0,93 \pm 0,01$, valeur qui est très proche de la moyenne pondérée des QR des divers nutriments de cette diète:

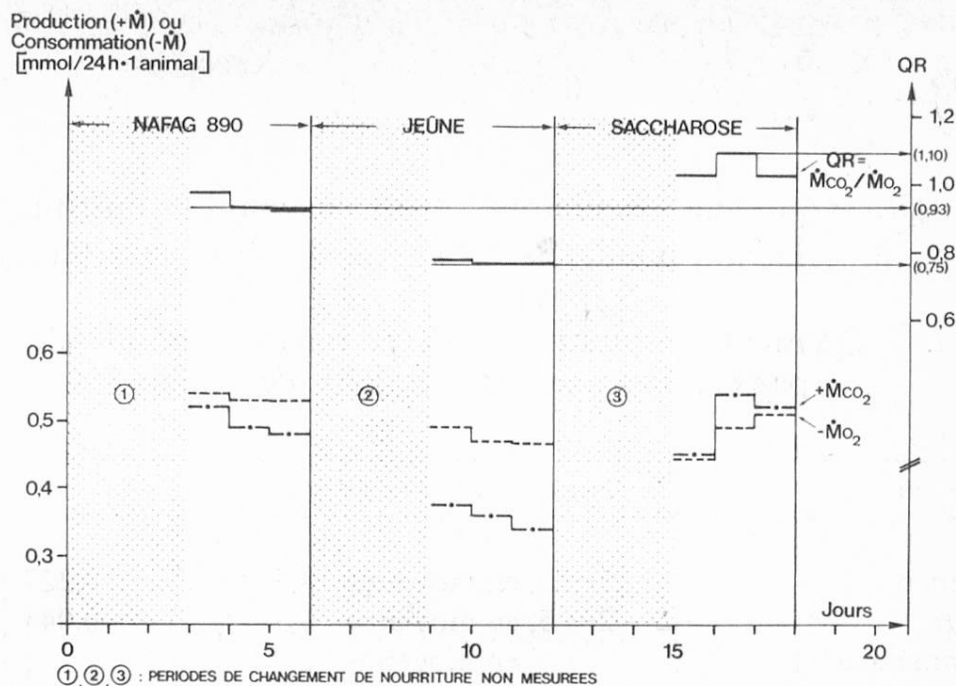


Fig. 8. Détermination des débits massiques du gaz carbonique produit ($+M_{CO_2}$) et de l'oxygène consommé ($-M_{O_2}$) ainsi que du quotient respiratoire QR de rats soumis à diverses diètes (1^{ère} série d'essais)

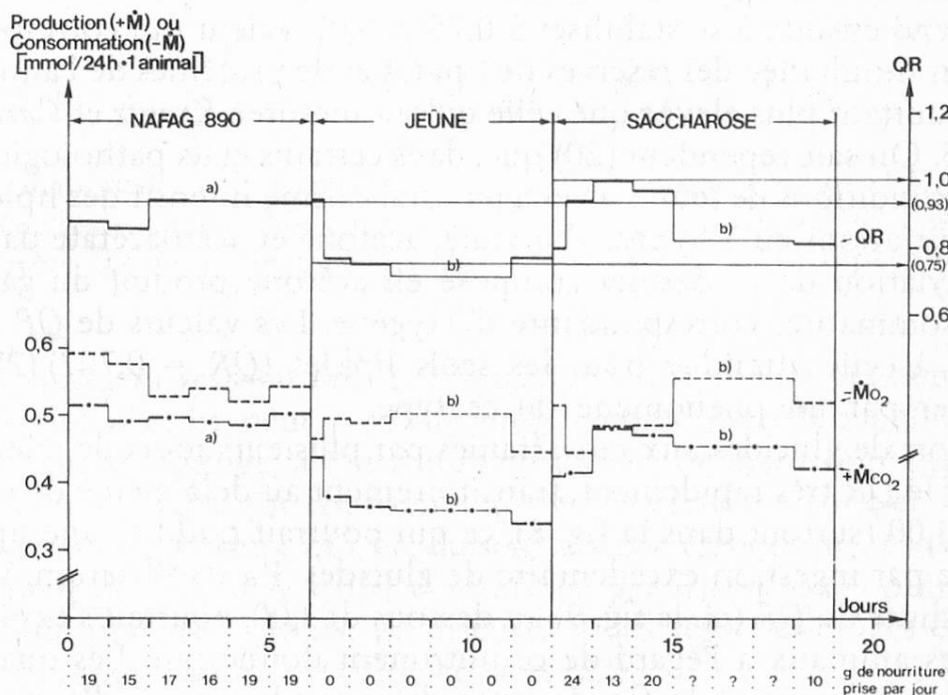


Fig. 9. Détermination des débits massiques du gaz carbonique produit ($+M_{CO_2}$) et de l'oxygène consommé ($-M_{O_2}$) ainsi que du quotient respiratoire QR de rats soumis à diverses diètes (2^{ème} série d'essais)

a) Valeur manquante (barboteurs saturés en CO_3^{2-}) interpolée

b) Valeur mesurée avec *un seul* rat dans le respiromètre pendant les week-ends pour éviter une telle sursaturation des barboteurs en CO_3^{2-}

$$QR_{\text{diète}} = \sum_{i=1}^{i=3} QR_i \cdot x_i = 0,94$$

où:

QR_i = quotient respiratoire } de chacun des constituants principaux
 x_i = fraction pondérale } i de la diète cf. tableau 1)

Tableau 1. Quotients respiratoires QR et fractions pondérales x des principaux composants de la diète de Nafag 890

Composants	Composition globale (%) p/p	x	QR
Protéines	17–20, en moyenne 18,5	0,227	0,801 (21)
Lipides	2– 5, en moyenne 3,5	0,043	0,707 (21)
Sels minéraux	en moyenne 6,0		
Eau	12–13, en moyenne 12,5		
Glucides et ballast	solde, en moyenne 59,9	0,730	1,000 (21)
		Total = 1,000	

La diète hydrique qui suit fait d'abord tomber très rapidement et fortement le QR qui tend ensuite à se stabiliser à $0,75 \pm 0,01$, valeur qui correspondrait à une utilisation simultanée des réserves de lipides et de protéines de l'animal. Cette valeur est pourtant plus élevée que celle qu'ont mesurée *Krantz* et *Carr* en 1935 (19), soit 0,725. On sait cependant (20) que, dans certains états pathologiques ainsi que dans des conditions de jeûne sévère, un catabolisme intensif des lipides augmente les concentrations en 3-hydroxybutyrate, acétone et acétoacétate dans le sang. La décarboxylation de ce dernier composé en acétone produit du gaz carbonique sans consommation correspondante d'oxygène. Les valeurs de QR mesurées, supérieures à celle attendue pour les seuls lipides ($QR = 0,707$) (21), pourraient s'expliquer par un phénomène de ce type.

L'apport de glucides aux rats affamés par plusieurs jours de jeûne fait ensuite remonter le QR très rapidement, transitoirement au-delà même de la valeur théorique de 1,00 (surtout dans la fig. 8), ce qui pourrait traduire une lipogénèse momentanée par ingestion excédentaire de glucides. La stabilisation, voire à la longue la rechute du QR (cf. la fig. 9) au-dessous de 1,00, pourrait s'expliquer par une satiété des animaux à l'égard de ce nutriment donné pur. Les quantités de saccharose consommées à la fin de cette diète tendraient d'ailleurs à le prouver.

Détermination du «quotient respiratoire» d'un fromage

En utilisant exactement le même dispositif (variante B) et le même mode opératoire que précédemment, on a déterminé le débit massique de gaz carbonique

produit et celui d'oxygène consommé par un fromage de Gruyère pendant sa sixième semaine de maturation en cave chaude (19 °C) (cf. fig. 10).

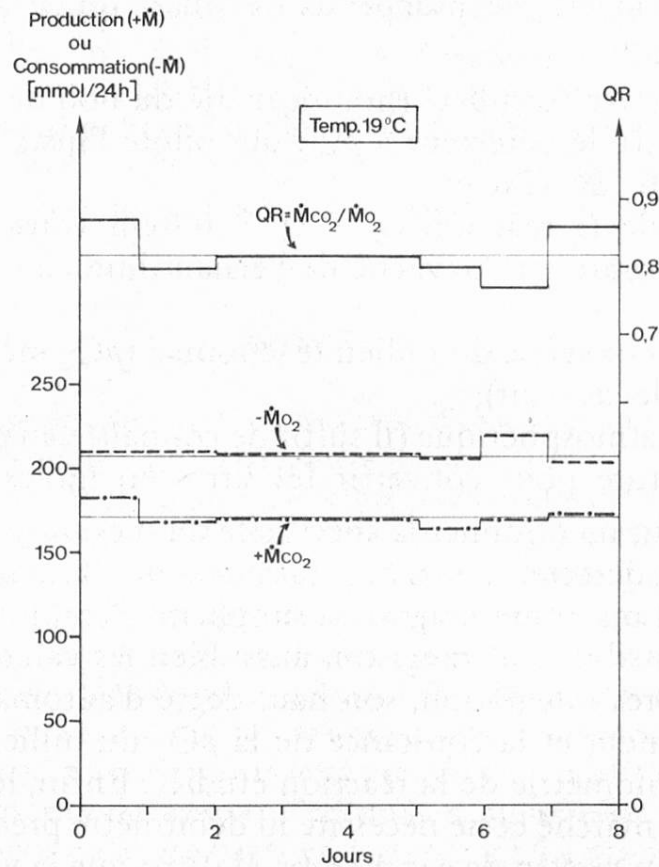


Fig. 10. Détermination des débits massiques du gaz carbonique produit ($+M_{CO_2}$) et de l'oxygène consommé ($-M_{O_2}$) ainsi que du quotient respiratoire QR d'un fromage de Gruyère âgé de 6 semaines lors d'un encavage de 8 jours consécutifs à 19 °C

Le pseudo «quotient respiratoire» $QR = 0,83 \pm 0,01$ que l'on peut en déduire est néanmoins global et ne peut être interprété comme précédemment avec les rats. Pour un fromage à morge, les microorganismes et, de manière plus générale, les processus métaboliques qui consomment de l'oxygène ne sont en effet pas forcément les mêmes que ceux qui produisent du gaz carbonique. On retrouve pourtant la valeur de QR (0,8 à 0,9) déterminée par *Kiermeier* (7) pour des camemberts âgés de plus de 15 jours. La discussion des résultats de ces essais fait l'objet d'une communication détaillée séparée (22).

Conclusion

Les essais présentés dans ce travail montrent que le dispositif proposé, basé sur le principe d'un bilan équilibré (M_{O_2} consommé = M_{O_2} restitué), peut être

employé avec succès pour mesurer la consommation d'oxygène de réactions d'oxydation chimiques ou biochimiques lentes ou faibles. Ce dispositif, testé aussi bien dans sa variante pour semi-micromesurages (A) que dans sa variante pour macromesurages (B), présente un grand nombre d'avantages, au nombre desquels il faut d'abord relever une indépendance quasi totale à l'égard notamment:

- du type d'oxydation considéré;
- du type de matrice considéré (homogénéité ou non de l'échantillon et du milieu réactionnel), le détecteur à pO_2 qui pilote l'installation étant situé dans l'espace de tête du réacteur;
- de la vitesse de la réaction (si P et T restent constantes);
- de la teneur propre en l'oxygène de l'échantillon (sous forme d'oxygène dissous);
- de la teneur en oxygène du milieu réactionnel (pO_2 même plus élevée ou plus basse que celle de l'air);
- de la pression atmosphérique (il suffit de connaître au début la pression totale et la température pour convertir les litres en moles de O_2).

En outre, il faut mentionner la spécificité du mesurage (déterminée exclusivement par celle du détecteur), son adaptabilité à des domaines très différents (micro, semi-micro et macromesurages), sa simplicité d'emploi (aucune manipulation à effectuer), la possibilité d'enregistrer aussi bien les valeurs instantanées que les valeurs totales après intégration, son haut degré d'automatisme, la possibilité de stériliser l'équipement et la constance de la pO_2 du milieu qui ne risque pas de modifier la stoechiométrie de la réaction étudiée. Enfin, le dispositif proposé est relativement bon marché et ne nécessite ni débitmètre précis et exact (cf. fig. 1), ni calibrage absolu au moyen de gaz étalons. Il suffit que la valeur de consigne, relative, reste constante durant les mesures..

La principale source d'erreur de mesure du système proposé est la dérive du détecteur à pO_2 , donc de la valeur de consigne. Des mesures obtenues sur plusieurs mois consécutifs ont montré que cette dérive peut atteindre 1% relatif par 24 heures et non 2% par semaine comme l'indique le fabricant de l'électrode utilisée (23). Si la précision du contrôle de la pO_2 dans le réacteur est garantie à 0,1% relatif, l'erreur absolue totale sur les valeurs mesurées dépend aussi du volume total du réacteur. Plus petit est ce dernier, plus précis sera la mesure.

Le champ d'application du dispositif proposé est très étendu. Outre la détermination du QR de petits animaux, de plantes, de microorganismes, de tissus ou même de fromages — but pour lequel ce dispositif a été développé, — on pourrait également l'envisager dans le domaine très vaste des mesurages de BOD (biological oxygen demand values) et des ThOD (theoretical oxygen demand values) que nécessitent les études de biodégradabilité des boues dans les stations d'épuration (par exemple: 24) ou l'optimisation de certaines réactions du génie biologique (par exemple: 25, 26).

Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer ici leur gratitude au Prof. Dr E. Jéquier, Division de physiologie clinique et Institut de physiologie de l'Université de Lausanne (CHUV) pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et pour ses conseils. Leur reconnaissance va également à leurs collègues de la Station fédérale de recherches laitières qui ont contribué à la réalisation de ce travail, notamment au Dr H. Glättli qui a mis à disposition les cultures concentrées de *Gluconobacter oxydans* prêtes à l'emploi, au Dr R. Sieber pour son assistance pour les essais avec les rats, au Dr M. Collomb pour certains dosages ainsi qu'au Dr J. Jimeno pour ses précieuses discussions et informations lors de la rédaction du manuscrit.

Résumé

Le principe proposé pour déterminer la quantité d'oxygène consommée lors de réactions chimiques ou biochimiques lentes consiste à mesurer, à P , V , et T constants, le volume de O_2 qu'il faut injecter dans un système fermé pour maintenir sa pO_2 constante. On évite ainsi un épuisement progressif de l'oxygène disponible en début de réaction, effet susceptible d'influencer les réactions étudiées. Le dispositif adopté travaille comme suit: le signal d'un détecteur à pO_2 (par exemple électrode polarographique dite de Clark) situé dans l'espace de tête d'un réacteur est traité électroniquement et comparé en continu à une valeur de consigne, ajustable. Une différence relative de 0,1% de la pO_2 suffit pour enclencher l'équipement qui délivre et mesure volumétriquement l'oxygène (une burette automatique ou une montre à gaz). Le système a été testé avec divers modèles simples (combustion de butane; oxydations de benzaldéhyde et d'éthanol) et utilisé pour le mesurage de quotients respiratoires (rats sous diète; fromages en maturation). La précision des résultats est fonction du volume de l'espace de tête et de la stabilité du détecteur à pO_2 . Le système est entièrement automatique et permet des expériences de longue durée.

Zusammenfassung

Das vorgeschlagene Meßprinzip zur Bestimmung des O_2 -Verbrauchs von langsamen chemischen oder biochemischen Reaktionen besteht darin, bei gleichem P , V und T das O_2 -Volumen zu messen, das in ein geschlossenes System eingeführt werden muß, um sein pO_2 konstant zu halten. Auf diese Weise wird ein allmähliches Versiegen des zu Beginn der Reaktion vorhandenen Sauerstoffes verhindert, damit dies die untersuchten Reaktionen nicht beeinflussen kann. Die verwendete Meßvorrichtung funktioniert folgendermaßen: Das Signal eines pO_2 -Meßfühlers (z. B. polarographische Clark-Elektrode), der sich im Dampfraum eines Reaktors befindet, wird elektronisch verarbeitet und ständig mit einem einstellbaren Sollwert verglichen. Eine relative Differenz von 0,1% im pO_2 genügt, um die O_2 -Zufuhr (automatische Bürette oder Gasuhr) einzuschalten. Das System wurde an verschiedenen einfachen Modellen geprüft (Verbrennung von Butan; Oxidationen von Benzaldehyd, Ethanol) sowie für die Messung verschiedener Atmungsquotienten angewendet (Ratten bei verschiedenen Diäten; Käse während der Reifung). Die Präzision der Meßwerte ist abhängig vom Volumen des Dampfraums und der Stabilität des pO_2 -Meßfühlers. Das System ist vollautomatisch und ermöglicht langfristige Messungen.

Summary

The principle proposed for determining the oxygen consumption of slow chemical or biochemical reactions consists in measuring, at constant P , V and T , the O_2 volume to be injected into a closed system in order to keep constant its pO_2 . Such a system avoids progressive exhaustion of the oxygen available at the beginning of the reaction, effect that might influence the reactions studied. The device adopted works as follows: the signal of a pO_2 detector (e. g. polarographic Clark electrode) which is in the headspace of a reactor is electronically processed and continuously compared to an adjustable reference value. A relative difference of 0,1% in the pO_2 is sufficient to switch on the oxygen supplier (automatic burette or gas meter). The system has been tested with different simple models (combustion of butane, oxidation of benzaldehyde, ethanol) and it has also been used for measuring different respiratory quotients (rats on diet, cheese ripening). The accuracy of the measured values depends on the volume of the headspace and the stability of the pO_2 detector. The system is fully automatic and permits long-term measurements.

Bibliographie

1. *Hempel, W.*: Gasanalytische Methoden; 3. Auflage. F. Vieweg und Sohn, Braunschweig 1900.
2. *Schwarz, H.*: Die Mikroanalyse und ihre Anwendung. (Monographien aus dem Gesamtgebiet der Mikrochemie.) E. Haim und Co., Wien und Leipzig 1935.
3. *Bayer, F. und Wagner, G.*: Gasanalyse: Methoden der Arbeitspraxis. 3. Auflage. F. Enke, Stuttgart 1960.
4. *Umbreit, W. W., Burris, R. H. and Stauffer, J. F.*: Manometric technics; 4th edition. Burgess, Minneapolis 1964.
5. *Cox, K. J.*: An apparatus for rapid oxygen determinations in gases. *Lab. Pract.* **29**, 151 (1981).
6. *Bakri, M.*: A recording differential respirometer. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **162**, 41–46 (1976).
7. *Kiermeier, F. und Wolfseder, H.*: Über das Verhalten von Käse in der Verpackung: III. Über den Einfluß der Verpackung auf den Gasstoffwechsel von Camembert. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* **150**, 75–83 (1972).
8. *Blaxter, K. L.*: The energy metabolism of ruminants. Hutchinson, London 1962.
9. *Jéquier, E.*: Métabolisme énergétique. *Encycl. Méd. Chir. Paris; Nutrition*, 10371 A 10, 11–1980.
10. *Käppeli, O. und Fiechter, A.*: Biological method for the measurement of the maximum oxygen transfer rate of a bioreactor at definite conditions. *Biotechnol. Bioeng.* **22**, 1509–1512 (1980).
11. *Cammell, S. B., Beever, D. E., Skelton, K. V. and Spooner, M. C.*: The construction of open-circuit calorimeters for measuring gaseous exchange and heat production in sheep and young cattle. *Lab. Pract.* **30**, 115–119 (1981).
12. *Blanc, B., Bosset, J. O. et Pauchard, J. P.*: Etude de la teneur et du dégagement en gaz carbonique du fromage de Gruyère en cours de maturation. *Schweiz. Milchw. Forsch.* **9**, 9–14 (1980).

13. *Thomson, E. F.*: Description of simplified open-circuit respiration equipment for cattle. *Lab. Pract.* **28**, 1315–1317 (1979).
14. *Robertson, P. S.*: The estimation of carbon dioxide in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **29**, 321–323 (1962).
15. *Bosset, J. O., Knecht, I. et Knecht, P.*: Nouveau barboteur analytique destiné à l'extraction quantitative et à la concentration de constituants volatils ou gazeux en vue de leur dosage. *Trav. chim. aliment. hyg.* **72**, 123–130 (1981).
16. *Fieser, L. F. and Fieser, M.*: *Advanced organic chemistry*, 7th. ed., pp. 837–838. Van Nostrand Reinhold Company, New York, Cincinnati, Toronto, London, Melbourne 1969.
17. *Glättli, H.*: Untersuchungen über den Energiestoffwechsel von Essigsäurebakterien. Dissertation Nr. 4183 ETH-Zürich, 1968.
18. *Boehringer Mannheim GmbH (Biochemica)*: *Lebensmittelanalytik: Essigsäure: UV-Test* (zur Bestimmung von Essigsäure in Lebensmitteln). Bestellnummer 148261.
19. *Krantz, J. C. Jr. and Carr, J.* Statistical study of the metabolism of the fasting albino rat. *J. Nutr.* **10**, 363–367 (1935).
20. *Metzler, D. E.*: *Biochemistry*, pp. 523–524. Academic Press, New York, San Francisco, London 1977.
21. *Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Teilband Körperflüssigkeiten*, 8. Auflage, S. 227. Ciba-Geigy, Basel 1977.
22. *Blanc, B., Bosset, J. O., Martin, B. et Jimeno, J.*: Echanges gazeux à la surface du fromage de Gruyère en cours de maturation. *Schweiz. Milchw. Forsch.* (sous presse).
23. *Manuel d'utilisation de l'électrode à pO₂*, Dr. *W. Ingold AG*, CH-8902 Urdorf-ZH 1979.
24. *Yoshimura, K., Machida, S. and Masuda, F.*: Biodegradation of long chain alkylamines. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **57**, 238–241 (1980).
25. *Grasshoff, A. und Reuter, H.*: Messungen zum Sauerstoffbedarf bei der Verhefung von Molke mit einer Mischkultur von *Lactobacillus bulgaricus* und *Saccharomyces cerevisiae*. *Milchwissenschaft* **33**, 359–363, (1978).
26. *Müller, F. G. und Wenzel, J. B.*: Gedanken und Versuche zum Eintrag von reinem Sauerstoff bei der Fermentation. *Chem. Tech.* **8**, 601–607 (1979).

Dr J. O. Bosset
 B. Graber
 Brigitte Martin
 P. Knecht
 Station fédérale de recherches laitières
 CH-3097 Liebefeld-Berne