

surnageante est siphonnée, de préférence à l'aide d'un tube étiré en capillaire, relié par un robinet à un erlenmeyer à vide, de manière qu'une manipulation prudente de ce robinet permette de régler la vitesse d'aspiration. On ajoute ensuite trois fois 20 à 30 cm³ d'eau — sans remettre le précipité en suspension — en siphonnant chaque fois cette eau. On termine le dosage dans ce tube par addition de 25 cm³ de solution de sulfate ferreux, suivie d'un titrage au permanganate décinormal.

Le procédé en question a été vérifié au moyen d'une solution d'amidon de *Zulkowski* dégradé partiellement en maltose. 10 cm³ de la solution titrés selon le procédé classique de *Bertrand* ont exigé 1,45 cm³ de permanganate; après addition d'une solution très visqueuse d'amidon de pommes de terre, réduction et centrifugation, le titrage a exigé 1,40 cm³ de permanganate.

Genève, Laboratoires de chimie inorganique et organique de l'Université.

155. Recherches sur l'amidon XVI.

Sur la dégradation des hydrates de carbone du groupe de l'amidon par le suc de *Lebedew* dialysé

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(31. X. 41.)

Nous avons déjà communiqué que la dextrine résiduelle à haut poids moléculaire résultant de la dégradation par la β -amylase de l'amylopectine est attaquée par les enzymes du suc de *Lebedew*. Nous allons exposer dans le présent travail les effets de cette enzyme lorsqu'on la fait agir sur l'amylase, le glycogène ainsi que sur l'amidon soluble (amylopectine dégradée).

Il est permis de supposer que notre préparation (suc de *Lebedew*) ne renferme aucune α -amylase de propriétés analogues à celles d'autres amylases végétales ou animales: chauffée à 70° ou soumise à un p_H de 3,6, elle perd entièrement son activité, alors que l' α -amylase résiste à la chaleur et la β -amylase à l'acidité dans les mêmes conditions.

Le suc de *Lebedew*, dialysé, très actif à l'égard du maltose, montre une action hydrolysante manifeste vis-à-vis de différents hydrates de carbone du groupe de l'amidon. Etant donné que l'activité par rapport au maltose comme au glycogène s'affaiblit exactement dans les mêmes proportions par une désactivation partielle provoquée soit par la chaleur, soit par l'acidité, il en résulte que vraisemblablement l'enzyme est la même dans les deux cas. Néanmoins il n'est pas exclu qu'il s'agisse de deux actions différentes: l'action purement hydrolytique sur le maltose (α -glucosidase) et d'autre part, l'action de la phosphorylase suivie de celle de la

phosphomutase, sur les polysaccharides¹). Cette dernière action donnerait naissance à du phosphate d'hexose avec groupe aldéhydique libre. Des essais sont en cours pour éclaircir ce problème.

Voici les résultats de l'hydrolyse de quelques hydrates de carbone, les conditions opératoires et la durée de réaction étant les mêmes pour chaque expérience:

	Fract. hydrolysée
Amylose de maïs (teneur en groupes terminaux 0,4%)	3,85%
Amidon soluble de <i>Zulkowsky</i> (teneur en groupes terminaux: 4%) .	6,6%
Dextrines résiduelles d'amidon de maïs (teneur en groupes terminaux 8,9%)	16,2%
Glycogène (<i>Merck</i>) (teneur en groupes terminaux 9%)	24,8%

L'importance de la fraction hydrolysée semble donc être en connexion avec le % des groupes terminaux, ce qui indiquerait que l'enzyme s'attaque en premier lieu aux extrémités des chaînes.

Partie expérimentale.

Une solution de maltase²) a été préparée à partir d'un extrait de levure sèche (suc de *Lebedew*)³), dialysé 12 h. à 0°. La levure sèche avait été elle-même fraîchement préparée à partir d'une levure de bière provenant de la Brasserie du Cardinal.

Mesure de l'activité²): pouvoir rotatoire initial en tube de 10 cm.: $\alpha_0 = 6,75^\circ$.

Diminution du pouvoir rotatoire après 1 h. à 30°: $\Delta \alpha = 2,45^\circ$

“ “ “ “ “ “ 2 h. à 30°: $\Delta \alpha = 3,05^\circ$

“ “ “ “ “ “ 3 h. à 30°: $\Delta \alpha = 3,25^\circ$

La quantité de maltose transformé en glucose est:

$$x = \frac{100 [\alpha]_M}{[\alpha]_M - [\alpha]_G} \cdot \frac{\Delta \alpha}{\alpha_0} = 167,5 \cdot \frac{\Delta \alpha}{\alpha_0}$$

$[\alpha]_M$: pouvoir rotatoire spécifique de l'hydrate de maltose = 130°

$[\alpha]_G$: “ “ “ “ du glucose = 52,5°

La fraction hydrolysée en 1 h. est de 60,8%, en 2 h. de 75,7%, et en 3 h. de 80,6%.

Contrôle de l'absence de l' α -amylase²): 10 cm³ d'un empois de pommes de terre à 1% tamponné au p_H 5,3 au moyen du mélange acétique, ont été additionnés de 2 cm³ d'une solution de maltase chauffée préalablement 15 min. à 70° et filtrée. Le mélange, maintenu 3 h. à 35°, présente alors une viscosité relative de $\eta_{rel.} = 3,03$. Un empois dilué de la même façon par de l'eau pure, possède une viscosité relative de $\eta_{rel.} = 3,29$.

Contrôle de l'absence de la β -amylase: 10 cm³ d'une solution de maltase refroidie à 0° sont additionnés de 2,5 cm³ d'acide acétique normal à 0°; la solution se trouble fortement. Après trois jours de repos à 0°, on constate le dépôt d'un précipité floconneux. Le p_H a été porté à 4,8 par l'adjonction de 0,340 gr. d'acétate de sodium crist., et la solution filtrée.

15 cm³ d'une solution à 0,5% d'amidon de *Zulkowsky* tamponnée au p_H 4,8 au moyen du mélange acétique, ont été additionnés de 5 cm³ de la solution de maltase précédente. Après un repos de 17 h. à 35°, le pouvoir réducteur de 10 cm³ de la solution correspondait à 0,05 cm³ d'iode décinormal (selon *Willstätter* et *Schudel*); cette valeur a été établie en tenant compte de la correction nécessitée par les pouvoirs réducteurs

¹⁾ G. T. Cori, S. P. Colowick et C. F. Cori, J. Biol. Chem. **123**, 375 (1938).

²⁾ Voir aussi: Helv. **23**, 884 (1940).

³⁾ A. v. Lebedew, Z. physiol. Ch. **73**, 447 (1911).

propres de la maltase et de l'amidon; dans ce but, des essais à blanc ont été effectués sur chacun des constituants, dans les mêmes conditions de dilution.

Comportement de l'enzyme partiellement désactivée vis-à-vis du maltose et du glycogène:

20 cm³ d'une solution fraîchement préparée et fortement diluée d'enzyme (désignée par « maltase I ») ont été plongés 7 min. dans un bain-marie à 50°, puis refroidis rapidement à 0°: « maltase II ». 20 cm³ de maltase I fraîche, refroidis à 0°, ont été tamponnés au p_H 4,1 par 5,5 cm³ de mélange acétique à 0°, abandonnés 7 min. à cette température et ajustés alors au p_H 6,3 au moyen de 2,0 cm³ de soude caustique 2-n. « maltase III ». Si l'on exprime la concentration des maltases I et II par 1, celle de la maltase III est de 0,725.

2,0 gr. d'hydrate de maltose et 2,2 gr. de glycogène de *Merck* sont dissous respectivement dans 170 cm³ d'eau, et additionnés chacun de 30 cm³ d'une solution-tampon 0,1-m. de phosphate de p_H 6,9. La concentration de la solution de maltose a été alors de 0,954% (10 cm³ de solution consomment 5,30 cm³ d'iode décinormal). La concentration de la solution de glycogène a été de 0,982% (5 cm³ de solution hydrolysée consomment 5,45 cm³ d'iode décinormal). Le pouvoir réducteur de la solution de glycogène, mesuré à blanc, correspondait à 0,25 cm³ d'iode 0,1-n. pour 20 cm³.

Des échantillons de 50 cm³ de la solution de maltose ont été traités respectivement par 5 cm³ de maltase I, 5 cm³ de maltase II et 10 cm³ de maltase III; les mêmes expériences ont été faites avec 50 cm³ de la solution de glycogène. Après avoir été abandonnés 30 h. à 25° au thermostat, les 6 échantillons ont été examinés du point de vue de leur pouvoir réducteur, mesuré sur une prise de 20 cm³, selon *Willsätter et Schudel*; le pouvoir réducteur propre des trois solutions de maltase a également été établi, toutes les mesures ayant été effectuées sur des solutions de même dilution.

Tableau 1.

substratum	enzyme	cm ³ de sol. d'en- zyme ajou- tés à 50 cm ³ de sol. de sub- stra- tum	con- cen- tra- tion de l'en- zyme	mgr. sub- stra- tum dans 20 cm ³ de sol. de solu- tion	cm ³ 0,1-n. I ₂ trou- vés pr. 20 cm ³ de sol. après 30 heures	mgr. glucose formé dans 20 cm ³ de solu- tion	mgr. glucose formés dans 20 cm ³ de so- lution, calcu- lés pour les mêmes con- centrations du substra- tum et de l'en- zyme que cel- les de l'essai de la maltase I	activité relative des trois maltases
		(a)	(b)	(c)	(d) ¹⁾	(e) - 18d-c	(f) = $\frac{e \cdot 173,5}{b \cdot c}$	(g) = $\frac{f \cdot 100}{103}$
maltose	maltase I	5	1	173,5	15,35	103	103	100
	maltase II	5	1	173,5	13,50	69,5	69,5	67,5
	maltase III	10	1,335	159,0	13,35	81,5	66,5	64,5
		(a)	(b)	(c)	(d) ²⁾	(e) - 9 · d	(f) = $\frac{e \cdot 178,5}{b \cdot c}$	(g) = $\frac{f \cdot 100}{22,7}$
glycogène	maltase I	5	1	178,5	2,52	22,7	22,7	100
	maltase II	5	1	178,5	1,80	16,2	16,2	71,5
	maltase III	10	1,335	163,5	1,90	17,1	14,0	61,5

¹⁾ après déduction de la valeur à blanc de l'enzyme.

²⁾ après déduction des valeurs à blanc de l'enzyme et du glycogène.

Dégénération des hydrates de carbone par le suc de Lebedew:

Des échantillons de 0,6 gr. de dextrine résiduelle, d'amidon de maïs¹⁾, de glycogène de *Merck* et d'amidon de *Zulkowsky* de *Kahlbaum* ont été dissous chacun dans 10 cm³ d'eau, additionnés de 15 cm³ d'une solution-tampon de phosphate 0,1-m. de pH 6,9 et complétés à 100 cm³. 0,6 gr. d'amylase de maïs crist.²⁾ ont été également mis en suspension dans 5 cm³ d'eau, traités avec 5 cm³ de soude caustique 2-n. jusqu'à complète dissolution, dilués par 50 cm³ d'eau, filtrés sur un filtre de verre d'Iéna 3G3, neutralisés exactement par 10 cm³ d'acide chlorhydrique normal, additionnés de 15 cm³ d'une solution-tampon de phosphate 0,1-m. de pH 6,9 et complétés à 100 cm³. Les concentrations ont été déterminées par la titration du glucose (selon *Willstätter* et *Schudel*) formé dans 5 cm³ de solution après hydrolyse³⁾. Des échantillons de 50 cm³ de la solution fraîchement préparée du substratum ont été respectivement traités par 5 cm³ de solution fraîche d'enzyme. Le pouvoir réducteur a été établi d'après *Willstätter* et *Schudel* sur 20 cm³ de solution, après traitement de 17 h. à 30° au thermostat.

Un essai à blanc a donné les pouvoirs réducteurs du substratum, dont 20 cm³ d'un mélange de 20 cm³ de la solution du substratum et 2 cm³ d'eau ont été titrés par l'iode; un autre essai a fourni le pouvoir réducteur propre de la maltase: 20 cm³ d'un mélange de 2 cm³ de maltase et 20 cm³ d'eau tamponnée au phosphate ont été titrés par l'iode.

Tableau 2.

mgr. substratum dans 20 cm ³ de solution	cm ³ 0,1-n. I ₂ trouvés pour 20 cm ³ de sol. après 17 heures	cm ³ 0,1-n. I ₂ trouvés comme valeur à blanc du substratum pour 20 cm ³ de solution	mgr. glucose formé dans 20 cm ³ de solution	% scission du substratum	
				(a)	(b) ⁴⁾
glycogène	98,0	2,85	0,15	24,3	24,8
dextrine résiduelle .	100,0	2,20	0,40	16,2	16,2
amidon de <i>Zulkowsky</i>	88,3	0,75	0,10	5,85	6,6
amylase de maïs . .	93,4	0,50	0,10	3,6	3,85

Genève, Laboratoires de Chimie inorganique et organique
de l'Université.

¹⁾ Préparation voir: *Helv.* **24**, 214 (1941).

²⁾ Préparation voir: *Helv.* **23**, 860 (1940).

³⁾ Voir: *Helv.* **23**, 849 (1940).

⁴⁾ après déduction de la valeur à blanc de la maltase: 3,20 cm³.