

XXXIII. Recherches sur l'amidon XIX.

Sur la dégradation de l'amylose par l' α -amylase

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(31. X. 41.)

Depuis les travaux fondamentaux d'*Ohlsson*¹⁾, on sait que, dégradé par l' α -amylase, l'amidon est transformé d'abord en dextrans de poids moléculaire relativement élevé et que le maltose n'apparaît en quantités appréciables qu'au cours du progrès de la scission (cf. encore *Samec*²⁾ et *Myrbäck*³⁾). D'après *Hanes*⁴⁾, *Somogyi*⁵⁾ et *Myrbäck*⁶⁾, on trouve à côté du maltose aussi du glucose parmi les produits d'hydrolyse, quoiqu'en faible quantité. Il se forme en outre un résidu d'oligosaccharides non dégradables, pour lesquels *Myrbäck* indique un poids moléculaire moyen de 600 à 800 et parmi lesquels se trouvent probablement, suivant les travaux de *Myrbäck*, des trisaccharides à liaison glucosidique α 1-6, provenant des points de ramification de l'amylopectine.

La cinétique de cette dégradation a fait l'objet de nombreuses recherches. Au début, la scission suivrait la loi des réactions monomoléculaires²⁾. Après une dégradation d'environ 33 %, exprimée en maltose, c'est-à-dire lorsqu'on en est arrivé à des fragments d'une longueur moyenne de six restes de glucose, la vitesse diminue considérablement (*V. Syniewski*⁷⁾, *F. Pollak* et *A. Tychowski*⁸⁾, *Klinkenberg*⁹⁾, *Hanes*⁴⁾, cf. aussi *Samec*²⁾)).

Jusqu'à présent, ces faits expérimentaux n'ont pas encore permis de dresser un tableau clair du mécanisme de la dégradation opérée par l' α -amylase.

Nous avons étudié la dégradation d'amylose pur par l' α -amylase du malt, dans l'espoir de trouver une situation plus simple. Dans ces conditions, on fait disparaître les complications dues aux ramifications de l'amylopectine.

La dégradation de l'amylose brut a été examinée déjà plusieurs fois. D'après *Samec*¹⁰⁾, le ralentissement frappant de la vitesse de

¹⁾ *E. Ohlsson*, Z. physiol. Ch. **189**, 17 (1930); C. r. trav. lab. Carlsberg **16**, N° 7 (1926).

²⁾ *M. Samec* et *M. Blinz*, Koll.-ch. Beih. **49**, 75 (1939).

³⁾ *K. Myrbäck*, Bioch. Z. **307**, 132 (1941).

⁴⁾ *C. S. Hanes*, Can. J. Res. **13** [B] 185 (1935).

⁵⁾ *M. Somogyi*, J. Biol. Chem. **134**, 301 (1940).

⁶⁾ *K. Myrbäck*, Bioch. Z. **307**, 140 (1941).

⁷⁾ *V. Syniewski*, A. **324**, 212 (1902).

⁸⁾ *F. Pollak* et *A. Tychowski*, Bioch. Z. **214**, 216 (1929).

⁹⁾ *G. A. v. Klinkenberg*, Z. physiol. Ch. **212**, 173 (1932).

¹⁰⁾ *M. Samec*, Z. physiol. Ch. **248**, 117 (1937).

dégradation, que nous venons de rappeler, ne se produit qu'après formation de 75 % de la quantité théorique de maltose, c'est-à-dire à une longueur moyenne des fragments de 2,7 restes de glucose; pour finir, le maltose constituerait l'unique produit final¹⁾. Mais, comme *Smits van Waesberge*²⁾ l'a souligné, cette affirmation repose sur une interprétation erronée des résultats des expériences dans lesquelles le maltose avait été dosé au moyen des pouvoirs rotatoire et réducteur. Or, un mélange d'une demi-molécule de trisaccharide et d'une demi-molécule de glucose présente les mêmes pouvoirs rotatoire et réducteur que le maltose, de sorte que ce dernier ne saurait être dosé de cette manière.

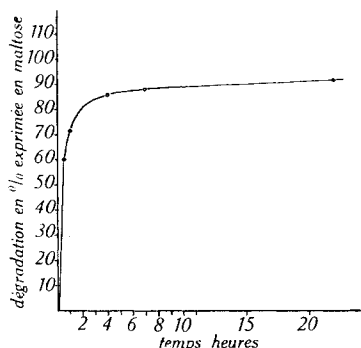


Fig. 1.

Dégradation de l'amylose

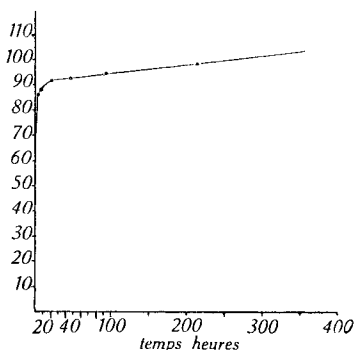


Fig. 2.

Nous avons étudié tout d'abord la vitesse de la dégradation; en outre, nous avons dosé les produits de la réaction d'après le procédé mis au point par *Somogyi*. Les fig. 1 et 2 donnent la courbe de la dégradation (v. aussi le tableau 3). Lorsqu'on applique à l'interprétation des résultats l'équation des réactions monomoléculaires, on obtient pour la constante des vitesses des valeurs décroissant constamment jusqu'à une dégradation de 90 % (calculée en maltose) et atteignant à la fin une très petite fraction de la valeur initiale. Il en résulte que les liaisons glucosidiques des produits de scission inférieurs (hexa-oses, etc.) sont dégradées plus lentement que celles des produits de dégradation à poids moléculaire encore élevé; il est probable que la combinaison substratum-enzyme possède pour de petites molécules de substratum un coefficient de dissociation plus grand que pour des molécules plus grandes.

A partir d'une dégradation de 90 % (calculée en maltose), le tableau change: la réaction se poursuit à vitesse constante jusqu'au delà de 100 %; il s'agit donc d'une réaction terminale bien définie, différente de la réaction initiale.

¹⁾ Voir aussi *J. Blom, B. Braae et A. Bak, Z. physiol. Ch.* **252**, 261 (1938).

²⁾ *F. Smits van Waesberge*, thèse Delft 1941.

Au début de la réaction, la présence de maltose ne peut pas être révélée; les autres résultats analytiques sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1.

N° d'essai	Concentration de l'amylase	Concentration de l'enzyme	Durée et température de la réaction	Dégradation en %, calculée en maltose hydraté*)	% glucose	% maltose	% dex-trines	Longueur des dextrines en unités de glucose
1	2,575%	1650a	9 jours à 35°	B: 98,5%				
2	0,0875%	a	14 jours à 20° concentrée à 1/60	W: 79%	4,55%	41,2%	54,2%	3,75
3	0,0895%	9a	2 jours à 35° concentrée à 1/50	W: 86,5%	2,7%	66,2%	31,1%	4,2
4	0,0815%	20a	3 jours à 20° 11 jours à 35° concentrée à 1/25	W: 98,5%	6,1%	72,7%	21,2%	3,1

*) B: d'après la méthode de *Bertrand*.

W: d'après la méthode de *Willstätter* et *Schudel*.

A 87 % de dégradation (calculée en maltose), on trouve environ 30 % de trisaccharide et d'autres oligosaccharides, à côté de glucose et de maltose. Comme l' α -amylase n'attaque pas ces derniers, la scission lente du trisaccharide et des autres oligosaccharides qui peuvent encore être présents, doit représenter la réaction terminale mentionnée plus haut.

Dans la discussion de la réaction de dégradation, il faudra donc adopter le schéma de deux réactions qui se superposent: la scission rapide des grandes chaînes, et la scission plus de 100 fois plus lente du trisaccharide (éventuellement aussi de tétra- et de pentasaccharides).

Quel peut alors être le mécanisme de cette réaction ?

Nous commencerons par examiner si les phénomènes observés au début de la réaction peuvent s'expliquer par l'idée, souvent énoncée, d'une rupture de liaisons n'importe lesquelles sous l'influence de l'enzyme. *W. Kuhn*¹⁾ a développé la théorie de la dégradation de molécules à longues chaînes. Soient α le degré de dégradation, $\tau = \frac{1}{\alpha}$ le degré de polymérisation moyen des fragments, i le degré de polymérisation des fragments individuels et φ_i le rendement en fragments à i restes; on aura:

$$\varphi_i = i \cdot \alpha^2 (1 - \alpha)^{i-1}$$

¹⁾ *W. Kuhn*, B. **63**, 1503 (1930); v. aussi *K. H. Meyer* et *H. Mark*, *Hochpolymere Chemie*, vol. I, p. 331 ss.

Dans le tableau 2 et dans la fig. 3, nous avons groupé les rendements prévus en fragments du degré de polymérisation i pour un degré de dégradation de 0,04, et partant pour une longueur moyenne τ de 25 restes de glucose, en application de cette équation.

Tableau 2.

i	$\varphi_i(0,00)$	i	$\varphi_i(0,00)$
800	$9 \cdot 10^{-11}$	20	14,8
500	$1,2 \cdot 10^{-6}$	15	13,4
200	$1,1 \cdot 10^{-1}$	10	11,1
150	$5,6 \cdot 10^{-1}$	8	9,6
125	1,3	5	6,8
100	2,9	4	5,5
75	5,9	3	4,4
50	10,8	2	3,1
25	15,5	1	1,0

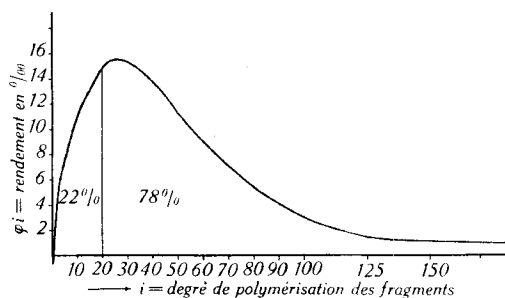


Fig. 3.

On constate un maximum de fréquence pour les fragments à 25 restes, ce qui correspond à la longueur moyenne des chaînes. On calcule encore pour les fragments de plus de 20 restes ($i > 20$) un rendement total d'environ 78 %; les fragments à $i > 45$ doivent représenter environ 33 %; quand au maltose ($i = 2$), son rendement prévu n'est que de 0,3 %, quantité qui échappe à la recherche.

Ces indications sont parfaitement en accord avec le résultat de l'expérience; les résultats obtenus au début de la désagrégation d'amidon non fractionné (amylose et amylopectine) rentrent dans ce cadre: absence de maltose au début de la scission, et présence d'au moins 25 % de fragments d'un poids moléculaire dépassant 4000 (soit $i = 25$) pour un degré de dégradation de 0,04, comme *Myrbäck*¹⁾ l'indique.

A notre avis, on peut donc se passer de l'hypothèse de *Myrbäck* qui suppose l'existence de liaisons particulières, facilement hydrolysées,

¹⁾ K. *Myrbäck*, *Bioch. Z.* **307**, 132 (1941).

différentes des liaisons α 1-4 et α 1-6, et dont la scission produirait d'abord les gros fragments.

Si on arrive ainsi à interpréter le début de la réaction par une hypothèse simple, cette dernière ne permet cependant nullement d'expliquer le cours ultérieur de la dégradation amylatique ou encore la prédominance du maltose parmi les produits de dégradation.

Pour y arriver, nous devons faire état du fait que la dégradation du maltotriose est très lente, et celle du maltose pratiquement nulle.

Admettons que toutes les liaisons réagissent de la même manière et que la dégradation du maltose et du maltotriose soit nulle. D'après les calculs indiqués par *Kuhn*, nous aurons alors à prévoir la formation de :

50%	de triose
33,3%	de maltose
16,7%	de glucose

Une scission ultérieure du triose en maltose et glucose porterait le rendement en maltose à un maximum de 66,7 %; or, en réalité les valeurs expérimentales sont plus fortes pour le maltose et sensiblement plus faibles pour le glucose. En d'autres termes, les liaisons ne sauraient réagir toutes de la même manière et celles dont la scission produit du glucose, doivent être moins réactives: ce sont précisément les liaisons glucosidiques situées aux deux extrémités d'une molécule caténiforme. Si ces liaisons ne réagissaient pas du tout, un penta-ose par exemple ne serait scindé qu'en un biose et un triose, un tétra-ose ne donnerait que des bioses, et un triose ne serait pas attaqué; on obtiendrait comme produits terminaux du maltose (env. 60 %) et du maltotriose (env. 40 %). Mais comme le triose subit une lente dégradation ultérieure, la part du maltose s'accroît progressivement jusqu'à scission totale du triose; on doit obtenir finalement $60 + 26,6 = 86,6$ % de maltose et 13,4 % de glucose, ce qui correspond à un pouvoir réducteur de 113 % exprimé en maltose. Si environ la moitié seulement du trisaccharide est scindée, les produits de réaction devraient être constitués par 21 % de triose, 72,7 % de maltose et 6,3 % de glucose, chiffres qui correspondent à l'essai N° 4 du tableau 1.

A un degré inférieur de dégradation du trisaccharide, les rendements prévus seraient de 31 % pour le triose, de 66 % pour le maltose et de 3 % pour le glucose, ce qui est réalisé dans l'essai N° 3. Nous considérons donc cette hypothèse comme fournissant actuellement la meilleure interprétation des faits.

Le même processus réactionnel s'applique probablement aussi à l'amylopectine; seulement ici, les points de ramification donneront naissance à des oligosaccharides à liaisons α 1-6, peu ou pas attaquées par l' α -amylase. Il ne paraît du reste nullement exclu que les points de ramification exercent une certaine influence sur les

liaisons voisines les plus rapprochées; on expliquerait ainsi le fait déjà signalé que le ralentissement de la scission se produit déjà longtemps avant que le stade de dégradation en trioses soit atteint.

RÉSUMÉ.

L'étude de la dégradation de l'amylose par l' α -amylase du malt conduit à admettre le schéma de réaction suivant: dans les longues chaînes, l'enzyme démolit indifféremment des liaisons glucosidiques quelconques, à l'exception des liaisons terminales dont la vitesse de dégradation est beaucoup plus petite. Les grands fragments sont dégradés plus rapidement que les petits; ne possédant que des liaisons glucosidiques terminales, le maltotriose est scindé très lentement en maltose et en glucose.

Partie expérimentale.

Dosage du glucose, du maltose et des dextrines d'après Somogyi¹⁾.

Dans une première prise, on dose le pouvoir réducteur total A; dans une deuxième, on élimine le glucose par fermentation en milieu faiblement alcalin pour doser ensuite le pouvoir réducteur B représentant maltose + dextrines; dans une troisième, on fait fermenter le glucose et le maltose en solution neutre, non tamponnée, pour doser ensuite le pouvoir réducteur C des dextrines, qui restent encore. Les pouvoirs réducteurs respectifs du glucose, du maltose et des dextrines sont alors donnés par A—B (glucose), B—C (maltose) et C (dextrines).

Pour pouvoir appliquer ce procédé à la levure de boulanger qu'on trouve en Suisse, il a fallu modifier quelque peu les conditions de travail en ce qui concerne la durée de réaction, la température et la quantité de levure.

a) *Détermination de l'humidité de la levure lavée.* — Pour la fermentation, on mélange à la solution des produits de dégradation, de la levure lavée et énergiquement centrifugée (appelée dans la suite levure en pâte); par l'humidité apportée par cette levure, la solution dont une prise sera analysée après la fermentation, se trouve diluée. Il faut donc déterminer exactement la quantité de levure ajoutée ainsi que sa teneur en eau. — De la levure fraîche de boulanger a été suspendue dans de l'eau en pâte fluide qu'on a centrifugée à 3000 t/min. durant exactement 10 minutes; après décantation de l'eau surnageante, cette opération a été encore répétée quatre fois; à la dernière, l'eau de lavage était parfaitement claire. 20 gr. de levure en pâte ont été mis en suspension homogène dans 80 cm³ d'eau. Nous appelons ce produit suspension de base; celle-ci a servi à toutes les expériences. Pour y doser l'eau, nous en avons introduit 40 cm³ dans un tube à centrifuger de 50 cm³, pesé au centigramme près et ayant un fond conique. Après 10 minutes exactement de centrifugation à 3000 tours/min., on a décanté l'eau surnageante; après avoir essuyé les parois intérieures du tube, on a déterminé par sa pesée le poids de la levure en pâte (8,44 gr.). On a ajouté alors à cette levure 10 cm³ d'une solution diluée de sulfate de cuivre de concentration connue; après avoir bien mélangé, on a de nouveau centrifugé la suspension durant 10 minutes à 3000 tours. La solution cuprique

¹⁾ M. Somogyi, J. Biol. Chem. **134**, 301 (1940).

filtrée a été analysée; sa concentration était tombée à 0,755 du chiffre primitif; elle avait donc été diluée par adjonction de 3,25 cm³ d'eau provenant de 8,44 gr. de levure en pâte. Celle-ci contenait donc 38,5% d'eau libre.

b) *Dosage du glucose*. — 10 cm³ de suspension de base sont centrifugés dans un tube à centrifuger pesé; on décante l'eau et pèse la levure en pâte qui reste (env. 2 gr.); on ajoute 1 cm³ de rouge phénol aqueux à 0,06% et 2 cm³ de carbonate de sodium aqueux à 1,6%; on agite bien pour ajouter finalement 10 cm³ d'une solution de dégradation contenant des sucres et dont le pouvoir réducteur a été dosé selon *Bertrand* dans une autre prise. La solution ne devrait pas contenir plus de 40 mgr. de glucose et 200 mgr. de maltose et de dextrines. On porte à 40° et maintient à cette température en agitant, pendant 30 minutes. Dès qu'au cours de la fermentation, la coloration rouge-pourpre de l'indicateur vire au rouge-brique, on ajoute 1 cm³ de carbonate de sodium à 1,6%; avec des quantités un peu élevées de glucose, cette opération doit être répétée plusieurs fois. Les essais dans lesquels l'indicateur aurait viré au jaune sont à rejeter, car alors le maltose a subi un début de dégradation. Après les 30 minutes, on centrifuge 10 minutes à 3000 tours, on filtre le liquide rouge, limpide, et y fait un dosage selon *Bertrand* sur une partie aliquote (5 à 10 cm³). En déduisant ce pouvoir réducteur corrigé à raison de la dilution intervenue au cours de l'opération, du pouvoir réducteur du volume correspondant de la solution non fermentée, on obtient le pouvoir réducteur qui correspond au glucose présent.

c) *Dosage du glucose + maltose*. — A une prise de levure en pâte préparée à partir de 40 cm³ de suspension de base comme indiqué plus haut, on ajoute 10 cm³ de solution à analyser (teneurs maxima comme sous b). Après 4 heures de fermentation à 40°, on centrifuge comme plus haut et termine par un dosage selon *Bertrand*.

La méthode a été vérifiée par l'analyse d'un mélange préparé artificiellement. Dans une solution contenant dans 5 cm³ 47,25 mgr. de maltose et 23,25 mgr. de glucose, nous avons trouvé 46,4 mgr. de maltose et 23,65 mgr. de glucose.

Préparation de l' α -amylase.

400 gr. de malt fraîchement moulu de la Brasserie du Cardinal suspendus dans 1200 cm³ d'eau sont agités à la température ordinaire pendant trois heures, puis centrifugés à 3000 tours/min. pendant 30 minutes. Pour désactiver la β -amylase, la solution trouble transvasée dans un erlenmeyer a été additionnée de 1 gr. d'acétate de sodium et plongée dans un bain-marie à 70° durant 25 à 30 minutes, la solution étant remuée constamment. Après centrifugation du précipité floconneux, on a obtenu 800 cm³ de solution qui ont été concentrés à env. 130 cm³ dans le vide. On peut remplacer le malt comme matière de départ par le produit commercial "diastafor" de la maison *Wander S.A.* à Berne: il faut alors dissoudre dans 130 cm³ d'eau la quantité de diastafor correspondant à l'activité α -amylatique de 400 gr. de malt, soit 16,5 gr.; après addition de 1 gr. d'acétate de sodium, on désactive la β -amylase de la manière décrite plus haut. Dans les deux cas, les solutions enzymatiques obtenues contenaient encore des quantités appréciables de sucres réducteurs. Pour les éliminer, les 130 cm³ de solution refroidie à 0° ont été additionnés avec une violente agitation de 225 cm³ d'alcool à 95%, refroidi également à 0°, ce qui donne de l'alcool à 60%. Le précipité formé a été centrifugé, lavé une fois avec de l'alcool à 60%, deux fois à l'alcool à 95% et trois fois à l'éther; après évaporation de l'éther à l'air, on fait sécher le produit dans le vide. La poudre blanche qui en résulte a été triturée avec un peu d'eau en présence de quelques gouttes de n-décanol (pour éviter la mousse); à cette pâte homogène, on ajoute ensuite en agitant toujours et par petites portions respectivement 35 cm³ (solution N° 1) ou 130 cm³ (solution N° 2) d'eau. Les solutions obtenues après centrifugation ne possédaient généralement plus de pouvoir réducteur. Dans le cas contraire, on répétait la précipitation décrite en milieu alcoolique à 60%.

Activité¹⁾: solution N° 1: 0,02 cm³ de solution d'amylase ont donné 15,65 mgr. de maltose hydraté.

¹⁾ Selon *Helv.* **23**, 1471 (1940).

Solution N° 2: 0,1 cm³ de solution d'amylose ont donné 22,7 mgr. de maltose hydraté.

Détermination de la vitesse de dégradation.

Essai N° 1. — 87 gr. d'une suspension aqueuse d'amylose cristallisé, non séché, contenant environ 11 gr. de résidu sec, ont été dissouts dans 100 cm³ de soude caustique 2-n.; la solution limpide obtenue a été partiellement neutralisée par addition de 85 cm³ d'acide chlorhydrique 2-n.; la solution reste tout à fait limpide au cours de cette opération. 100 cm³ de la solution enzymatique N° 1 d'autre part ont été additionnés de 30 cm³ d'une solution-tampon du p_H 5,2 contenant 8,5 gr. KH₂PO₄ et 0,35 gr. Na₂HPO₄·2 H₂O. On a introduit alors dans la solution enzymatique portée à 35° la solution faiblement alcaline d'amylose portée également à 35°, en la laissant couler avec forte agitation en un mince filet (durée de l'opération: 7 minutes). L'addition une fois terminée, la solution n'était plus colorée par l'iode, le p_H s'était élevé à 6,7, le volume avait atteint 380 cm³ et la concentration en amylose (dosé dans 2 cm³ après hydrolyse) était tombée à 2,575%. La solution réactionnelle a été conservée à l'étuve à 35°; la marche de la dégradation a été suivie par des dosages du pouvoir réducteur selon *Bertrand* sur des prises de 1 cm³. Les temps du tableau 3 sont comptés à partir de la fin de la dernière addition (voir aussi fig. 1 et 2).

Tableau 3.

Durée en heures	mgr. Cu trouvés	Hydrate de maltose en mgr.	% scission
0,5	16,25	15,4	59,8%
1	19,5	18,4	71,5%
4	23,25	22,1	86,0%
7	23,85	22,6	87,8%
22	24,85	23,6	91,5%
46	25,1	23,85	92,5%
95	25,6	24,3	94,4%
215	26,7	25,35	98,5%

Analyse des produits de dégradation.

Essai N° 2. — 250 gr. d'amidon de maïs naturel ont été chauffé une heure à 70° dans 12 litres d'eau. Après trois heures de repos, les particules non dissoutes de l'empois s'étaient déposées; la liqueur surnageante a été décantée et filtrée sur filtre plissé jusqu'à obtention d'une solution limpide. A 9 litres de cette solution fraîche contenant 0,0875% d'amylose¹⁾ et possédant sans tampon un p_H de 4,8, on a ajouté 5 cm³ de la solution enzymatique N° 2. Après 10 minutes, la coloration à l'iode avait passé au violet, après 20 minutes au brun et après 60 minutes elle avait disparu. Après 14 jours de repos à 20°, la solution a été concentrée sous 12 mm. de pression à 35° à 150 cm³; pour désactiver l' α -amylase, la liqueur a été chauffée 10 minutes à 95° et filtrée sur un filtre à plis de manière à obtenir une solution limpide. La dégradation avait produit 79% de maltose hydraté (selon *Willstätter* et *Schudel*). Le glucose, le maltose et les dextrines ont été dosés d'après *Somogyi*:

¹⁾ Dosé selon *Helv.* **23**, 849 (1940).

Tableau 4.

	dilué pour la fermentation de à en cm ³		prise en cm ³	mgr. Cu trouvé	cm ³ de la sol. primitive correspondant à la prise	mgr. Cu calculés pour 5 cm ³ de la solution primitive
	(a)	(b)	(c)	(d)	(a·c/b) = (e)	(5·d/e)
avant la fermentation	—	—	1	36,3	1	181,5 = A
après la fermentation du glucose	5	13,85	5	57,6	1,805	159,5 = B
après la fermentation du glucose + maltose	5	13,35	5	21,95	1,875	58,6 = C

Tableau 5.

	mgr. Cu correspondant à chaque sucre dans 5 cm ³ de solution	5 cm ³ de solution contiennent mgr. sucre	le sucre total se compose de
glucose	A—B = 22,0	10,8	4,55%
maltose	C—B = 101	97,7	41,2%
dextrines		129,0*)	54,2%*)
sucre total	par hydrolyse	237,5	100 %

*) calculé par la différence entre le sucre total et le glucose + maltose.

5 cm³ de la solution primitive ont consommé 10,45 cm³ iode 0,1-n. (Willstätter et Schudel). De ce montant, 1,20 cm³ reviennent aux 10,8 mgr. de glucose contenus dans 5 cm³ de solution et 5,43 cm³ aux 97,7 mgr. de maltose de ces mêmes 5 cm³. Il reste donc pour 129,0 mgr. de dextrines un pouvoir réducteur de 3,82 cm³ iode 0,1-n., ce qui permet de calculer un poids moléculaire moyen de 675 et une longueur moyenne des chaînes de 3,75 restes de glucose.

Tableau 6.

	dilué pour la fermentation de à en cm ³		prise en cm ³	mgr. Cu trouvé	cm ³ de la sol. primitive correspondant à la prise	mgr. Cu calculés pour 5 cm ³ de la solution primitive
	(a)	(b)	(c)	(d)	(a·c/b) = (e)	(5·d/e)
avant la fermentation	—	—	1	37,5	1	187,5 = A
après la fermentation du glucose	5	14,3	5	61,4	1,745	176,0 = B
après la fermentation du glucose + maltose	5	18,15	10	14,3	2,75	26,0 = C

Essai N° 3. — 20 litres d'une solution fraîche d'amylose, préparée comme dans l'essai N° 2, et contenant 0,0895% d'amylose, ont été additionnés de 100 cm³ de la solution d'enzyme N° 2. Après deux jours de repos à 35°, la solution a été concentrée dans

un vide de 12 mm. à 35° à 420 cm³, portée à l'ébullition pendant 5 minutes pour détruire l'amylase et filtrée sur filtre plissé. La dégradation était de 86,5%, exprimée en maltose hydraté. Le glucose, le maltose et les dextrines ont été dosés d'après *Somogyi*:

Tableau 7.

	mgr. Cu correspondant à chaque sucre dans 5 cm ³ de solution	5 cm ³ de solution contiennent mgr. sucre	le sucre total se compose de
glucose	A—B = 11,5	5,7	2,7%
maltose	B—C = 150,0	141,5	66,2%
dextrines		66,3*)	31,1%*)
sucre total	par hydrolyse	213,5	100 %

*) calculé par la différence entre le sucre total et le glucose + maltose.

5 cm³ de la solution primitive ont consommé 10,25 cm³ iode 0,1-n. (*Willstätter* et *Schudel*). Les 5,7 mgr. de glucose de cette prise exigent 0,635 cm³ et les 141,5 mgr. de maltose 7,87 cm³. Il reste donc pour 66,3 mgr. de dextrines un pouvoir réducteur de 1,745 cm³ iode 0,1-n., ce qui donne un poids moléculaire moyen de 760 et une longueur moyenne des chaînes de 4,2 restes de glucose.

Essai N° 4. — La solution d'amylose a été préparée comme pour l'essai N° 2. A 9 litres de solution fraîche d'amylose, contenant 0,0815 % d'amylose et possédant sans tampon un p_H de 4,8, on a ajouté 100 cm³ de la solution d'amylase N° 2. Après trois minutes, la coloration à l'iode avait disparu. Le progrès de la dégradation a été suivi à l'aide de dosages du pouvoir réducteur selon *Willstätter* et *Schudel*:

Durée de la dégradation en jours	Température de la réaction	Dégradation en %, calcu- lée en maltose hydraté
1	20°	53
3	20°	71
4	35°	75
6	35°	80
14	35°	82

Ensuite, la solution a été concentrée dans le vide (12 mm.) à 35° à 370 cm³ et l'enzyme a été inactivée par une chauffe de 10 minutes à 95°. La dégradation avait atteint alors la formation de 98,5% de maltose hydraté.

Dosages du glucose, du maltose et des dextrines selon *Somogyi*:

Tableau 8.

	dilué pour la fermentation de à en cm ³ (a) (b)		prise en cm ³ (c)	mgr. Cu trouvé (d)	cm ³ de la sol. primitive cor- respondant à la prise (a · c/b) = (e)	mgr. Cu calcu- lés pour 5 cm ³ de la solution primitive (5 · d/e)
avant la fermenta- tion	—	—	2	35,7	2	89,3 = A
après la fermenta- tion du glucose	10	15,33	5	50,7	3,265	77,5 = B
après la fermenta- tion du glucose + maltose	10	13,35	5	4,33	3,745	5,8 = C

Tableau 9.

	mgr. Cu correspondant à chaque sucre dans 5 cm ³ de solution	5 cm ³ de solution contiennent mgr. sucre	le sucre total se compose de
glucose	A—B = 11,8	5,8	6,1%
maltose	B—C = 71,7	69,0	72,7%
dextrines		20,2*)	21,2% *)
sucre total	par hydrolyse	95,0	100 %

*) calculé par la différence entre le sucre total et le glucose + maltose.

5 cm³ de la solution primitive ont consommé 5,2 cm³ iode 0,1-n. (*Willstätter et Schudel*). Les 5,8 mgr. de glucose de 5 cm³ de solution en demandent 0,645 cm³ et les 69,0 mgr. de maltose du même volume 3,83 cm³. Pour 20,2 mgr. de dextrines, il reste donc un pouvoir réducteur de 0,725 cm³ iode 0,1-n., ce qui indique un poids moléculaire moyen de 555 et une longueur moyenne des chaînes de 3,1 restes de glucose. Ces données correspondent à un trisaccharide.

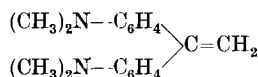
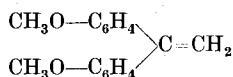
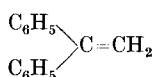
Genève, Laboratoires de chimie inorganique
et organique de l'Université.

XXXIV. Über die Vinylhomologen der Triphenylmethanfarbstoffe

von R. Wizinger und G. Renckhoff.

(1. XI. 41.)

Im Rahmen einer Reihe von Untersuchungen über den Mechanismus der Additions- und Substitutionsreaktionen¹⁾ fand *R. Wizinger* im Jahre 1930, dass einseitig positivierte Äthylene, insbesondere unsymmetrische Diaryl-äthylene, und ihre Säureadditionsprodukte, die Methylcarbeniumsalze, zu den mannigfachsten Kondensationsreaktionen befähigt sind²⁾. Derartige Äthylene und Methylcarbeniumsalze sind z. B. Diphenyl-äthylen, Dianisyl-äthylen, Tetramethyldiamin-diphenyl-äthylen, Methyl-xanthyliumsalze, Methylthioxanthyliumsalze, 9,10-Dimethyl-acridiniumsalze u. a. m.:



¹⁾ Zusammenfassender Überblick s. J. pr. [2] 154, 1—39 (1939), ferner J. pr. [2] 157, 137 (1940); daselbst weitere Literaturangaben.

²⁾ D.R.P. 639910 (angem. am 23. 11. 1930). — *R. Wizinger*, Vortrag gehalten auf der Tagung der Schweiz. Chem. Ges. in Freiburg am 15. 3. 1939 (Referat Z. ang. Ch. 52, 383 (1939)).