

Analyse de trois produits résultant de préparations différentes. $C_6H_7O_2(OCH_3)_3$ calculé $-OCH_3$ 45,6%Prép. 1 2,210 mgr. ont donné 7,67 mgr. AgI trouvé $-OCH_3$ 45,83%Prép. 2 3,500 mgr. ont donné 12,04 mgr. AgI trouvé $-OCH_3$ 45,45%Prép. 3 15,02 mgr. ont consommé 13,26 cm³ n/10 thios. trouvé $-OCH_3$ 45,64%

La viscosité avant et après le traitement a été déterminée dans le tétrachloréthane à 20° (fig. 1).

Nous attribuons la très faible diminution de la viscosité à la substitution des groupes hydroxyles libres par des groupes $-OCH_3$.Laboratoires de Chimie inorganique et organique
de l'Université de Genève.21. Recherches sur l'amidon XXXVII¹⁾.Détermination du poids moléculaire de polysaccharides
naturels par dosage colorimétrique

par Kurt H. Meyer, G. Noelting et P. Bernfeld.

(1 XII 47)

D'après nos connaissances actuelles, les polysaccharides naturels possèdent *un* groupe réducteur par molécule: c'est la molécule d'aldose ou de cétose à laquelle sont fixés successivement les autres restes de monoses, formant ainsi une macromolécule linéaire ou ramifiée. Le dosage de ce groupe réducteur dans une quantité connue de polysaccharide permettrait donc de déterminer le poids moléculaire du corps. Plusieurs auteurs ont déjà utilisé ce principe: c'est ainsi que *Bergmann* et *Machemer*²⁾ essayent de déterminer le poids moléculaire de la cellulose par action de l'hypoiodite. *Fargher* et *Probert*³⁾ et plus tard *Richardson*, *Higginbotham* et *Farrow*⁴⁾ oxydent le groupe aldéhydique de l'amidon par une solution concentrée de carbonate — hydrogénocarbonate de sodium, additionnée de sulfate de cuivre. L'oxydure de cuivre formé est séparé par centrifugation, dissous dans le sulfate ferrique et titré avec du sulfate cérique. Comme l'oxydure est légèrement soluble, on ajoute pour chaque gr. d'amidon 2 mgr. de glucose, dont la valeur réductrice est déterminée dans un essai à blanc et sera soustraite de la valeur obtenue. La méthode n'a cependant pas été vérifiée avec des polysaccharides de poids moléculaire connu. Elle ne semble pas avoir été utilisée par d'autres auteurs.

¹⁾ XXXVIème communication, *Helv.* **31**, 100 (1948).²⁾ *M. Bergmann* et *H. Machemer*, *B.* **63**, 316, 2304 (1930).³⁾ *R. G. Fargher* et *M. E. Probert*, *J. Text. Ind.* **18**, 559 (1927).⁴⁾ *W. A. Richardson*, *R. S. Higginbotham* et *F. D. Farrow*, *J. Text. Ind.* **27**, 131, (1936).

Depuis quelques années, plusieurs auteurs américains déterminent l'«indice d'alcali» (alkali labile value), proposé par *Taylor*¹⁾ et modifié par *Schoch*²⁾. C'est la diminution de l'alcalinité provoquée par l'amidon ou ses composants dans un milieu fortement alcalin, par une chauffe prolongée. Cet «indice» dépend certainement du nombre de groupes aldéhydiques libres, mais il est peu probable qu'il existe un rapport numérique simple entre les deux valeurs.

Comme, à notre avis, seule une méthode très sensible de dosage du pouvoir réducteur pouvait donner des résultats satisfaisants, nous avons examiné des méthodes colorimétriques. La méthode de *Sumner*³⁾ pour le dosage du glucose, appliquée par *Noelting*⁴⁾ au dosage d'activité d'enzymes amylolytiques, a été modifiée de telle façon que l'on peut doser les groupes réducteurs de polysaccharides de poids moléculaire considérable. La méthode consiste en la réduction de l'acide dinitrosalicylique en solution alcaline et le dosage photométrique du produit de réaction, probablement l'acide nitro-amino-salicylique. L'oxydation du maltose et celle du glucose ayant des allures différentes, ce qui se traduit par une valeur de réduction différente par mole, nous avons préféré établir une courbe d'étalonnage avec le maltose, en admettant une certaine similitude de réaction pour tout glucose terminal substitué en position 4. Nous avons pu vérifier la méthode — avec des résultats satisfaisants — avec des polysaccharides de poids moléculaire connu.

Les échantillons suivants de polysaccharides ont été utilisés pour la vérification: amylose IV dont le poids moléculaire avait été déterminé par des mesures de pression osmotique de son acétate, amyloses I et III dont les poids moléculaires avaient été déterminés par comparaison de leur viscosité avec celle de IV⁵⁾, et lichénine dont la teneur en groupes terminaux de 0,6 % correspond à un poids moléculaire de 27 000 pour une structure non ramifiée⁶⁾. Voici les valeurs obtenues:

	poids moléculaire		degré de polymérisation
	connu	trouvé	
amylose de maïs, fract. I . .	13000	13000	80
amylose de maïs, fract. III .	26000	24000	150
amylose de maïs, fract. IV .	35000	33000	200
lichénine	27000	26000	160

¹⁾ *T. C. Taylor, H. H. Fletcher et M. H. Adams, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 7, 321 (1935).*

²⁾ *Th. J. Schoch et C. C. Jensen, ibidem 12, 531 (1940).*

³⁾ *J. B. Sumner, J. Biol. Chem. 62, 287 (1925).*

⁴⁾ *G. Noelting et P. Bernfeld Helv. 31, 286 (1948).*

⁵⁾ *Kurt H. Meyer, P. Bernfeld et E. Wolff, Helv. 23, 854 (1940).*

⁶⁾ *Kurt H. Meyer et P. Gürtler, Helv. 30, 751 (1947).*

Il est évident que la méthode n'est pas applicable à des polysaccharides traités par des oxydants.

Description de la méthode:

Solution 1: Sol. d'acide dinitro-3,5-salicylique à 1,5 %.

2: NaOH 6n.

Étalonnage: 2 cm³ d'une solution de maltose hydraté à 0,01 % sont dilués avec 1 cm³ d'eau et additionnés de 1 cm³ de 2 et 1 cm³ de 1. On chauffe pendant 30 minutes à 65°, refroidit, ajoute 20 cm³ d'eau et compare l'absorption au photomètre avec celle d'un essai à blanc (sans maltose) traité dans les mêmes conditions. On utilise des cellules de 20 mm de longueur et un filtre vert. On répète la mesure avec des solutions de maltose, de concentration croissant jusqu'à 0,1 %. On fait ainsi une courbe d'étalonnage allant de 0,2 à 2 mgr. de maltose.

Solution 3: Environ 500 mgr. de polysaccharide sont dissous dans 5 cm³ d'eau et dialysés contre l'eau distillée pendant 24 heures. Un contrôle avec dialyse pendant 48 heures et dosage permet de voir si l'élimination des produits à bas poids moléculaire a été complète.

Détermination de la concentration: 1 cm³ de 3 est additionné de 10 cm³ d'HCl n et hydrolysé dans un courant d'azote à 100° pendant 45 minutes. On neutralise et dose le glucose, par la méthode de Sumner par exemple.

Dosage des groupes réducteurs: 2 cm³ de 3 additionnés de 1 cm³ de 2 et 1 cm³ de 1 sont chauffés pendant 30 minutes à 65°. On ajoute 20 cm³ d'eau et procède à la lecture photométrique contre un blanc. Si l'absorption est trop forte, on répète le dosage avec moins de substance.

Blanc: 2 cm³ de 3 additionnés de 1 cm³ de 2 et de 1 cm³ d'eau sont chauffés à 65° pendant 30 minutes, refroidis et additionnés de 1 cm³ de 1 et 19 cm³ d'eau.

Si le polysaccharide est insoluble dans l'eau mais soluble en milieu alcalin, on dissout la prise de 500 mgr. par trituration dans 4 cm³ de 2, dilue, neutralise, soumet à la dialyse, sans tenir compte d'une précipitation éventuelle, et évapore à sec au vide poussé à 80°. On pèse deux prises d'environ 200 mgr., dissout la première dans 1 cm³ de 2, dilue par 2 cm³ d'eau, ajoute 1 cm³ de 1; la deuxième prise (le blanc) est dissoute dans 1 cm³ de 2, et diluée par 3 cm³ d'eau. On procède ensuite comme ci-dessus.

Le degré de polymérisation d'un polyglucosane est égal au double du rapport: poids polysaccharide/poids maltose, pour deux solutions ayant la même absorption.

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