

203. Recherches sur l'amidon, 40¹⁾.**L'amylose de pomme de terre**par **Kurt H. Meyer** et **P. Rathgeb**.

(29 VII 48)

Poursuivant nos études sur les composants des différentes espèces d'amidon, nous étudions dans ce travail l'amylose de pomme de terre.

Par extraction des grains gonflés dans l'eau chaude, on n'obtient que la moitié environ de l'amylose (fraction A₁); l'autre partie (A₂) reste dans les grains. Par la méthode de *Schoch*, précipitation de l'amylose par le butanol ou un autre alcool, à partir d'une solution d'amidon autoclavé, on obtient un rendement bien meilleur. Cependant, l'amylopectine de *Schoch* (fraction B), que l'on précipite par le méthanol après élimination de l'amylose, contient encore jusqu'à 8% d'une substance donnant une couleur bleue avec l'iode (*Kerr*²⁾).

Nous trouvons qu'en combinant les deux méthodes, on arrive à une meilleure séparation: on soumet les grains gonflés à l'extraction à l'eau chaude (65—70°) et répète cette extraction avec de l'eau. L'amylose A₁ se sépare des solutions après addition de butanol ou d'un autre alcool. On désagrége les grains dans l'autoclave et précipite l'amylose A₂ selon *Schoch*. On remarque que le précipité se dépose plus facilement que si l'amylose A₁ n'a pas été éliminé au préalable.

La solution d'amylopectine ainsi obtenue et précipitée par le méthanol ne contient plus que 0,4% de substance donnant une couleur bleue avec l'iode. Le reste de cette impureté a déjà été éliminé par l'extraction aqueuse; il s'agit d'un amylose de poids moléculaire bas (comme A₁) qui, en présence de beaucoup d'amylopectine, n'est pas précipitable par le butanol. Les 0,4% restant encore dans l'amylopectine peuvent ensuite être éliminés par adsorption sur du coton hydrophile dans une colonne chromatographique. On peut les éluer complètement du coton par NaOH 1%. Le poids moléculaire de cette petite fraction d'amylose est d'environ 15 000.

Les poids moléculaires des fractions principales — déterminés par la méthode décrite antérieurement³⁾ — sont réunis dans le tableau ci-après⁴⁾:

¹⁾ 39e communication: *Helv.* **31**, 108 (1948).

²⁾ *R. W. Kerr*, *Arch. Biochem.* **7**, 377 (1945).

³⁾ *K. H. Meyer*, *G. Noelting* et *P. Bernfeld*, *Helv.* **31**, 103 (1948).

⁴⁾ Voir *K. H. Meyer*, *P. Bernfeld*, *P. Gürtler* et *G. Noelting*, *Helv.* **31**, 108 (1948).

	Degré de polymérisation	Poids moléculaire
<i>Amidon de pomme de terre:</i>		
Amylose A ₁	72	11 500
Amylose A ₂	680	110 000
Amylopectine totale . . .	1100	180 000
<i>Amidon de maïs¹⁾</i>		
Amylose A ₁	80, 148, 204	13 000, 24 000, 33 000
Amylose A ₂	2100	340 000
Amylopectine totale . . .	240	45 000

Comme on le sait, l'empois de maïs se solidifie beaucoup plus rapidement que celui de pommes de terre; cette différence est due, à notre avis, en grande partie à la différence des poids moléculaires des amyloses respectifs.

Une autre différence très nette du comportement des deux espèces d'amidon trouve maintenant également une explication. Les grains de maïs gonflent dans l'eau jusqu'à 30 fois leur volume primitif, puis éclatent. Par contre, les grains de l'amidon de pomme de terre peuvent absorber en eau jusqu'à 30 fois leur volume primitif, sans éclater. Nous savons que l'enveloppe du grain d'amidon gonflé est formée d'un réseau lâche maintenu par des cristallites (micelles à franges), liés entre eux par des fils moléculaires. Il est évident que les grandes molécules d'amylopectine de pomme de terre permettent une extension du réseau plus considérable que les molécules plus petites de l'amylopectine de maïs.

Partie expérimentale.

Préparation de l'amylose A₁.

On introduit 50 gr. d'amidon de pomme de terre en suspension dans environ 100 cm³ d'eau dans 10 l. H₂O dist. à 70°, agité au régime d'environ 20 tours/min. (une forte agitation entraîne la destruction mécanique des grains). On maintient la température pendant une heure aussi exactement que possible à 70°, en continuant l'agitation lente. On laisse reposer une nuit et on siphonne la solution surnageante. Le reste est centrifugé. On ajoute la liqueur centrifugée limpide à la fraction siphonnée et on filtre. Les liqueurs réunies sont concentrées au vide à un volume de 500 cm³ et on précipite ensuite l'amylose A₁ par 1200 cm³ méthanol. On triture le précipité 2 fois à l'éthanol, 1 fois à l'éther et 2 fois à l'éther absolu. Rendement: 4,75 gr. d'amylose A₁ sec, soit 9,5% de l'amidon. On reprend le culot de l'extraction aqueuse par 10 l. H₂O et on extrait une deuxième fois dans les mêmes conditions que ci-dessus. On obtient encore 200 mgr. d'amylose A₁.

Préparation d'amylose A₂ d'après Schock²⁾.

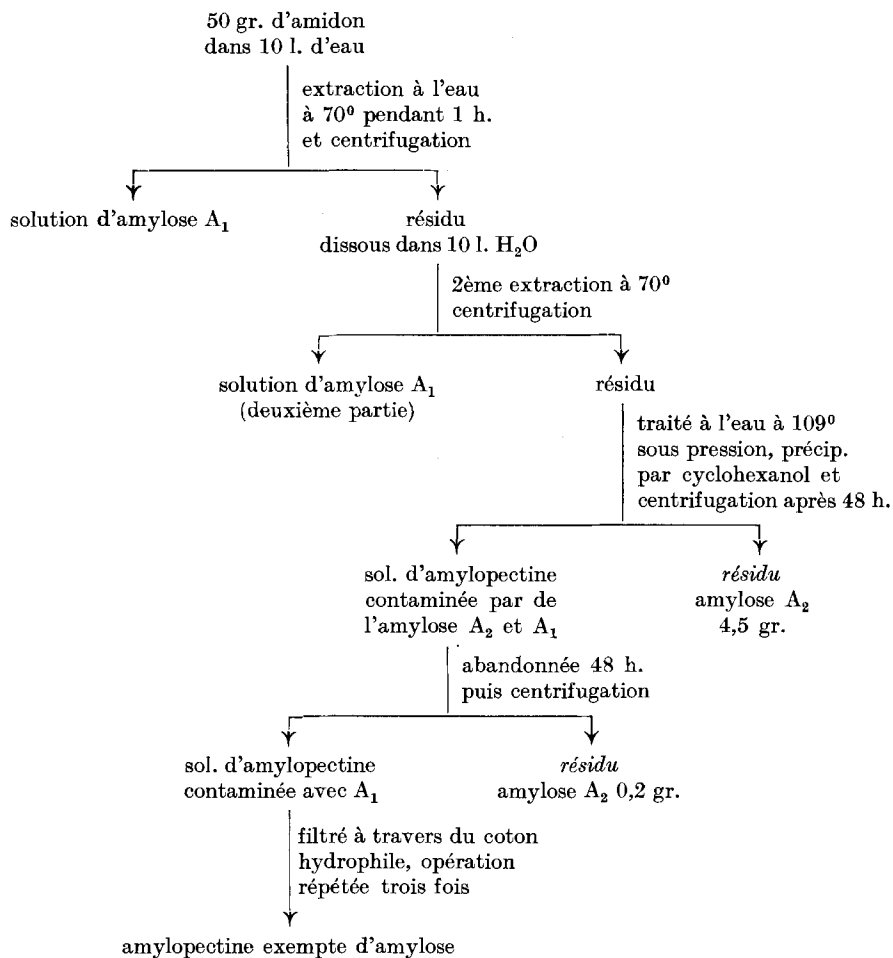
Le résidu obtenu après les extractions à l'eau à 70° est dilué à 3 l. par de l'eau dist. et traité dans un autoclave à 109° sans adjuvants. Au bout de 2 heures, on sort la liqueur encore chaude (90°) de l'autoclave et ajoute sous forte agitation 300 cm³ de cyclohexanol bouillant. On continue l'agitation pendant 12–15 min. jusqu'au refroidissement. Le récipient est entouré de calorifuges pour ralentir le refroidissement. On laisse ensuite reposer pendant 48 heures à la chambre froide. On agite la liqueur pendant 1 h. environ pour la rendre homogène, puis on centrifuge pendant 20 min. à 3000 tours/min. et siphonne le liquide surnageant. Le culot est lavé 3 fois à l'eau froide saturée par du cyclohexanol et centrifugé. On recristallise ensuite l'amylose obtenu en le dissolvant dans 800 cm³ d'eau bouillante saturée par le cyclohexanol. On laisse refroidir très lentement

¹⁾ Voir K. H. Meyer, P. Bernfeld, P. Gürtler et G. Noelting, *Helv.* **31**, 108 (1948).

²⁾ T. J. Schock, *Advances in Carbohydrate Chemistry* **1**, 247 (1945).

sous agitation rapide et on le laisse ensuite pendant 48 h. à la chambre froide. On homogénéise par agitation pendant une heure, centrifuge et lave à l'eau froide saturée par le cyclohexanol. Le culot est traité 2 fois à l'éthanol, 1 fois à l'éther et 1 fois à l'éther absolu. Produit sec: 6 gr. d'amylose A_2 pur soit 12% par rapport à l'amidon total.

Schéma de fractionnement de l'amidon de pomme de terre.



Préparation de l'amylopectine.

La solution d'amylopectine obtenue après le fractionnement dans l'autoclave à 109° et la précipitation de l'amylose par le cyclohexanol contient encore de l'amylose. Pour éliminer ce dernier, on chauffe à 90° la solution d'amylopectine saturée de cyclohexanol et laisse refroidir très lentement sous agitation. On laisse reposer pendant 48 h., centrifuge ensuite pendant 30 min. et répète cette opération une deuxième fois. Une goutte de solution d'iode 0,01-n. ajoutée à 2 cm³ de la solution d'amylopectine ainsi traitée provoque une couleur violette.

La solution d'amylopectine est concentrée au vide, on la filtre ensuite à travers une colonne de chromatographie, remplie de 25 gr. de coton hydrophile. Cette opération est répétée 2—3 fois avec un nouveau remplissage de coton. On précipite ensuite l'amylopectine de la solution par un excès de méthanol et on centrifuge. Le culot est lavé 2 fois au méthanol et 2 fois à l'éther. Produit sec: 36,5 gr. d'amylopectine, soit 73% par rapport à l'amidon total.

RÉSUMÉ.

En combinant la méthode de séparation des constituants de l'amidon indiquée par *Schoch* avec la méthode employée par *Meyer* et *Bernfeld*, on arrive à une meilleure séparation. Les fractions de l'amidon de pomme de terre ont été étudiées. Leurs poids moléculaires diffèrent considérablement de ceux de l'amidon de maïs. La différence entre le comportement des empois des deux espèces d'amidon est due en partie à la différence des poids moléculaires des amyloses respectifs.

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

204. Recherches sur l'amidon, 41¹⁾.

La dégradation de l'amylopectine par la β -amylase

par Kurt H. Meyer, P. Bernfeld, P. Rathgeb et P. Gürtler.

(29 VII 48)

Nous avons décrit récemment une nouvelle méthode²⁾ de dégradation des composants de l'amidon par la β -amylase: on introduit une solution alcaline des polysaccharides dans une solution tamponnée de β -amylase en grand excès. Le phénomène de vieillissement qui entrave la dégradation est ainsi supprimé.

L'application de cette méthode à l'amylopectine nous a permis de déterminer exactement la vraie limite de sa dégradation. La dégradation exécutée de cette manière est plus rapide et plus poussée que celle que l'on observe d'après la prescription habituelle (adjonction d'une certaine quantité d'enzyme à une solution de polysaccharide). Par cette nouvelle méthode, un palier rigoureusement horizontal est atteint, tandis que dans la méthode habituelle, la dégradation continue lentement après avoir atteint un palier apparent. Cette dégradation lente s'explique par l'attaque beaucoup moins rapide des régions cristallines formées par le vieillissement.

Si une amylopectine contient de l'amylose, la valeur limite de dégradation devient trop grande, car l'amylose est dégradé à 100 % (voir fig. 2). Nous avons donc dû éliminer de nos préparations toute trace d'amylose, c'est-à-dire toute trace de substance donnant une

¹⁾ 40e communication: *Helv.* **31**, 1533 (1948).

²⁾ *P. Bernfeld et P. Gürtler*, *Helv.* **31**, 106 (1948).