

Si de l'amidon ou de l'amylopectine brute contenant de l'amylose sont soumis à la dégradation, les vitesses des deux réactions se superposent (voir fig. 2).

*Amylopectine brute.* L'amylopectine de maïs obtenue selon *Schoch*<sup>1)</sup> (autoclavage de l'amidon dégraissé en présence de butanol et précipitation du filtrat par le méthanol), contient encore, selon *Kerr*<sup>2)</sup>, environ 8% d'amylose. Elle est dégradée à 65,5% (voir fig. 2). En tenant compte de la teneur en amylose, on calcule une dégradation de 61,5% pour l'amylopectine pure.

*Purification de l'amylopectine de maïs.* Une solution d'amylopectine à 1% est additionnée d'une solution 0,02-n. d'iode jusqu'à l'apparition d'une couleur bleue intense. Elle est soumise à l'électrodialyse sous 80 mA. et 120 V. Le composé d'addition bleu de l'amylose avec l'iode se dépose à l'anode ou au fond. On rajoute de l'iode et continue l'électrodialyse, jusqu'à ce que l'iode produise une couleur rouge violet. On décolore par quelques gouttes  $\text{SO}_3\text{HNa}$ , neutralise, dialyse et électrodialyse. On concentre au vide et précipite au méthanol. Le produit est dégradé à 62% (voir fig. 1).

#### RÉSUMÉ.

Par la méthode de dégradation décrite récemment, l'amylopectine est dégradée par la  $\beta$ -amylase à 59—62%. L'arrangement des monomères dans l'amylopectine et sa formation enzymatique sont discutés.

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

#### 205. Recherches sur l'amidon, 42<sup>3)</sup>.

Dosages des acides formés lors de l'oxydation des polyols par le periodate

par Kurt H. Meyer et P. Rathgeb.

(29 VII 48)

L'oxydation des polyols par l'acide périodique, décrite par *Malaprade*<sup>4)</sup>, s'est avérée précieuse pour la détermination de la constitution d'hydrates de carbone.

Non seulement la quantité d'acide périodique consommé nous donne des indications, mais aussi le dosage des produits de réaction, soit aldéhydes soit acides.

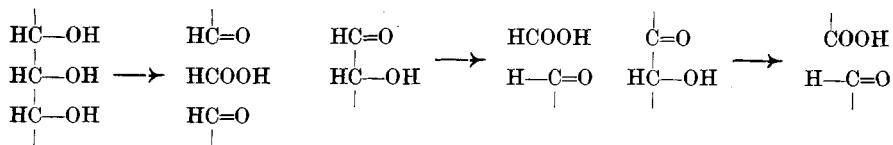
Des acides carboxyliques, principalement l'acide formique, prennent naissance lorsque l'un des groupes suivants se trouve dans la molécule à oxyder:

<sup>1)</sup> *Th. J. Schoch*, Advances in Carbohydrate Chemistry 1, 247 (1945); *G. Noeling* et *P. Bernfeld*, Helv. 31, 286 (1948).

<sup>2)</sup> *R. W. Kerr*, Arch. Biochem. 7, 377 (1945).

<sup>3)</sup> 4<sup>e</sup> communication, Helv. 31, 1536 (1948).

<sup>4)</sup> *M. L. Malaprade*, Bl. [5] 1, 833 (1934); Bl. [4] 43, 683 (1928).



Dans le cadre de nos travaux sur l'amidon et d'autres polysaccharides, il nous a paru nécessaire de disposer d'une méthode permettant le dosage de petites quantités de groupes produisant des acides, à côté d'une grande quantité de groupes glycoliques ne donnant pas d'acide; en effet, dans les polysaccharides naturels, les groupes donnant des acides, en particulier de l'acide formique, peuvent être relativement rares; chez l'amidon, par exemple, ce ne sont que les groupes terminaux — aldéhydiques et non aldéhydiques — qui donnent naissance à de l'acide.

Plusieurs méthodes de dosage des acides formés lors de l'oxydation ont été décrites.

*Malaprade*<sup>1)</sup> titre l'acidité totale du mélange avant et après la réaction. Il utilise comme indicateur la thymolphthaléine qui vire au pH 9,3—10,5 où tout le periodate se trouve à l'état de sel bibasique tandis que le iodate  $\text{IO}_3\text{Na}$  formé lors de la réaction n'est que mono-basique. Il lui faut donc doser séparément l'iodate formé, par réductométrie, pour pouvoir tenir compte du changement d'acidité produit par la réaction suivante:  $\text{IO}_6\text{H}_3\text{Na}_2 \rightarrow \text{IO}_3\text{Na} + \text{NaOH} + \text{O} + \text{H}_2\text{O}$ .

Cette réaction donne donc une valeur à blanc. Cette valeur à blanc étant trop élevée, la méthode précitée ne peut nous servir.

*Malaprade* titre aussi l'acide formé avec le rouge de méthyle qui vire au pH 5. Il est cependant bien établi que l'on ne peut pas titrer de façon précise des acides faibles comme les acides carboxyliques avec cet indicateur.

*Khourvine* et *Arragon*<sup>2)</sup> éliminent l'acide périodique par de l'eau de baryte. Après acidulation, les acides volatiles sont entraînés par la vapeur d'eau et titrés.

*Ness, Hann et Hudson*<sup>3)</sup> effectuent l'oxydation à pH 4 et titrent l'acide formé en présence du rouge de méthyle. *Halsall, Hirst et Jones*<sup>4)</sup> oxydent au moyen de périodate de potassium. Ce sel est très peu soluble et se dissout seulement au fur et à mesure qu'il disparaît de la solution par la réaction, ce qui diminue énormément la vitesse d'oxydation (durée jusqu'à 600 h.). Le périodate en excès est alors transformé en iodate par addition de glycol; le tout est titré avec le rouge de méthyle comme indicateur.

<sup>1)</sup> *M. L. Malaprade*, Bl. [5] 1, 833 (1934); Bl. [4] 43, 683 (1928).

<sup>2)</sup> *Y. Khourvine et G. Arragon*, Bl. [5] 8, 677 (1941).

<sup>3)</sup> *A. Ness, R. Hann et C. Hudson*, Am. Soc. 64, 985 (1942).

<sup>4)</sup> *T. G. Halsall, E. L. Hirst et J. K. N. Jones*, Soc. 1947, 1399 et 1427.

Comme aucune des méthodes décrites n'était suffisamment précise pour nous, nous avons élaboré une nouvelle prescription de dosage. Comme on le sait, le virage optimum pour le titrage des acides carboxyliques est à  $p_H$  8 (indicateur rouge de phénol). Lorsqu'on commence l'oxydation comme le proposent *Hudson* et *Halsall* à un  $p_H$  de 4, la solution après la réduction en iodate présente un  $p_H$  légèrement supérieur à 4, si aucune production d'acide n'a eu lieu. C'est le cas dans l'essai à blanc avec le glycol. Pour arriver au point de virage ( $p_H$  8), il faut ajouter une quantité considérable de soude. En cas de production d'acide, cette quantité sera plus élevée. La différence entre l'essai à blanc et l'essai principal donne la quantité d'acide formé. La valeur à blanc s'est révélée beaucoup trop élevée par rapport aux quantités d'acide que nous avons à doser.

Pour supprimer cette valeur à blanc, il serait donc nécessaire de commencer l'oxydation à un  $p_H$  supérieur à 5, mais à ce  $p_H$  le periodate de sodium précipite en partie sous forme de  $\text{IO}_6\text{H}_3\text{Na}_2$ . On peut cependant neutraliser jusqu'à  $p_H$  4,2—4,5.

Pour ramener le  $p_H$  de 4 à 4,2—4,5, il faut une quantité relativement élevée de soude, car l'acide  $\text{IO}_6\text{H}_5$  est un acide tribasique comme l'acide phosphorique et tamponne dans la région de  $p_H$  4.

La solution de  $p_H$  4,2 à 4,5 n'est stable que pendant quelques heures : à la longue, du periodate disodique se précipite. Réduite par le glycol, la solution présente un  $p_H$  de 7 à 7,5 d'où on arrive, avec très peu de soude, au point de virage du rouge de phénol ; la valeur à blanc est ainsi tellement réduite qu'elle ne gêne plus.

Nous oxydons donc de la manière suivante :

Une solution d'acide périodique est additionnée de soude jusqu'à  $p_H$  4. Cette solution est stable. Elle est amenée au  $p_H$  4,2—4,5 au moment de l'expérience. Une prise aliquote est additionnée de glycol pour déterminer la valeur à blanc. La partie principale est additionnée de la solution à oxyder ; à intervalles de 3, 5, 10 et 30 h., des prises du mélange sont réduites par le glycol et titrées au rouge de phénol. Un palier est généralement atteint après 20—50 heures (dans quelques cas seulement la réaction est plus lente). Une destruction de l'acide formique devrait se manifester par une augmentation du  $p_H$ . Ceci n'est cependant perceptible qu'après 7—8 jours environ, même en présence d'un grand excès de periodate.

Nous avons contrôlé cette méthode avec le mannitol ; on obtient ainsi 4 mol. d'acide formique par molécule de mannitol (erreur expérimentale  $\pm 1\%$ ). Pour voir si la méthode est utilisable dans notre cas, c'est-à-dire pour la détermination de petites quantités de groupes donnant de l'acide en présence de beaucoup de groupes glycoliques ne donnant pas d'acide, nous avons soumis un mélange

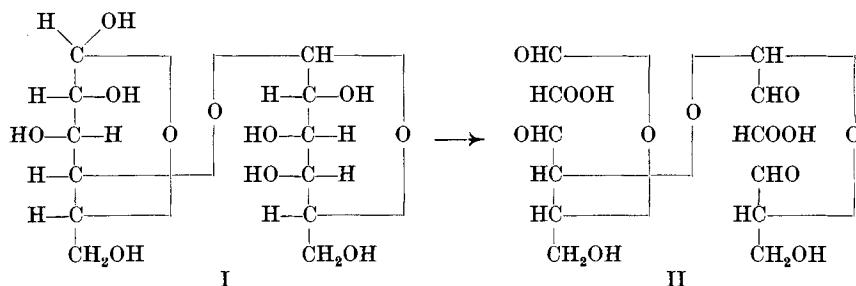
de mannitol et de glycol à l'oxydation avec un excès de periodate. Ici encore le résultat était exact à 1 % près.

Nous avons ensuite appliqué la méthode à plusieurs polyols.

Le tableau ci-après montre les résultats obtenus :

	HCOOH calc. (mol.)	HCOOH trouvé
Mannitol . . . .	4	3,96
Mannitol-glycol .	4	3,98
Rhamnose . . . .	4	4,03
Glucose . . . . .	5	5,0
Saccharose . . . .	1	1,00
Lactose . . . . .	?	2,08

Le lactose réagit de la façon suivante : deux molécules d'acide sont formées au cours de 10 heures ; la réaction continue, mais à une allure beaucoup plus réduite. Il s'ensuit que le lactose réagit sous sa forme cyclique selon le schéma suivant :



et que l'ester formique (II) est saponifié lentement, produisant ainsi une mol. d'acide formique et, en même temps, un groupe glycolique qui est oxydable par l'acide périodique.

### Partie expérimentale.

1<sup>o</sup> *Solution de périodate de Na 0,25-m.* On neutralise 50 cm<sup>3</sup> d'acide périodique pur obtenu par action de l'acide sulfurique sur le périodate de baryum d'après Jackson et Hudson<sup>1)</sup> par NaOH n. jusqu'au pH 3,8-4 (mesuré au « Lyphan »<sup>2)</sup> ou à l'électrode de verre). On complète à 200 cm<sup>3</sup>. Cette solution est stable.

2<sup>o</sup> *Ethylène-glycol*, exempt de glycérol, purifié par distillation sur KOH solide pour éliminer toute trace d'acide.

3<sup>o</sup> *Solution d'oxydant.* Immédiatement avant l'oxydation, on ramène 12 cm<sup>3</sup> de la solution 1<sup>o</sup> par NaOH 0,1-n. au pH 4,1 à 4,2 (contrôlé comme sous 1<sup>o</sup>). Cette solution n'est pas stable et doit chaque fois être fraîchement préparée. On dilue quelques gouttes de cette solution par un peu d'eau et ajoute de l'éthylène-glycol. Après 10 minutes, le pH ne doit pas dépasser 8, point de virage du rouge de phénol.

<sup>1)</sup> E. Jackson et C. S. Hudson, Am. Soc. 59, 994 (1937).

<sup>2)</sup> Papier indicateur « Lyphan » de la Soc. Medicina à Vaduz, Liechtenstein.

**4<sup>o</sup>** *Dispositif pour le titrage.* La prise à titrer est introduite dans une éprouvette de 10 cm. de longueur et 3 cm. de diamètre. On ajoute 0,2 cm<sup>3</sup> éthylène-glycol et, après 10 min., 3 gouttes d'une solution à 0,05% de rouge de phénol dans l'eau. On ferme avec un bouchon de caoutchouc ayant trois trous: un pour l'entrée et un pour la sortie d'azote exempt de CO<sub>2</sub> qui barbotte continuellement à travers la solution pendant toute la durée de l'opération. Le troisième trou est prévu pour la microburette dont le bec est allongé par un mince tube plongeant dans la solution à titrer. La burette a une capacité de 3 cm<sup>3</sup> et est graduée à 0,01 cm<sup>3</sup>. On titre avec NaOH 0,02-n. jusqu'à ce que la teinte passe de l'orange au rouge-violet et compare avec un standard.

**5<sup>o</sup>** *Essai à blanc.* 1 cm<sup>3</sup> de la solution 3<sup>o</sup> est complété à 15 cm<sup>3</sup> par de l'eau; 10 cm<sup>3</sup> de cette solution diluée sont titrés comme décrit.

**6<sup>o</sup>** *Essai principal.* 10 cm<sup>3</sup> de 3<sup>o</sup> sont additionnés de la solution contenant une quantité pesée de la substance à oxyder; dans un essai préliminaire, on détermine la quantité de substance nécessaire pour donner 5—10 mgr. d'acide formique. On complète à 150 cm<sup>3</sup> et on place dans un thermostat à 20°. Après 3, 10, 20 et 30 heures, on prélève des prises de 10 cm<sup>3</sup> chacune que l'on titre comme décrit. Voici quelques résultats détaillés:

#### Glucose.

mgr.substance /10 cm <sup>3</sup> solut.	durée en heures	cm <sup>3</sup> NaOH 0,02-n.	valeur à blanc	cm <sup>3</sup> NaOH 0,02-n.	mol. HCOOH /mol. subst.
1,14	4,5	1,45	0,06	1,39	4,4
1,14	15,5	1,45	0,06	1,39	4,4
1,14	24	1,48	0,06	1,42	4,58
1,14	40	1,58	0,06	1,52	4,81
1,14	48	1,65	0,06	1,59	5,03
1,14	64	1,65	0,06	1,59	5,03
1,14	112	1,64	0,06	1,58	5,0

#### Lactose.

mgr.substance /10 cm <sup>3</sup> solut.	durée en heures	cm <sup>3</sup> NaOH 0,02-n.	valeur à blanc	cm <sup>3</sup> NaOH 0,02-n.	mol. HCOOH /mol. subst.
1,882	16	0,65	0,05	0,60	2,18
1,882	24	0,80	0,05	0,75	2,74
1,882	29	0,85	0,05	0,80	2,89
1,882	40	0,88	0,05	0,83	3,0
1,882	63	1,05	0,05	1,0	3,63
1,882	87	1,18	0,05	1,13	4,15
1,882	111	1,38	0,05	1,33	4,82

Pour les autres substances nous ne donnons que les valeurs du palier:

	mgr.substance /10 cm <sup>3</sup> solut.	durée en heures	cm <sup>3</sup> NaOH 0,02-n.	mol. HCOOH /mol. subst.
Mannitol . . . . .	2,0	20	2,16	3,96
Mannitol + éthylèneglycol	2,0+12,4	48	2,18	3,98
Rhamnose . . . . .	1,26	45	1,40	4,00
Saccharose . . . . .	11,32	80	1,67	1,00

## RÉSUMÉ.

On décrit une méthode de dosage des groupes acides, en particulier de l'acide formique, produits lors de l'oxydation des polyols par le periodate. En tenant compte exactement du changement du  $p_H$  provoqué par la transition de  $\text{IO}_6\text{H}_2^{\cdot\cdot\cdot}$  en  $\text{IO}_3^-$ , on arrive à une précision supérieure à celle des méthodes décrites.

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

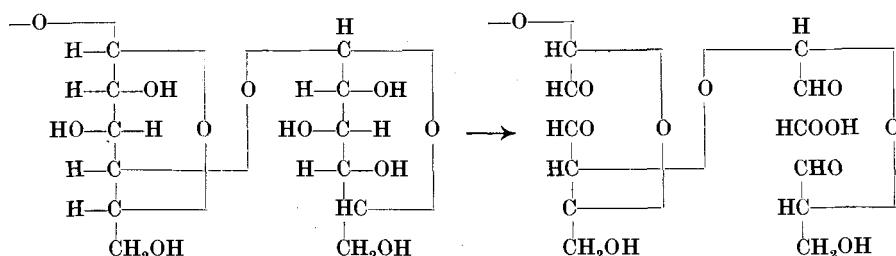
206. Recherches sur l'amidon, 43<sup>1)</sup>.

## Le dosage des groupes terminaux de l'amidon et du glycogène

par Kurt H. Meyer et P. Rathgeb.

(29 VII 48)

Le dosage des groupes terminaux des polysaccharides (problème primordial pour l'établissement de leur constitution) a été effectué jusqu'ici presque exclusivement d'après la méthode classique de Freudenberg<sup>2)</sup> et Haworth<sup>3)</sup>: méthylation complète, scission hydrolytique et détermination des sucres tétra-méthylés qui proviennent uniquement des groupes terminaux. Cette méthode étant très longue et pas très précise, Halsall, Hirst et Jones<sup>4)</sup> ont déterminé les groupes terminaux du glycogène par dosage de l'acide formique produit lors d'une oxydation avec l'acide périodique. En effet, tandis que les groupes à l'intérieur de la molécule ne donnent pas d'acide formique, les groupes terminaux fournissent chacun une molécule d'acide formique.

<sup>1)</sup> 42e communication: Helv. 31, 1540 (1948).<sup>2)</sup> K. Freudenberg et E. Braun, A. 460, 288 (1928).<sup>3)</sup> W. N. Haworth et H. Machemer, Soc. 1932, 2270.<sup>4)</sup> T. G. Halsall, E. L. Hirst et J. K. N. Jones, Soc. 1947, 1399 et 1427.