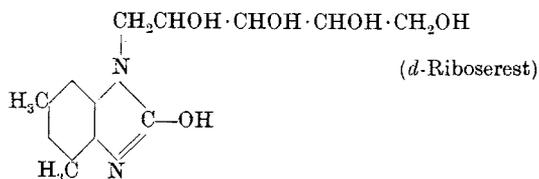


Versuche, durch alkalische Verseifung des 2-Carbäthoxyamino-3,5-dimethylphenyl-*d*-ribamins das 2-Amino-3,5-dimethylphenyl-*d*-ribamin und aus letzterem durch Kondensation mit Alloxan den Flavinfarbstoff herzustellen, zeigten, dass nur minimale Mengen des Flavins gebildet werden. Als Produkt der alkalischen Verseifung bildet sich in überwiegender Menge das Benzimidazolderivat der Formel



(1, *d*-Ribityl-2-oxy-4,6-dimethyl-benzimidazol).

Die Substanz wurde durch wiederholte Krystallisationen aus Wasser, in welchem sie schwer löslich ist, gereinigt. Smp. 248°.

$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_2$	Ber. C 56,8	H 6,80	N 9,47%
	Gef. „ 56,92	„ 6,72	„ 9,71%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

### 173. Sur le phosphore des amidons<sup>1)</sup>

par Théodore Posternak.

(12. X. 35.)

#### INTRODUCTION.

On sait depuis longtemps que la formule classique  $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$  n'exprime pas complètement la composition de l'amidon; celui-ci contient toujours de petites quantités d'autres éléments (P, Si, N)<sup>2)</sup> dont il est souvent difficile, parfois même impossible, de le débarrasser sans entraîner du même coup une dégradation. Les teneurs en ces éléments varient d'ailleurs beaucoup avec l'origine du polysaccharide; toujours est-il qu'on n'a jamais trouvé d'espèce d'amidon complètement dépourvue de phosphore.

<sup>1)</sup> Communications préliminaires: C. r. **197**, 1157 (1933); **198**, 506 (1934); C. r. Soc. Phys. et Hist. Nat. de Genève, **52**, 181 (1935).

<sup>2)</sup> La présence dans la fécule de phosphore et d'azote fut indiquée par *Fernbach*, C. r. **138**, 428 (1904); celle de silicium par *Samec*, Koll. Beih. **6**, 23 (1914). Les amidons contiennent en outre de petites quantités de K, Mg, Ca, Fe.

Tableau I.

	P %	Si %	N %
Amidon de pomme de terre . .	0,06—0,09	0,002	0,01
„ „ blé . . . . .	0,06—0,07	0,008	0,03—0,05
„ „ maïs . . . . .	0,015—0,02		
„ „ sagou . . . . .	0,01—0,015		
„ „ tapioca . . . . .	0,01		
Arrow-root (marantha arund.) .	0,015—0,02		

Le phosphore des amidons a souvent retenu l'attention des chimistes, et cela pour les raisons suivantes :

On sait la grande importance biologique des divers composés phosphorés naturels, et la connaissance exacte du mode de liaison du phosphore dans le polysaccharide de réserve le plus important du règne végétal devait donc présenter un intérêt considérable au point de vue biochimique. Mais il faut noter que la plupart des travaux effectués sur le phosphore de l'amidon sont issus de pré-occupations toutes différentes: *Samec* a affirmé avec beaucoup d'énergie dans de nombreuses publications<sup>1)</sup> que des deux composants de l'amidon c'est l'amylopectine seule qui contient du phosphore alors que l'amylose en est dépourvue; il en a tiré la conclusion que c'est précisément cet élément qui confère à l'amylopectine des propriétés „pectiques“ caractéristiques. Cette théorie de *Samec* a suscité ensuite divers travaux<sup>2)</sup> et l'on constate ainsi qu'on s'est occupé principalement de l'influence qu'exercerait le phosphore sur les propriétés physiques du polysaccharide; mais on doit ajouter que de telles recherches étaient peut-être prématurées car nos connaissances sur le *mode de liaison du phosphore* de l'amidon étaient encore insuffisantes et le présent travail a été entrepris avant tout pour résoudre ce côté purement chimique de la question.

*Travaux antérieurs sur le mode de liaison du phosphore de l'amidon.*

Voici les données les plus importantes existant à ce sujet dans la littérature :

On avait constaté que le phosphore de la fécule de pomme de terre ne se laisse pas éloigner par des lavages au moyen des acides dilués<sup>3)</sup> ni par dialyse; d'autre part on ne peut le déceler par les

<sup>1)</sup> Voir surtout: *Kolloidchemie der Stärke*, 1927, 19; *Koll. Beih.* 6, 23 (1914).

<sup>2)</sup> Certains auteurs ont confirmé les résultats de *Samec*: *Sherman et Baker*, *Am. Soc.* 38, 1885 (1916); *Baldwin*, *ibid.* 52, 2907 (1930). Par contre les auteurs suivants: *P. Karrer*, *Helv.* 12, 1144 (1929); 15, 48 (1932); *Hirst*, *Plant et Wilkinson*, *Soc.* 1932, 2375; *Taylor et Schoch*, *Am. Soc.* 55, 4248 (1933) n'ont pas trouvé de différence notable entre les teneurs en phosphore des deux composants de l'amidon qu'ils séparent, il est vrai, par des méthodes différentes de celles de *Samec*. <sup>3)</sup> *Fernbach*, *loc. cit.*

réactifs de l'acide phosphorique minéral; mais par chauffe à l'autoclave<sup>1)</sup> ou encore par hydrolyse acide énergique<sup>2)</sup>, il passe à l'état d'acide orthophosphorique. Des hypothèses diverses ont été émises quant au mode de liaison de ce phosphore. *Fouard*<sup>3)</sup> a supposé que les grains d'amidon retiennent énergiquement des phosphates minéraux; *Malfitano*<sup>4)</sup> avait émis sous une forme différente une hypothèse analogue: présence de phosphates alcalins et alcalino-terreux combinés sous forme de « complexes » à la matière amylacée. *Samec*<sup>5)</sup>, par contre, a admis la présence d'éthers phospho-organiques. Cette dernière représentation était certainement la plus vraisemblable, mais il faut ajouter que la nature du constituant de l'amidon qui se trouverait combiné à l'acide phosphorique était inconnue: il n'était nullement certain a priori qu'il s'agit d'un reste de glucose; en effet, nous ne connaissons pas tous les produits d'hydrolyse de l'amidon et il est bien possible qu'à côté des 98—99% de glucose ou de maltose effectivement isolés se trouvent d'autres composés hydroxylés en quantités suffisantes pour étherifier tout l'acide phosphorique présent. Pour résoudre la question, une méthode s'imposait: il fallait hydrolyser l'amidon tout en respectant la liaison du phosphore et isoler ensuite de l'hydrolysats des composés phospho-organiques définis.

Un essai avait déjà été effectué avec quelque succès dans cette direction. *Northrop* et *Nelson*<sup>6)7)</sup> avaient traité la fécule de pomme de terre par l'acide chlorhydrique dilué; ils constatèrent la grande résistance du phosphore à l'hydrolyse acide: une minéralisation à peu près quantitative exige une ébullition de près de 14 heures en présence d'acide chlorhydrique à 10% et il est possible, en opérant dans des conditions moins énergiques, de saccharifier l'amidon sans minéralisation notable du phosphore. Après neutralisation de l'hydrolysats par la baryte et addition d'alcool, les auteurs obtinrent un précipité et par divers procédés de fractionnement, ils en retirèrent finalement une substance qui, sous forme d'acide libre, contenait 5,3—5,6% P; ils lui attribuèrent la formule  $C_{17}H_{31}O_{16}(H_2PO_3)$ . *Northrop* et *Nelson* indiquent qu'à l'état brut ce produit n'était pas réducteur, alors qu'une fois purifié il réduisait la liqueur de

<sup>1)</sup> *M. Samec* et *F. von Hoefft*, Koll. Beih. **5**, 141 (1913); *M. Samec*, ibid. **6**, 34 (1914).

<sup>2)</sup> *J. Northrop* et *J. M. Nelson*, Am. Soc. **38**, 472 (1916).

<sup>3)</sup> C. r. **144**, 501 (1907).

<sup>4)</sup> C. r. **143**, 400 (1906).

<sup>5)</sup> Il considère ainsi l'amylopectine comme un « éther amylophosphorique »: *M. Samec* et *F. von Hoefft*, loc. cit.

<sup>6)</sup> loc. cit.

<sup>7)</sup> En soumettant l'amidon à divers traitements (action de la maltine, des rayons ultra-violet) *Samec* et ses collaborateurs ont obtenu des substances un peu plus riches en phosphore que le produit de départ: *M. Samec*, Koll. Beih. **6**, 49 (1914); *M. Samec* et *Z. Antonovic*, ibid. **23**, 377 (1926).

*Fehling* (?). D'autre part, après hydrolyse acide, le pouvoir réducteur correspondait à la libération de 65% de glucose et l'hydrolysate fournit de la glucosazone après traitement par la phénylhydrazine. Ces constatations sont insuffisantes pour établir la constitution de la substance et le travail de *Northrop* et *Nelson*, fort intéressant d'ailleurs, ne permet cependant pas d'élucider le mode de liaison du phosphore dans la fécule.

#### Le phosphore de la fécule de pomme de terre.

Au cours du présent travail nous avons étudié diverses espèces d'amidons et avons constaté que la nature de leurs constituants phosphorés n'est pas invariablement la même. Nos premières recherches ont porté sur la fécule de pomme de terre et nous avons entrepris d'en isoler des composés phosphorés après hydrolyse au moyen soit des amylases soit des acides minéraux.

1. *Hydrolyse enzymatique. Obtention d'acides polyose-mono-phosphoriques.* La fécule a été saccharifiée par l'amylase du pancréas ou encore par l'amylase du malt. L'isolement des composés phospho-organiques a présenté d'abord de sérieuses difficultés en raison de leur grande dilution dans le digestat et de la présence de quantités énormes de glucose, de maltose et de dextrines. Cet isolement a été enfin possible grâce à l'observation suivante: sous l'action du sous-acétate de plomb ammoniacal, les composés phospho-organiques ont tendance à précipiter les premiers, avant les sucres qui les accompagnent, d'où le principe d'une méthode de séparation. Les produits phosphorés isolés finalement sous forme de sels neutres de baryum ont des teneurs en phosphore variant avec la quantité d'amylase employée, mais ne dépassant pas 3,5%; ils contiennent deux équivalents de baryum par atome de phosphore et possèdent des propriétés réductrices. Si l'on désigne par GR leur groupe réducteur pseudo-aldéhydrique dosé d'après *Willstaetter* et *Schudel*<sup>1)</sup>, le rapport  $\frac{P}{GR}$  est toujours égal à l'unité: il s'agit de chaînes à groupe réducteur terminal combinées chacune à une molécule d'acide phosphorique ou, en d'autres termes, d'éthers polyose-monophosphoriques. — On sait que les « dextrines résiduelles » subissent une nouvelle dégradation lorsqu'on les soumet, une fois isolées, à une nouvelle action des amylases<sup>2)</sup>. De même les polyoses phosphorylés dont il vient d'être question sont attaqués par les enzymes et la teneur en phosphore de leurs sels de baryum finit par atteindre 3,5%: il s'agit-là d'une limite de dégradation que nous n'avons pu dépasser. Le composé ainsi obtenu répond à la formule  $C_{24}H_{41}O_{20}(OPO_3Ba)$ : tétraose-monophosphate de baryum<sup>3)</sup>. Dans ce tétraose phosphorylé, la

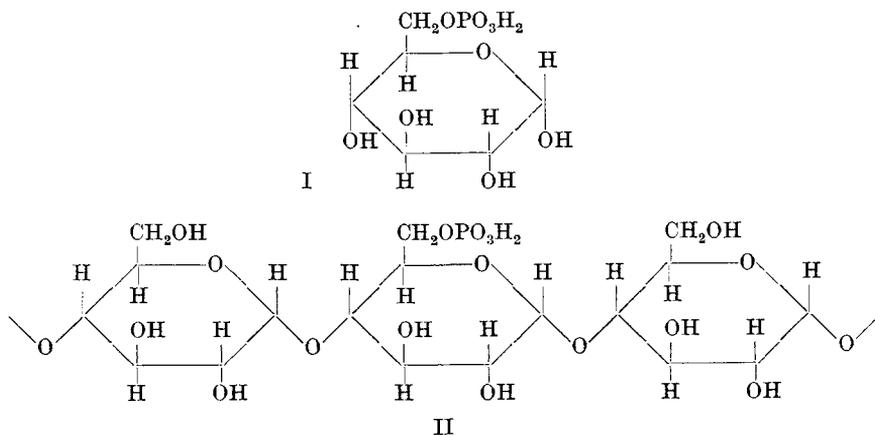
<sup>1)</sup> B. 41, 780 (1918).

<sup>2)</sup> Voir en particulier *R. Kuhn*, A. 443, 36 (1925).

<sup>3)</sup> Après hydrolyse acide, le pouvoir réducteur de cette substance est sensiblement quadruplé.

liaison glucosidique centrale qui unit les deux restes de maltose résiste donc à l'action des amylases. L'individualité chimique de ce composé qui n'a été obtenu que sous forme de sels amorphes n'est pas certaine, notons cependant la constance des compositions et rotations spécifiques<sup>1)</sup> d'échantillons obtenus au cours d'opérations différentes, constance qui plaide évidemment en faveur de l'homogénéité du produit. Ajoutons que le même acide tétraose-monophosphorique s'obtient au moyen aussi bien de l'amylase du malt que de celle du pancréas.

2. *Hydrolyse acide. Obtention de l'éther de Robison.* Par une ébullition prolongée en présence d'acide sulfurique 0,4-n. on peut hydrolyser complètement le tétraose phosphorylé; ce traitement ne minéralise qu'une faible partie du phosphore; en effet la constante de vitesse d'hydrolyse du reste phosphorylé est égale à  $1,7 \times 10^{-4}$ : elle est beaucoup plus faible que la constante d'hydrolyse des liaisons glucosidiques  $\alpha$ ; celle du maltose déterminée dans les mêmes conditions atteint  $1,12 \times 10^{-2}$ . On isole ensuite facilement le produit phospho-organique résiduel dont le sel de baryum répond à la formule  $C_6H_{11}O_5(OPO_3Ba)$  (hexose-monophosphate de baryum); l'osazone qui en dérive a la composition d'un sel primaire de phénylhydrazine d'une phospho-osazone:  $C_{24}H_{31}O_7N_6P$ . Cet éther hexose-monophosphorique est identique au produit intermédiaire de la fermentation alcoolique connu sous le nom d'éther glucose-phosphorique de *Robison*; comme l'ont montré les travaux de *Robison*<sup>2)</sup> et de *Levene*<sup>3)</sup>, ce composé représente l'éther glucose-6-phosphorique (formule I)



<sup>1)</sup> Sel de baryum  $[\alpha]_D = 112^\circ$ ; acide libre  $[\alpha]_D = 135^\circ$ .

<sup>2)</sup> R. Robison et E. J. King, *Bioch. J.* **25**, 323 (1931).

<sup>3)</sup> P. A. Levene et A. Raymond, *J. biol. Ch.* **89**, 479 (1930); **91**, 751 (1931); **92**, 765 (1931).

L'éther de *Robison* s'obtient beaucoup plus rapidement par hydrolyse directe de la fécule au moyen de l'acide sulfurique dilué. On peut l'isoler par la méthode au sous-acétate de plomb ammoniacal dont il a été question auparavant et aussi par une autre méthode qui est plus générale, car contrairement à la première elle s'applique, comme nous le verrons, à toutes les espèces d'amidon: elle repose sur une adsorption des composés phosphorés par le sulfate de baryum en milieu alcalin suivie d'une élution par l'acide chlorhydrique dilué. L'éther de *Robison* s'obtient ainsi assez facilement: ce procédé présenterait même un certain avantage pour la préparation de l'acide glucose-6-phosphorique pur.

La plupart des auteurs se représentent actuellement l'amidon comme formé de longues chaînes ne contenant que des restes de glucose en liaison  $\alpha$ . *L'obtention, à partir de la fécule, d'acides polyose-monophosphoriques d'une part, de l'acide glucose-6-phosphorique d'autre part, permet de représenter par la formule II la partie de la chaîne du polysaccharide qui se trouve combinée à l'acide phosphorique.*

#### Le phosphore de l'amidon de blé.

La teneur en P de l'amidon de blé est à peu près la même que celle de la fécule et la liaison de l'acide phosphorique  $\gamma$  est tout aussi résistante. Après hydrolyse acide, les constituants phosphorés se laissent isoler assez facilement par la méthode d'adsorption au sulfate de baryum<sup>1)</sup> et ils consistent en un mélange d'acides glycéro-phosphoriques: 88% de glycéro-phosphate  $\alpha$  et 12% de glycéro-phosphate  $\beta$ ; contrairement à ce que l'on a constaté dans le cas des glycéro-phosphates d'origine animale, c'est ici l'isomère  $\alpha$  qui se trouve en quantité prépondérante. Ces glycéro-phosphates ne sont pas accompagnés de substances phosphorées réductrices. Tel n'aurait pas été le cas par contre si l'amidon de blé contenait en quantité notable de l'éther de *Robison*. En effet, ce sucre phosphorylé se laisse adsorber par le sulfate de baryum et éluer par l'acide chlorhydrique avec la même facilité que l'acide glycéro-phosphorique<sup>2)</sup> et il aurait donc été présent dans le produit brut obtenu après élution. Il devient très probable alors que tout le phosphore de l'amidon de blé entre dans la composition de glycéro-phosphates

Sous quelle forme ces glycéro-phosphates se trouvaient-ils primitivement dans l'amidon? Très probablement ils faisaient partie de phosphatides; en effet, contrairement à ceux de la fécule de pomme de terre, les composés phosphorés de l'amidon de blé possèdent

<sup>1)</sup> On ne peut les isoler par contre par la méthode au sous-acétate de plomb ammoniacal, car ici ils n'ont aucune tendance à précipiter les premiers par ce réactif.

<sup>2)</sup> Alors que l'adsorption de l'éther de *Robison* et des acides glycéro-phosphoriques est à peu près quantitative, il est difficile d'en éluer plus de 60—70% par l'acide chlorhydrique dilué.

deux propriétés qui appartiennent précisément aux phosphatides<sup>1)</sup>: a) solubilité dans l'alcool; b) sensibilité à l'action des alcalis dilués à froid.

a) Si l'on épuise à l'alcool à 96 % au *Soxhlet* des grains d'amidon de blé natif, on ne les prive que d'une petite partie de leur phosphore. Il n'en est pas de même, par contre, si l'on procède comme suit: on commence par préparer un empois de manière à faire éclater les enveloppes des grains qui sont sans doute imperméables à l'alcool, puis on précipite l'amidon par addition d'alcool et le produit ainsi obtenu est extrait au *Soxhlet*. Nous avons pu alors enlever à l'amidon de blé près de 80 % de son phosphore; la teneur en azote s'est considérablement abaissée en même temps. Il faut donc en conclure que les substances phosphorées extractibles se trouvent à l'intérieur des grains.

b) D'autre part *Samec*<sup>2)</sup> avait déjà indiqué la sensibilité, à l'action des alcalis, du phosphore de l'amidon de blé; en traitant ce dernier par la soude 0,5-n., nous avons pu en effet éliminer près de 95 % de son phosphore.

La facilité avec laquelle l'amidon de blé perd son phosphore par extraction alcoolique rend fort peu probable l'existence d'une liaison chimique entre les phosphatides et le polysaccharide: il s'agit peut être d'un simple mélange physique.

On sait depuis longtemps que les farines de blé contiennent des phosphatides (un composé de cette nature, isolé d'une farine de froment, fut déjà étudié en 1907-08 par *Winterstein*<sup>3)</sup> et ses élèves) et de nombreux travaux de chimie de denrées alimentaires ont trait à leur dosage. Dans un mémoire qui n'est parvenu à notre connaissance qu'après l'achèvement de nos propres recherches, *F. E. Notthohm* et *F. Mayer*<sup>4)</sup> ont constaté par des dosages de choline que la teneur en phosphatides des farines de blé est plus élevée qu'on ne l'admet communément. Etudiant alors la répartition de la choline entre les composants de la farine (gluten, amidon et liquide de lavage), ils ont montré qu'une grande partie de ces phosphatides se trouve fixée sur l'amidon. Les auteurs ne se sont pas occupés par contre des relations existant entre la présence des phosphatides et le contenu en phosphore du polysaccharide; ajoutons que la teneur en phosphatides qu'ils admettent dans un de leurs échantillons d'amidon<sup>5)</sup> ne correspond qu'à 35 % du phosphore de ce dernier. On pouvait donc supposer que les 65 % restants ont un mode de liaison différent, ce qui, comme il résulte de nos recherches, n'est très probablement pas le cas.

#### Le phosphore d'autres espèces d'amidon.

Par la méthode d'adsorption au sulfate de baryum, nous avons isolé en outre les constituants phospho-organiques des espèces d'amidon

<sup>1)</sup> Ajoutons que parmi les produits d'hydrolyse de l'amidon de blé se trouvent encore d'autres constituants de phosphatides, des acides gras: *Taylor* et *Nelson*, *Am. Soc.* **42**, 1726 (1920).

<sup>2)</sup> *Bioch. Z.* **186**, 358 (1927); *Koll. Beih.* **33**, 94 (1931).

<sup>3)</sup> *Winterstein* et *Hiestand*, *Z. physiol. Ch.* **54**, 288 (1907); *Winterstein* et *Smolenski*, *ibid.* **58**, 506 (1908).

<sup>4)</sup> *Z. Unters. Lebensmittel*, **67**, 369 (1934).

<sup>5)</sup> Le seul dont ils indiquent la teneur en phosphore.

suivantes: sagou, arrow-root, maïs. Les deux premières ont fourni de l'éther glucose-6-phosphorique; la dernière, par contre, des glycéro-phosphates  $\alpha$  (85%) et  $\beta$  (15%).

En résumé, dans la fécula de pomme de terre (amidon de tubercules), l'arrow-root, (amidon de rhizome) et le sagou (amidon de moelle) l'acide phosphorique se trouve combiné sous forme d'éther-sel à un reste de glucose (formule II); dans les amidons de céréales par contre (blé, maïs), le phosphore ferait partie de phosphatides et ne serait pas lié directement au polysaccharide. Il y a donc lieu de distinguer deux groupes d'amidons en se basant non seulement sur leur origine botanique, mais encore sur le mode de liaison de leur phosphore.

Il y a quelques années *Samec*<sup>1)</sup> était arrivé par des méthodes toutes différentes à une conclusion analogue. Il avait constaté certaines différences entre des solutions d'« amylopectine » provenant d'une part d'amidons de céréales, d'autre part d'amidons de tubercules, rhizomes, moelle, etc. A concentrations en phosphore égales, les conductibilités électriques des premières sont beaucoup plus faibles; il en est de même des quantités d'alcali nécessaires à leur neutralisation; dans une solution à 1% d'amylopectine de fécula, le rapport  $\frac{H}{P}$  est égal à 0,98, alors qu'il n'atteint que 0,02 dans le cas de l'amylopectine de blé. *Samec*<sup>2)</sup> étendit ces mesures à un très grand nombre d'espèces d'amidons. Il explique ces différences en admettant que dans les amidons de céréales les phosphoryles sont combinés à des substances azotées et se trouvent ainsi masqués; il suppose alors l'existence dans ces amidons de graminées de phytovitellines qui seraient fixées par l'intermédiaire de leurs phosphoryles sur le polysaccharide. Si nous faisons abstraction de cette dernière hypothèse (présence de phytovitelline), il faut reconnaître que les vues de *Samec* sont exactes: c'est en effet la combinaison avec un composé azoté (choline, colamine) qui diminue l'activité du phosphore des amidons de céréales et les différences entre les propriétés électro-chimiques des deux groupes d'amidons s'expliquent maintenant aisément: dans les amidons de tubercules, rhizomes, etc., se trouvent des acides bibasiques fortement dissociés; les phosphatides des amidons de céréales sont par contre des corps neutres dont les ions amphotères ne conduisent pas le courant électrique.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE.

##### Préparation d'acides polyose-monophosphoriques à partir de la fécula de pomme de terre.

Deux échantillons de fécula de pomme de terre ont été employés: échantillon I (*amylum solani Merck*) contenant 17,2% H<sub>2</sub>O et 0,063% P (teneur en P de la substance anhydre: 0,076%); échantillon II (produit commercial de provenance inconnue) contenant 18,0% H<sub>2</sub>O et 0,076% P (teneur en P de la substance anhydre: 0,092%).

*Saccharification par l'amylase du pancréas.* Nous décrivons ici avec quelques détails une de nos expériences.

500 gr. de fécula (échantillon I) sont suspendus dans 1 litre d'eau froide; on verse cette suspension, en agitant énergiquement,

<sup>1)</sup> *M. Samec, M. Minaeff et N. Rouzin, Koll. Beih. 19, 203 (1924).*

<sup>2)</sup> *M. Samec et R. Klemen, Koll. Beih. 33, 254 (1931).*

dans 7 litres d'eau à 75° additionnés préalablement de 40 gr. d'acétate de sodium cristallisé, de 3 gr. de chlorure de sodium et de 0,3 cm<sup>3</sup>. d'acide acétique glacial. On laisse l'empois se refroidir à 40° et ajoute 500 cm<sup>3</sup> d'un extrait glycéринé de pancréas de porc contenant 340 A. E.<sup>1)</sup>. L'empois se liquéfie instantanément; le p<sub>H</sub> de la solution est égal à 6,8.

L'extrait de pancréas a été préparé suivant les indications de *Willstaetter et Waldschmidt-Leitz*<sup>2)</sup> à partir du pancréas de porc desséché et dégraissé au moyen de l'acétone et de l'éther: la poudre d'organe est traitée durant 10 heures à 30° par 16 parties de glycérine à 80%; on additionne ensuite la suspension de 5 volumes d'eau et filtre.

500 gr. de fécule contiennent 315 mgr. P. Les 500 cm<sup>3</sup> d'extrait de pancréas renfermaient 56 mgr. P dont 40 mgr. de P minéral; on n'a donc introduit que 16 mgr. de P organique étranger soit 5% du P de la fécule mise en œuvre.

On ajoute au liquide 100 cm<sup>3</sup> de toluène et laisse à l'étuve à 37°. Le p<sub>H</sub> qui a tendance à s'élever est ramené de temps en temps à 6,8 par addition d'acide acétique. Après 110 heures on filtre le digestat et on l'additionne de 300 cm<sup>3</sup> de sous-acétate de plomb liquide Pharm. Helv., puis on introduit par petites portions, en agitant continuellement, 130 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 10%. On laisse le précipité se déposer et décante; le composé plombique est ensuite essoré et lavé à l'eau. On le malaxe encore humide dans un mortier et ajoute de l'acide acétique glacial jusqu'à dissolution complète. La solution opalescente (p<sub>H</sub> = 7,5—8,0) mesure 320 cm<sup>3</sup>; elle contient 290 mgr. P dont 39 à l'état minéral. On l'additionne en l'agitant de 400 cm<sup>3</sup> d'alcool à 96%, puis on essore et lave à l'alcool à 50% le précipité formé. Ce dernier est ensuite transformé en sel de baryum; pour cela on le décompose par agitation à froid en présence d'un petit excès d'acide sulfurique; le filtrat du sulfate de plomb est additionné jusqu'à neutralité à la phénolphthaléine d'une solution concentrée de baryte qu'on introduit par petites portions, en agitant. Le mélange de sulfate et de phosphate de baryum est essoré sur une couche de norite et le filtrat est précipité par 2 volumes d'alcool. On essore le produit et on le lave d'abord à l'alcool dilué puis à l'alcool fort et enfin à l'éther. Rendement 6 gr. Après dessiccation à 110° dans le vide sur l'anhydride phosphorique, la substance contient 2,79% P et 14,09% Ba. On peut enrichir encore en phosphore ce composé en le reprécipitant par le sous-acétate de plomb, en l'absence, cette fois, d'ammoniaque: 4,5 gr. sont dissous dans 25 cm<sup>3</sup> d'eau; on ajoute du sous-acétate de plomb Pharm. Helv. en évitant tout excès. Le précipité plombique est décomposé par l'acide sulfurique et transformé en sel de baryum de la manière décrite ci-dessus. Obtenu 3 gr.

<sup>1)</sup> *Willstaetter* désigne par A.E. (Amylase-Einheit) une unité de mesure de l'amylase. Pour la définition et le dosage des A.E., voir *R. Willstaetter, E. Waldschmidt-Leitz et A. Hesse, Z. physiol. Ch.* **126**, 155 (1923).

<sup>2)</sup> Loc. cit.

5,58 mgr. subst. anhydre ont donné 0,2405 gr. SPMoBa<sup>1)</sup>  
 0,1394 gr. subst. anhydre ont donné 0,0341 gr. BaSO<sub>4</sub>

$$\text{Trouvé: P 3,18 Ba 14,40\% } \frac{\text{Ba}}{\text{P}} = 1,02$$

Dosage du groupe réducteur GR d'après *Willstaetter-Schudel*: 0,2210 gr. subst. anhydre (contenant 7,03 mgr. P) ont consommé 4,48 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

$$\text{Trouvé } \frac{\text{P}}{\text{GR}} = 1,01$$

Une nouvelle précipitation par le sous-acétate de plomb ne modifie plus la composition du produit.

Comme le montre le tableau ci-dessous, la teneur en phosphore du polyose-monophosphate de baryum ainsi obtenu dépend (toutes les autres conditions de l'amylolyse restant les mêmes) de la quantité d'amylase mise en œuvre.

Tableau II.

N <sup>o</sup>	Nombre de A.E. employés pour 500 gr. de féculé	Polyose-monophosphate de baryum anhydre			
		P %	$\frac{\text{P}}{\text{GR}}$	$[\alpha]_D$	Nombre de restes de glucose par at. P
1	12	1,73	1,09	163°	9—10
2	33	2,21	1,01	137°	6—7
3	38	2,46	0,97	—	6
4	40	2,45	1,01	138°	6
5	60	2,71	—	126°	5—6
6	340	3,18	1,01	—	4—5
7	750	3,43	1,02	111°	4

Ces polyose-monophosphates de baryum se présentent sous forme de poudres blanches, amorphes et peu hygroscopiques. Ils sont très facilement solubles dans l'eau et réduisent la liqueur de *Fehling* à chaud. Ils sont précipités par le sous-acétate de plomb, mais se redissolvent en présence d'un grand excès de réactif; l'acétate neutre de plomb par contre ne les précipite pas. Ils ne sont pas colorés par l'iode<sup>2)</sup>. Les acides libres sont des sirops extrêmement solubles dans l'eau, mais peu solubles dans l'alcool.

Les substances No. 2, 3 et 4 du tableau II ont la composition d'un hexaose-monophosphate de baryum, la substance No. 7 celle d'un tétraose-monophosphate de baryum.

<sup>1)</sup> Tous les dosages de phosphore ont été effectués d'après la méthode sulfomolybdique de *S. Posternak*, Bl. [4] 27, 507 et 564 (1920). La teneur en P du sulfophosphomolybdate de Ba pesé (en abrégé SPMoBa) est de 0,739%. Les dosages de P minéral en présence de P en combinaison organique ont été effectués par la méthode double nitro-sulfomolybdique.

<sup>2)</sup> A l'exception de la substance N<sup>o</sup> 1 du tableau II qui est colorée en rouge par l'iode.

N° 2. 58,12 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1738 gr. SPMoBa  
 0,1453 gr. subst. anhydre ont donné 0,0282 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 0,1735 gr. subst. anhydre ont consommé 2,45 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 $l = 1 \text{ dm} \quad c = 1,21\% \quad \alpha_D = 1,66^\circ \quad [\alpha]_D = 137^\circ$

N° 3. 3,546 mgr. subst. anhydre ont donné 4,601 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,60 mgr. H<sub>2</sub>O  
 48,32 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1606 gr. SPMoBa  
 0,1208 gr. subst. anhydre ont donné 0,0234 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 0,3019 gr. subst. anhydre ont consommé 4,92 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

N° 4. 4,973 mgr. subst. anhydre ont donné 6,398 mgr. CO<sub>2</sub> et 2,29 mgr. H<sub>2</sub>O  
 41,32 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1370 gr. SPMoBa  
 0,2066 gr. subst. anhydre ont donné 0,0401 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 0,1160 gr. subst. anhydre ont consommé 1,82 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 $l = 1 \text{ dm} \quad c = 2,04\% \quad \alpha_D = 2,83^\circ \quad [\alpha]_D = 138^\circ$

C<sub>36</sub>H<sub>61</sub>O<sub>34</sub>PBa (hexaose-monophosphate de baryum):

Calculé	C 35,82	H 5,09	P 2,57	Ba 11,41%	$\frac{P}{GR} = 1,00$
Trouvé N° 2			„ 2,21	„ 11,42%	„ = 1,01
N° 3	„ 35,39	„ 5,05	„ 2,46	„ 11,40%	„ = 0,97
N° 4	„ 35,09	„ 5,15	„ 2,45	„ 11,42%	„ = 1,01

N° 7. 4,056 mgr. subst. anhydre ont donné 4,778 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,78 mgr. H<sub>2</sub>O  
 32,66 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1516 gr. SPMoBa  
 0,1633 gr. subst. anhydre ont donné 0,0438 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 0,0802 gr. subst. anhydre ont consommé 1,74 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 $l = 1 \text{ dm} \quad c = 2,11\% \quad \alpha_D = 2,35^\circ \quad [\alpha]_D = 111^\circ$

C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>O<sub>24</sub>PBa (tétraose-monophosphate de baryum):

Calculé	C 32,65	H 4,65	P 3,52	Ba 15,60%	$\frac{P}{GR} = 1,00$
Trouvé	„ 32,13	„ 4,91	„ 3,43	„ 15,78%	„ = 1,02

Hydrolyse par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4-n.:

1° 0,7 gr. de la subst. N° 4 (hexaose-monophosphate de baryum) sont dissous dans l'eau; on enlève Ba<sup>++</sup> par la quantité calculée d'acide sulfurique; le filtrat du sulfate de baryum est additionné de 10 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> n. et le volume est complété à 25 cm<sup>3</sup>.

Pouvoir réducteur initial de 5 cm<sup>3</sup> . . . . . 1,75 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 Après 7 heures d'ébullition à reflux . . . . . 10,10 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 Calculé (hydrolyse complète d'un hexaose) . . . . . 10,50 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

2° 0,4 gr. de la subst. N° 7 (tétraose-monophosphate de baryum) sont traités comme dans l'essai précédent.

Pouvoir réducteur initial de 5 cm<sup>3</sup> . . . . . 1,71 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 Après 7 heures d'ébullition à reflux . . . . . 6,50 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.  
 Calculé (hydrolyse complète d'un tétraose) . . . . . 6,84 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

*Action de l'amylase sur les acides polyose-monophosphoriques.* Environ 2 gr. de la subst. N° 4 du tableau II sont débarrassés quantitativement de Ba<sup>++</sup> par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; on neutralise exactement par la soude en présence de phénolphtaléine et complète à 75 cm<sup>3</sup>. Pouvoir réducteur initial de 5 cm<sup>3</sup> de cette solution de substrat: 1,80 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

1° 5 cm<sup>3</sup> de substrat + 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O + 1 cm<sup>3</sup> NaCl 0,2-n. + 10 cm<sup>3</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> m/15 + 10 cm<sup>3</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> m/15 + 2 cm<sup>3</sup> d'extrait glyciné de pancréas (0,9 A.E.) + 2 cm<sup>3</sup> de toluène; p<sub>H</sub> = 6,8; laissé à l'étuve à 37°.

2° 5 cm<sup>3</sup> de substrat + 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O + 1 cm<sup>3</sup> NaCl 0,2-n. + 9,8 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>·COONa 0,1-n. + 0,3 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>·COOH 0,1-n. + 2 cm<sup>3</sup> d'extrait de pancréas + 2 cm<sup>3</sup> de toluène; p<sub>H</sub> = 6,8; laissé à l'étuve à 37°.

	4 h.	48 h.
1° cm <sup>3</sup> I 0,1-n. consommés <sup>1)</sup>	3,61	3,61
2° „ „ „ „ „	3,59	3,70

Calculé (scission de l'hexaose phosphorylé en tétraose et en maltose) 3,60 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

3° 40 cm<sup>3</sup> de la solution de substrat + 120 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O + 60 cm<sup>3</sup> d'acétate de sodium 0,1-n. + 1,5 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>·COOH 0,1-n. + 7 cm<sup>3</sup> d'extrait de pancréas (3,15 A.E.) + 6 cm<sup>3</sup> NaCl 0,2-n. + 10 cm<sup>3</sup> de toluène; p<sub>H</sub> = 6,8; laissé 48 heures à l'étuve à 37°. Le liquide est ensuite concentré dans le vide à 40 cm<sup>3</sup> puis additionné de 5 cm<sup>3</sup> de sous-acétate de plomb Pharm. Helv. Le sel plombique est décomposé par l'acide sulfurique, puis transformé en sel de baryum qu'on purifie en le précipitant par l'alcool de sa solution aqueuse. Obtenu 0,5 gr. ayant la composition d'un tétraose-monophosphate de baryum.

46,96 mgr. subst. anhydre ont donné 0,2212 gr. SPMoBa

0,1174 gr. subst. anhydre ont donné 0,0312 gr. BaSO<sub>4</sub>

C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>O<sub>24</sub>PBa Calculé P 3,52 Ba 15,60%

Trouvé „ 3,48 „ 15,64%

l = 1 dm c = 1,68% α<sub>D</sub> = 1,90° [α]<sub>D</sub> = 113°  
acide libre

l = 2 dm c = 1,78% α<sub>D</sub> = 4,90° [α]<sub>D</sub> = 137°

*Saccharification de la fécula par l'amylase du malt.* Un empois de 300 gr. de fécula (échantillon II) dans 4,5 litres d'eau est additionné de 300 cm<sup>3</sup> d'extrait de malt; on introduit de l'acide acétique jusqu'à p<sub>H</sub> = 4,8 (environ 1,2 cm<sup>3</sup> d'acide glacial), 50 cm<sup>3</sup> de toluène et laisse 100 heures à l'étuve à 37°.

L'extrait de malt a été préparé comme suit: 1 partie de malt de brasserie grossièrement moulu est suspendue dans 3,5 parties d'eau; on laisse séjourner à température ordinaire et agite de temps en temps. Au bout de 3 jours, on essore l'insoluble. 1 cm<sup>3</sup> de l'extrait contient 0,53 mgr. P dont 85% à l'état minéral.

Le digestat est précipité par 180 cm<sup>3</sup> de sous-acétate de plomb Pharm. Helv. et 120 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 10%. Le composé plombique est ensuite traité comme il a été décrit précédemment (voir saccharification par l'amylase du pancréas). On obtient finalement 4,7 gr. d'un sel phospho-organique de baryum (contenant 2,43% P) qu'on purifie en le précipitant par le sous-acétate de plomb; la teneur en P du sel de baryum régénéré s'élève alors à 2,70%. Ce composé est soumis à une nouvelle action de l'amylase du malt: 1,5 gr. sont débarrassés quantitativement de Ba<sup>..</sup> par l'acide sulfurique; on neutralise par la soude et ajoute 50 cm<sup>3</sup> d'extrait de malt + 0,3 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>·COOH n. + 5 cm<sup>3</sup> de toluène; volume total 150 cm<sup>3</sup>; p<sub>H</sub> = 4,8. Laissé 100 heures à l'étuve à 37°. Le liquide est ensuite clarifié par filtrage sur une couche de norite, puis concentré dans le vide à 20 cm<sup>3</sup> environ. On ajoute alors 15 cm<sup>3</sup> de

<sup>1)</sup> Les chiffres indiqués ont dû subir préalablement des corrections. En effet, comme le montre l'essai suivant, l'extrait de pancréas contient de la maltase et il a fallu donc tenir compte de l'hydrolyse du maltose libéré: 5 cm<sup>3</sup> de maltose 0,02-n. sont traités par 2 cm<sup>3</sup> d'enzyme, les autres conditions restant les mêmes que précédemment; ils consomment: a) après 4 heures 2,15 cm<sup>3</sup> I 0,1-n. (hydrolyse 7%); b) après 48 heures 3,10 cm<sup>3</sup> I 0,1-n. (hydrolyse 55%). D'autre part, on a tenu compte de l'iode qui est consommé par la solution d'enzyme et le mélange tampon et qui a été déterminé par des essais à blanc en l'absence de substrat.

sous-acétate de plomb Pharm. Helv. et 50 cm<sup>3</sup> d'alcool à 96%; le sel de plomb ainsi précipité est ensuite transformé en sel de baryum: 0,5 gr. ayant la composition d'un tétraose-monophosphate de baryum.

38,60 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1769 gr. SPMoBa

0,0965 gr. subst. anhydre ont donné 0,0264 gr. BaSO<sub>4</sub>

C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>O<sub>24</sub>PBa    Calculé P 3,52    Ba 15,60%

                  Trouvé „ 3,39    „ 16,10%

l = 1 dm    c = 1,91%    α<sub>D</sub> = 2,10°    [α]<sub>D</sub> = 110°

Acide libre

l = 1 dm    c = 1,04%    α<sub>D</sub> = 1,40°    [α]<sub>D</sub> = 134°

*Hydrolyse acide de l'éther tétraose-monophosphorique.* Une solution d'acide tétraose-monophosphorique (subst. N° 7 du Tableau II) dans l'acide sulfurique 0,4-n. est chauffée à l'ébullition. On prélève de temps en temps 5 cm<sup>3</sup> pour déterminer le pouvoir réducteur et le phosphore minéral formé.

Tableau III.

Durée de chauffe en minutes	cm <sup>3</sup> I 0,1-n. consommés	P minéral en % de P total	k × 10 <sup>4</sup> (k = constante de vitesse de mi- néralisation du P)
0	2,32	0	—
13	3,79	—	—
27	5,01	—	—
72	6,25	—	—
120	6,94	—	—
240	—	8,3	1,6
420	—	16,3	1,8
680	8,80	24,0	1,7
900	—	31,9	1,8

Isolement des produits phospho-organiques. 3 gr. de tétraose-monophosphate sont dissous dans l'eau; on précipite quantitativement Ba<sup>++</sup> par l'acide sulfurique, ajoute encore 12 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> n. et complète le volume à 30 cm<sup>3</sup>. On chauffe à l'ébullition à reflux.

a) Au bout de 1½ heure d'ébullition une partie du liquide est neutralisée, après refroidissement, par la baryte; on essore le précipité sur une couche de norite et additionne le filtrat de 2—3 volumes d'alcool. Le produit précipité a la composition d'un biose-monophosphate de bayrum: C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>O<sub>14</sub>PBa. Calculé P 5,56 Ba 24,66%; trouvé P 5,41 Ba 24,27%; [α]<sub>D</sub> = 66°.

La constante de vitesse d'hydrolyse de la liaison glucosidique de cet acide biose-monophosphorique en solution 0,07-n. dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4-n. à 100° a été trouvée égale à 3 × 10<sup>-3</sup> environ; elle est beaucoup plus faible que la constante correspondante du maltose qui, dans les mêmes conditions, atteint 1,12 × 10<sup>-2</sup> (empêchement stérique dû au groupe phosphoryle?).

b) Après 10 heures d'ébullition le composé phospho-organique a été isolé et purifié par l'intermédiaire de son sel de brucine cristallisé. Sa composition est alors celle d'un hexose-monophosphate de baryum; par son osazone cristallisée (p. de f. 152°) il a été identifié à l'éther de *Robison* (voir plus loin).

*Hydrolyse acide de la féculé de pomme de terre.*

*Isolement du composé phospho-organique.* Les constituants phosphorés de la féculé se laissent isoler après hydrolyse sulfurique

par une méthode d'adsorption qui s'est montrée d'ailleurs applicable à toutes les autres espèces d'amidon étudiées; quelle que soit l'origine du polysaccharide mis en œuvre, il convient d'opérer comme suit:

600 gr. d'amidon sont suspendus dans 1 litre d'eau. On verse la suspension dans 3 litres d'eau bouillante additionnée préalablement de 50 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré et on maintient à l'ébullition à reflux durant 4—5 heures. Après refroidissement on ajoute par petites portions, en agitant continuellement, une solution concentrée et filtrée de baryte (300 gr. dans 1 litre d'eau chaude) jusqu'à réaction faiblement alcaline à la phénophtaléine. On laisse le précipité se déposer, puis on l'essore sur un grand *Buchner* garni d'une couche de norite et lave au moyen d'une solution très diluée de baryte. Le filtrat ne contient que très peu de phosphore (moins de 10 mgr.). Le précipité encore humide est malaxé dans un mortier avec 500 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique à 1%. On agite quelques heures à température ordinaire, puis chauffe  $\frac{1}{2}$  heure au bain-marie. L'insoluble est ensuite essoré sur une couche de norite et lavé; on peut répéter l'élu­tion au moyen de l'acide chlorhydrique dilué, mais la quantité de phosphore extractible est cette fois minime. Les liqueurs chlorhydriques contiennent 60—70% du P de l'amidon mis en œuvre; on les alcalinise légèrement à l'ammoniaque, filtre et concentre dans le vide à 50 cm<sup>3</sup> environ. Le liquide qui est devenu légèrement acide est neutralisé à la baryte puis additionné de quelques volumes d'alcool à 96%. Le précipité formé est purifié par dissolution dans l'eau et reprécipitation par l'alcool.

A partir de 600 gr. de fécula (échantillon II) on obtient ainsi 3,7 gr. d'un sel de baryum contenant anhydre: 7,0% P;  $\frac{P}{GR} = 1,06$ . Le produit contient encore des polyoses phosphorés. Pour l'en débarrasser, il convient de le traiter encore 2—3 heures à l'ébullition par 10 fois son poids d'acide sulfurique à 4%. Après refroidissement, on neutralise à la baryte, filtre et précipite le filtrat par quelques volumes d'alcool. Obtenu 3 gr. contenant anhydres 7,45% P.

Après hydrolyse sulfurique de la fécula, on peut aussi isoler les produits phosphorés par précipitation au moyen du sous-acétate de plomb ammoniacal. 600 gr. de fécula sont chauffés 4—5 heures à l'ébullition en présence de 4 litres d'acide sulfurique à 2%. On ajoute à l'hydrolysate 15 cm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> D 1,4 (pour éviter les pertes par adsorption) et précipite quantitativement l'acide sulfurique par la baryte; le liquide doit conserver une réaction fortement acide au congo. Le sulfate de baryum est ensuite essoré sur la norite, on neutralise le filtrat par l'ammoniaque et ajoute 180 cm<sup>3</sup> de sous-acétate de plomb Pharm. Helv. et 80 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 10%. Un précipité se forme lentement; il est essoré après 24 heures et traité comme il a été indiqué précédemment (voir l'isolement des acides polyose-monophosphoriques après hydrolyse enzymatique). On obtient ainsi un sel de baryum qu'on chauffe encore 3 heures à l'ébullition en présence d'acide sulfurique à 4%; la teneur en phosphore atteint alors 7,4—7,5%. Cette méthode au sous-acétate de plomb est moins pratique que la méthode d'adsorption décrite ci-dessus.

Le composé phospho-organique qui a été obtenu par l'une de ces deux méthodes, ou encore par hydrolyse sulfurique des éthers polyose-monophosphoriques, est ensuite purifié par l'intermédiaire de son sel de brucine cristallisé<sup>1</sup>). Sa composition est alors celle d'un hexose-monophosphate de baryum.

4,121 mgr. subst. anhydre ont donné 2,745 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,08 mgr. H<sub>2</sub>O  
 22,52 mgr. subst. anhydre ont donné 0,2378 gr. SPMoBa  
 0,1126 gr. subst. anhydre ont donné 0,0650 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 0,1206 gr. subst. anhydre ont consommé 5,90 cm<sup>3</sup> I 0,1-n.

C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>9</sub> PBa	Calculé C 18,20	H 2,78	P 7,84	Ba 34,78%	$\frac{P}{GR} = 1,00$
	Trouvé „ 18,17	„ 2,93	„ 7,80	„ 34,00%	„ = 1,03
l = 1 dm	c = 1,49%	$\alpha_{5461} = 0,31^0$			$[\alpha]_{5461} = 20,8^0$
l = 1 dm	c = 2,90%	$\alpha_{5461} = 0,64^0$			$[\alpha]_{5461} = 22,0^0$
l = 1 dm	c = 1,96%	$\alpha_D = 0,36^0$			$[\alpha]_D = 18,3^0$
acide libre					
l = 1 dm	c = 1,15%	$\alpha_{5461} = 0,47^0$			$[\alpha]_{5461} = 40,9^0$
l = 2 dm	c = 0,647%	$\alpha_{5461} = 0,55^0$			$[\alpha]_{5461} = 42,5^0$

1 gr. du sel de baryum est dissous dans 10 cm<sup>3</sup> d'eau; on précipite quantitativement Ba<sup>..</sup> par l'acide sulfurique normal, filtre et ajoute une solution de 1 gr. de phénylhydrazine dans 2 cm<sup>3</sup> d'acide acétique à 50%. Après une chauffe de 20 minutes au bain-marie, on essore à chaud les fines aiguilles qui se sont séparées et on les lave d'abord à l'eau chaude, puis à l'alcool et enfin au chloroforme. Rendement 0,4 gr. Pour la recristallisation, on dissout dans l'alcool chaud et ajoute du chloroforme jusqu'à trouble persistant. P. de f. 152—153<sup>0</sup> (chauffe rapide). P. de f. du mélange avec un produit préparé à partir de l'éther de *Harden-Young* 152—153<sup>0</sup>.

3,074 mgr. subst. ont donné 5,885 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,61 mgr. H<sub>2</sub>O  
 3,052 mgr. subst. ont donné 0,414 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23<sup>0</sup>, 751 mm)  
 20,5 mgr. subst. ont donné 0,1526 gr. SPMoBa

C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> O <sub>7</sub> N <sub>6</sub> P	Calculé C 52,72	H 5,72	N 15,38	P 5,68%
	Trouvé „ 52,22	„ 5,86	„ 15,46	„ 5,51%

Solvant: mélange 3 vol. d'alcool absolu + 2 vol. de pyridine l = 1 dm c = 0,96%  
 $\alpha_{5461}$  après 15 min. = -0,60<sup>0</sup>  $[\alpha]_{5461}$  après 15 min. = -62,5<sup>0</sup>  
 $\alpha_{5461}$  après 24 heures = -0,34<sup>0</sup>  $[\alpha]_{5461}$  après 24 heures = -35,4<sup>0</sup>

Tableau IV.

	Acide hexose-phosphorique de la fécula	Acide glucose-6-phosphorique de <i>Robison</i> <sup>2)</sup>
Acide libre C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>9</sub> P $[\alpha]_{5461}$ (dans l'eau) . . .	40,9 <sup>0</sup> ; 42,5 <sup>0</sup>	41,4 <sup>0</sup>
Sel de baryum C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>9</sub> PBa $[\alpha]_{5461}$ (dans l'eau)	20,8 <sup>0</sup> ; 22,0 <sup>0</sup>	21,2 <sup>0</sup>
Sel de phénylhydrazine de l'osazone C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> O <sub>7</sub> N <sub>6</sub> P		
Point de fusion . . . . .	152—153 <sup>0</sup>	154—154,5 <sup>0</sup>
$[\alpha]_{5461}$ (mélange 3 vol. alcool + 2 vol. pyridine)		
après 15 minutes . . . . .	- 62,5 <sup>0</sup>	- 60 <sup>0</sup>
après 24 heures . . . . .	- 35,4 <sup>0</sup>	- 35 <sup>0</sup>

<sup>1)</sup> La préparation du sel de brucine cristallisé et sa transformation en sel de baryum ont été effectuées comme *P. A. Levene* et *A. Raymond* l'ont indiqué pour leur éther glucose-6-phosphorique synthétique [J. biol. Chem. **89**, 485 (1930)].

<sup>2)</sup> Bioch. J. **25**, 323 (1931).

Le tableau IV montre que l'acide hexose-phosphorique obtenu à partir de la fécula est identique à l'acide glucose-6-phosphorique de *Robison*.

**Amidon de blé.**

L'amidon étudié (*amylum tritici Pharm. Helv.*) contenait 12,8% H<sub>2</sub>O et 0,0572% P; anhydre il contenait donc 0,0656% P.

*Traitements par l'alcool et par l'alcali.* I. De l'amidon natif a été extrait à l'alcool dans un appareil *Soxhlet* durant 18 heures. II. On a préparé un empois de 5 gr. d'amidon dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau et on l'a versé en agitant dans 2 vol. d'alcool à 96%. Le précipité a été essoré rapidement et lavé à l'alcool puis à l'éther. III. On a préparé un empois qu'on a précipité par l'alcool comme dans l'essai précédent. On a décanté et, sans essorer le produit, on l'a introduit dans une cartouche à extraction, puis on a extrait à l'alcool dans un *Soxhlet* durant 26 heures. IV. 10 gr. d'amidon ont été agités 20 heures à température ordinaire avec 100 cm<sup>3</sup> de soude 0,05-n. La substance a gonflé légèrement; on l'a lavé par décantation d'abord à l'eau, puis à l'alcool; finalement on l'a essoré et lavé à l'alcool et à l'éther. V. 4 gr. d'amidon ont été suspendus dans 5 cm<sup>3</sup> d'eau. On a introduit peu à peu en agitant 75 cm<sup>3</sup> NaOH 0,5-n.; un empois s'est formé. On a agité 18 heures à la machine et versé dans 150 cm<sup>3</sup> d'alcool à 96% + 3 cm<sup>3</sup> HCl concentré. L'amidon précipité a été ensuite trituré, d'abord en présence d'alcool à 60%, puis d'alcool fort; finalement on a essoré et lavé à l'alcool et à l'éther.

Le tableau suivant indique la composition des produits obtenus.

Tableau V.

	P (en % de la substance anhydre)	N <sup>1)</sup>	Perte en P (en % du P primitif)
Amidon de blé natif . . . . .	0,066	0,03	0
„ „ „ après traitement I . . . . .	0,061	—	8
„ „ „ „ „ II . . . . .	0,043	—	34
„ „ „ „ „ III . . . . .	0,014	0,01	79
„ „ „ „ „ IV . . . . .	0,025	—	62
„ „ „ „ „ V . . . . .	0,003	0,005	95
Fécula de pomme de terre native . . . . .	0,076	0,01	0
„ „ „ „ „ après traitement III	0,071	—	7
„ „ „ „ „ „ V	0,069	—	9

On voit que, soumise aux mêmes traitements, la fécula de pomme de terre perd beaucoup moins de phosphore que l'amidon de blé.

<sup>1)</sup> Les dosages d'azote ont été effectués d'après la méthode de *F. C. Koch* et *T. L. McMeekin*, *Am. Soc.* 46, 2066 (1924).

*Isolement des composés phospho-organiques.* Après hydrolyse sulfurique de 600 gr. d'amidon de blé, on a obtenu par la méthode d'adsorption 1,6 gr. d'un produit contenant 10,4% P et 32,6% Ba. Il ne réduit pas la liqueur de *Fehling* et ne consomme pas d'iode en milieu alcalin; d'autre part il est optiquement inactif ( $l = 1$  dm;  $c = 15\%$ ). Si l'on maintient quelques minutes à l'ébullition une solution à 10%, la majeure partie se précipite sous forme micro-cristalline, mais se redissout par refroidissement<sup>1)</sup>. Le produit donne toutes les réactions colorées indiquées par *O. Bailly*<sup>2)</sup> pour les glycéro-phosphates  $\alpha$ . A part la baryte, le produit contient encore d'autres bases, surtout de la chaux; pour l'en débarrasser, on en dissout 1 gr. dans 10 cm<sup>3</sup> d'eau et ajoute 6 cm<sup>3</sup> d'acétate neutre de plomb à 20%; le sel plombique séparé est transformé en sel neutre de baryte qu'on isole en le précipitant par l'alcool.

4,632 mgr. subst. anhydre ont donné 2,065 mgr. CO<sub>2</sub> et 0,98 mgr. H<sub>2</sub>O  
 11,40 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1566 gr. SPMoBa  
 0,1140 gr. subst. anhydre ont donné 0,0838 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>PBa    Calculé C 11,71    H 2,28    P 10,08    Ba 44,70%  
                   Trouvé „ 12,15    „ 2,37    „ 10,15    „ 43,26%

Titration par l'acide periodique: J'ai opéré exactement d'après les prescriptions de *Fleury et Paris*<sup>3)</sup>.

0,0953 gr. subst. anhydre ont consommé 5,48 cm<sup>3</sup> HIO<sub>4</sub> 0,1-n.  
 Calculé (glycéro-phosphate  $\alpha$  pur)    6,21 „ „ „

Le produit contient donc 88% de glycéro-phosphate  $\alpha$ ; les 12% restants consistent en glycéro-phosphate  $\beta$  qui se laisse isoler sous forme du sel double cristallisé de *P. Karrer*<sup>4)</sup>. 0,6 gr. du mélange sont dissous dans 2,5 cm<sup>3</sup> d'eau; on ajoute une solution de 0,4 gr. de nitrate de baryum dans 5 cm<sup>3</sup> d'eau; une cristallisation se fait lentement. On essore au bout de deux jours. Obtenu 40 mgr. qu'on recristallise dans l'eau chaude.

3,457 mgr. subst. ont donné 0,088 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°, 761 mm.)  
 16,8 mgr. subst. ont donné 0,1541 gr. SPMoBa  
 21,0 mgr. subst. ont donné 0,0167 gr. BaSO<sub>4</sub>  
 (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>PBa)<sub>2</sub>Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>    Calculé N 3,19    P 7,07    Ba 47,03%  
                                   Trouvé „ 2,94    „ 6,78    „ 46,80%

#### Constituants phosphorés d'autres espèces d'amidon.

Tous les amidons étudiés ont été hydrolysés par l'acide sulfurique à 2%, puis on a isolé les composés phospho-organiques par la méthode d'adsorption au sulfate de baryum.

*Arrow-root.* 600 gr. d'arrow-root de *marantha arundinacea* (contenant: 15,5% H<sub>2</sub>O et 0,0175% P; anhydre 0,0207% P) ont fourni 0,6 gr. d'un sel de baryum réducteur qui a été traité ensuite 3 heures à l'ébullition par l'acide sulfurique à 4%, puis purifié par l'intermédiaire du sel de brucine cristallisé.

20,18 mgr. subst. anhydre ont donné 0,2134 gr. SPMoBa  
 C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>PBa    Calculé P 7,84%  
                   Trouvé „ 7,84%

<sup>1)</sup> Les glycéro-phosphates  $\alpha$  alcalino-terreux sont moins solubles à chaud qu'à froid.

<sup>2)</sup> Ann. chim. [9] 6, 96 (1916).

<sup>3)</sup> J. Pharm. 18, 470 (1933).

<sup>4)</sup> Helv. 9, 5 (1926).

Le produit a donné une osazone cristallisée fondant à 150—152° (chauffe rapide); le mélange avec l'osazone de l'éther de *Robison* fondait à la même température.

21,55 mgr. subst. ont donné 0,1653 gr. SPMoBa

$C_{24}H_{31}O_7N_6P$	Calculé P	5,68%
	Trouvé „	5,66%

*Amidon de sagou.* 600 gr. d'amidon de sagou<sup>1)</sup> (contenant: 12,6% H<sub>2</sub>O et 0,0095% P; anhydre 0,0111% P) ont donné 0,3 gr. d'un sel de baryum réducteur. On l'a traité encore 3 heures par l'acide sulfurique à 4%; la teneur en phosphore était encore trop faible (6,4%), mais le manque de substance a empêché de pousser la purification plus loin et l'on s'est contenté de caractériser le produit par son osazone cristallisée qui fondait, de même que son mélange avec l'osazone de l'éther de *Robison*, à 150—152°.

17,01 mgr. subst. ont donné 0,1224 gr. SPMoBa

$C_{24}H_{31}O_7N_6P$	Calculé P	5,68%
	Trouvé „	5,32%

*Amidon de maïs.* 600 gr. d'amidon de maïs Pharm. Helv. (contenant: 14,9% H<sub>2</sub>O et 0,0159% P; anhydre 0,0187% P) ont fourni 0,45 gr. d'un sel de baryum non réducteur. Après purification par l'intermédiaire du sel de plomb, le produit avait la composition d'un glycéro-phosphate de baryum.

12,00 mgr. subst. anhydre ont donné 0,1600 gr. SPMoBa

0,0600 gr. subst. anhydre ont donné 0,0442 gr. BaSO<sub>4</sub>

$C_3H_7O_6PBa$	Calculé P	10,08	Ba	44,70%
	Trouvé „	9,86	„	43,35%

Titrage par l'acide periodique.

0,0651 gr. subst. anhydre ont consommé 3,60 cm<sup>3</sup> HIO<sub>4</sub> 0,1-n.

Calculé (glycéro-phosphate α pur) 4,24 „ „ „

Le mélange contenait donc 85% de glycérophosphate α.

#### RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° On a élaboré deux méthodes permettant d'isoler les composés phospho-organiques libérés par hydrolyse des amidons. Elles sont basées:

l'une, sur une précipitation par le sous-acétate de plomb ammoniacal;

l'autre, qui est d'une application plus générale, sur une adsorption par le sulfate de baryum en milieu alcalin suivie d'une élution en milieu acide.

2° Par hydrolyse de la fécule de pomme de terre au moyen des amylases, il se forme des acides polyose-monophosphoriques; leur limite de dégradation est représentée par un acide tétraose-monophosphorique qui s'obtient au moyen aussi bien de l'amylase du pancréas que de celle du malt.

<sup>1)</sup> Sagou véritable des Indes (de *metroxylon sagu*) de *Groult j<sup>ne</sup>*. (Paris).

3° Par hydrolyse acide, la fécule ainsi que les polyoses phosphorylés fournissent l'éther glucose-6-phosphorique de *Robison*.

4° L'éther de *Robison* a été obtenu également à partir de l'arrow-root et de l'amidon de sagou.

5° Traité dans certaines conditions par l'alcool ou encore par les alcalis dilués, à froid, l'amidon de blé perd la majeure partie de son phosphore.

6° Les produits phospho-organiques obtenus après hydrolyse acide des amidons de blé et de maïs consistent exclusivement en un mélange de glycéro-phosphates  $\alpha$  et  $\beta$ .

7° Parmi les amidons étudiés, il y a donc lieu de distinguer deux groupes, d'après le mode de liaison du phosphore:

a) Amidons de tubercules, de rhizomes et de moelle. L'acide phosphorique y est combiné comme éther-sel à la chaîne du polysaccharide (formule II).

b) Amidons de céréales. Leur phosphore fait partie de phosphatides en liaison lâche avec la matière amylacée.

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

---

## 174. Über Mischfällungen von Nickel-Zink- und Kobalt-Zink-Hydroxyd

(4. Mitteilung über topochemische Reaktionen kompakt-disperser Stoffe<sup>1)</sup>)

von W. Feitknecht und W. Lotmar.

(15. X. 35.)

### I. Einleitung.

Stabiles Zinkhydroxyd krystallisiert nicht wie die Hydroxyde der zweiwertigen Metalle mit ähnlichem Radius wie das Zinkion im C 6-Typ, sondern besitzt ein rhombisches Gitter<sup>2)</sup>. *Natta*<sup>3)</sup> hat vor einiger Zeit nachzuweisen versucht, dass, wenn gemischte Lösungen von Zinkchlorid mit Nickel-, Kobalt- oder Magnesiumchlorid mit Lauge gefällt werden, die Zinkionen die erwähnten Metallionen im Hydroxydgitter isomorph vertreten können. Aus den Röntgendiagrammen dieser Mischhydroxyde berechnete er unter Annahme der Gültigkeit des *Vegard*'schen Gesetzes die Dimensionen der Elementarzelle des hypothetischen Zinkhydroxyds vom C 6-Typ und gab dafür an:  $a = 3,03 \text{ \AA}$ ;  $c/a = 1,60$ .

<sup>1)</sup> 3. Mitteilg. vgl. *Feitknecht*, Koll. Z. **68**, 184 (1934).

<sup>2)</sup> *Corey* und *Wyckoff*, Z. Kryst. **86**, 8 (1933); *Megaw*, Z. Kryst. **90**, 283 (1935).

<sup>3)</sup> *Natta* und *Passerini*, G. **58**, 597 (1928).