

# Contribution à l'étude du phénomène d'Ambard (fixation de l'amylase par l'amidon)

Autor(en): **Chodat, Fernand / Philia, Meliton**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **6 (1924)**

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-741939>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Fernand CHODAT et Meliton PHILIA. — *Contribution à l'étude du phénomène d'Ambard (fixation de l'amylase par l'amidon).*

Nous avons étudié à propos d'amidons divers, le phénomène découvert et décrit par L. Ambard, de la fixation de l'amylase par les amidons crus. Ambard a montré (quatre publications<sup>1</sup> de 1921 à 1923) que, si on ajoute à un liquide contenant de l'amylase, de l'amidon cru, et qu'on agite le tout énergiquement, les grains d'amidon absorberont presque instantanément la totalité du ferment présent; par centrifugation on sépare l'amidon cru qui s'est chargé de l'amylase, dont il a dépouillé la solution. Ce complexe nouveau, amidon cru-amylase, présente une stabilité telle, que des lavages répétés ne réussissent pas à détacher le ferment du grain d'amidon; la reprise du ferment, ou défixation suivant l'expression d'Ambard échoue également en employant des sucres ou des matières colloïdales variées; cette défixation n'a lieu que si l'on met le complexe amidon cru-amylase en présence d'empois d'amidon, de glycogène ou de dextrine. Ces phénomènes ont permis à Ambard d'élaborer une « technique générale du dosage de l'amylase par l'amidon cru, technique qui est précise, sûre et rapide » (*loc. cit.* 1920, p. 51). Nous avons fait des expériences de fixation par les amidons de: Blé, Riz, Orge, Haricot, Pomme de terre Arrow-root. Nous avons employé trois ferments: amylase, d'orge, précipitée par l'alcool (95°) d'une macération alcoolique (20 %) de malt; amylase d'haricot préparée de même; amylase de salive diluée au  $\frac{1}{50}$ . Tantôt les ferments ont été dispersés (salive diluée) dans l'eau de la conduite; cette eau très pure accuse une réaction correspondant au  $\text{pH} = 7,6$ . Tantôt, la dispersion a eu lieu dans une solution de phosphates primaire potassique et secondaire sodique, réalisant une concentration en ions H exprimée par  $\text{pH} = 6,6$ . (Réaction optimale de la digestion amylolytique.) Les amidons ont été, eux aussi,

<sup>1</sup> AMBARD, Léo. C. R. de la Société de Biologie. T. LXXXIII (1920), p. 1458 et T. LXXXIV (1921), p. 230.

Id.: Bulletin de la Société de Chimie biologique. T. III (1921), n° 2, p. 51, et T. V (1923), n° 8, p. 693.

délayés tantôt dans l'eau, tantôt dans la solution de phosphates. Le pouvoir saccharifiant comparé des trois diastases employées est le suivant :

## I

	Haricot : 0,3 %	Orge : 0,1 %	Salive : 1/50
Milieu eau pH = 7,6	Force = 2	Force = 2	Force = 1
Milieu phosphates pH = 6,6	—	Force = 10	Force = 20

La première constatation que nous avons faite, est que dans aucune des conditions précitées, avec aucun amidon, nous n'avons pu observer, comme Ambard le dit, la fixation de la totalité de l'amylase présente; nous avons régulièrement constaté que le ferment est en partie fixé et demeure en partie dans le liquide surnageant.

Cette différence entre nos résultats et ceux d'Ambard provient du fait que cet auteur, pour prouver la fixation totale de l'amylase présente, se base sur une expérience témoin qui est illusoire. Il met dans son expérience témoin, directement en contact avec l'empois d'amidon, la même quantité de ferment qu'il fixe, dans l'expérience normale et qu'il suppose récupérer intégralement dans le culot de centrifugation. Comme, la quantité de sucre mesurée dans les deux cas, lors de la défixation, est très sensiblement la même, Ambard conclut que toute l'amylase a été fixée. Il nous a paru plus certain de recueillir le liquide surnageant de la première centrifugation, de lui ajouter l'eau du lavage subséquent de l'amidon et de mesurer le pouvoir amylolytique de cette liqueur. Ce contrôle direct nous a toujours révélé qu'une fraction, variable d'ailleurs, de l'amylase totale, demeure dans le liquide surnageant. Nous avons dit que l'expérience témoin d'Ambard était illusoire, parce que la titration de la quantité de ferment contenu dans un liquide ne peut être basée sur la mesure des produits

**Amidons :**

Ferments	Amidons :					Milieu Eau pH = 7,6
	Blé	Pomme	Riz	Arrowroot	Orge	
Orge 0,1 %	* + L.S.: 8 cc. C.: 7,4 cc.	* + L.S.: 15,8 cc. C.: 15 cc.	— L.S.: 52 cc. C.: ∞ cc.	— L.S.: 90,4 cc. C.: ∞ cc.	— L.S.: 24,4 cc. C.: ∞ cc.	— L.S.: 20,4 cc. C.: ∞ cc.
Haricot: 0,3%	— L.S.: 60 cc. C.: ∞	— L.S.: 60 cc. C.: ∞	+ L.S.: 44,2 cc. C.: 80 cc.	— L.S.: 40 cc. C.: ∞	— L.S.: 24,4 cc. C.: ∞	— L.S.: 22 cc. C.: ∞
Orge: 0,1%	+ L.S.: 40 cc. C.: 20 cc.	+ L.S.: 32,8 cc. C.: 18,8 cc.	+ L.S.: 44,4 cc. C.: 26,8 cc.	+ L.S.: 46 cc. C.: 10 cc.	+ L.S.: 4 cc. C.: 5,2 cc.	— L.S.: 46,4 cc. C.: ∞
Haricot: 0,3%	+ L.S.: 20 cc. C.: 20 cc.	+ L.S.: 22 cc. C.: 32,8 cc.	+ L.S.: 44 cc. C.: 21 cc.	+ L.S.: 30 cm <sup>3</sup> C.: 25,2 cc.	+ L.S.: 12 cc. C.: 15,2 cc.	+ L.S.: 21,6 cc. C.: 24,8 cc.
Salive: 1/50	+ L.S.: 12 cc. C.: 6 cc.	+ L.S.: 10 cc. C.: 10 cc.	+ L.S.: 20 cc. C.: 4,8 cc.	+ L.S.: 36,4 cc. C.: 10 cc.	+ L.S.: 14 cc. C.: 4 cc.	+ L.S.: 13,2 cc. C.: 3,2 cc.

Milieu  
Phos-  
phates  
pH  
= 6,6

**Amidons solubles :**

Ferments	Amidons solubles :			Milieu Posphates. pH = 6,6
	Blé	Pomme	Arrowroot	
Orge: 0,1 %	L.S.: 27,2 cc. C.: 16 cc.	L.S.: 48,8 cc. C.: 30 cc.	L.S.: 44 cc. C.: > 46 cc.	
Haricot: 0,3 %	L.S.: > 50 cc. C.: 29,6 cc.	L.S.: > 50 cc. C.: *47,2 cc.	L.S.: > 48,8 cc. C.: 40 cc.	

NB.: Le signe > signifie qu'il faudrait un nombre de cm<sup>3</sup> supérieur à celui indiqué, pour décolorer complètement les 10 cm<sup>3</sup> de Fehling 1/6.

L.S.: = Liquide sur-nageant  
C.: = Culot.

finaux de la réaction effectuée par ce ferment que dans le cas bien rarement rencontré et toujours difficile à réaliser, où le ferment se trouve à sa limite d'action.

Nous résumons dans le tableau page 120 les résultats de quelques expériences. La fixation a toujours été opérée suivant la technique d'Ambard; pour la défixation elle a été faite à 37° pendant deux heures au moyen de 10 cm<sup>3</sup> d'empois de Solanum à 3 %, sauf pour les deux cas marqués d'une astérisque \* où l'empois de Riz a été utilisé (v. le tableau). Les chiffres inscrits sur le tableau représentent le nombre de cm<sup>3</sup> qu'il a fallu employer pour réduire exactement 10 cm<sup>3</sup> de la solution de Fehling diluée au 1/6. Plus le chiffre est élevé, moins on a de sucre dans le liquide, moins il y avait de ferment dans la solution. Ajoutons que nous avons toujours agité pendant 5 minutes le ferment avec l'amidon cru et réalisé, dans la mesure du possible, des conditions de concentration, de fraîcheur de préparation des enzymes, de durée des opérations, qui permettent de rendre comparables les différentes mesures. Le terme ∞ signifie dans le tableau que le liquide ne contenait pas trace de sucre, ce qui signifie implicitement qu'il n'y avait eu aucune fixation.

Nous avons pu, au moyen de l'amidon soluble de Riz (préparation classique à l'HCl), opérer la défixation de l'amylase d'orge retenue sur les amidons de Blé et de Pomme de terre (en milieu d'eau ordinaire pH = 7,6).

Le tableau montre que les différents amidons solubles (blé, pomme, riz, Arrow-root), dispersés à froid, se prêtent bien, en milieu phosphates (pH = 6,6), à la fixation, soit de l'amylase d'orge soit de l'amylase de haricot.

Pour distinguer l'influence exercée par les ions phosphates de celle exercée par la concentration des ions H, sur le phénomène de fixation, nous avons opéré trois fixations parallèles d'amylase d'orge (0,1 %) par l'amidon cru d'Arrow-root: 1° fixation faite dans un mélange de glycocolle — NaOH, de pH = 6,6 (le ferment est dispersé dans ce liquide et l'amidon cru est délayé dans ce liquide); 2° dans un mélange de phosphates de pH=6,6; 3° dans un mélange de citrate — NaOH, de pH=6,6. Un témoin est préparé dans le milieu d'eau ordinaire.

Les résultats fournis par la défixation au moyen d'empois d'amidon de pomme de terre sont :

Milieu Glycocolle		Milieu Phosphate		Milieu Citrate		Milieu Eau	
L.S.:	5,2 cc.	L.S.:	5,6	L.S.:	6,2	L.S.:	31,2
C.:	12 cc.	C.:	10,8	C.:	∞	C.:	∞
pH = 6,6						pH = 7,6	

On voit clairement par cette expérience l'influence capitale exercée par la réaction du milieu (comparer les chiffres des liquides surnageants (pH = 6,6) sensiblement les mêmes quel que soit le système tampon employé.

Cette expérience nous révèle encore la propriété très curieuse qu'ont les citrates de s'opposer totalement à la fixation du ferment sur le grain d'amidon; cette anomalie évoque le rôle bien connu des citrates et des oxalates dans le procès de la coagulation du lait par les chymases. Un problème nouveau s'ouvre dès lors, en plus de la question théorique d'une combinaison intermédiaire de la substance fermentescible et du ferment, combinaison pratiquement démontrée par Ambard dans l'amylolyse, c'est celle du rôle du calcium dans cette fixation de l'enzyme.

*Travail du Laboratoire de Microbiologie et de Fermentations de l'Institut de Botanique de l'Université, Genève.*

R. CHODAT (avec la collaboration de J.-W. ROSS et M. PHILIA.  
— *Sur la spécificité des amidons.*

Tandis que l'observation microscopique révèle chez les amidons de plantes diverses une multiplicité de formes par lesquelles il est le plus souvent aisé de reconnaître l'origine d'une fécule quelconque, les expériences des chimistes modernes semblent aboutir à considérer l'amidon comme constitué d'une substance hydrocarbonée fondamentale. Nous avons en vue les travaux de Pringsheim, Pictet, Karrer, Irving et leurs