

## 147. Recherches sur l'amidon 45.

### Sur le dosage des groupes terminaux de polysaccharides et d'oligosaccharides au moyen de periodate

par Kurt H. Meyer et Paul Rathgeb.

(19 III 49)

La détermination de l'acide formique obtenu lors de l'oxydation des polyols, selon *Malaprade*, a été appliquée par *Halsall*, *Hirst* et *Jones*<sup>1)</sup> au dosage des groupes terminaux des polysaccharides. Effectivement, ces auteurs obtiennent pour le glycogène des valeurs qui concordent très bien avec celles que l'on obtient par la méthode de méthylation et de scission. Au cours de nos travaux sur l'amidon, il nous fallait une méthode qui permît le dosage rapide et précis des groupes terminaux de polysaccharides peu ou pas ramifiés. La méthode de *Hirst* ne nous paraissant guère appropriée, nous en avons élaboré une autre version<sup>2)</sup>. Nous l'avons appliquée au dosage des groupes terminaux de l'amylopectine, en signalant en même temps que les auteurs anglais avaient dû renoncer au dosage des groupes terminaux de l'amylopectine, par suite de l'insuffisance de leur méthode. Or, dans un travail ultérieur<sup>3)</sup> dont nous n'avons eu connaissance qu'après parution de notre publication, *Halsall*, *Hirst* et *Jones* décrivent quand même ce dosage.

Récemment, *Potter* et *Hassid*<sup>4)</sup> trouvant la méthode de *Halsall*, *Hirst* et *Jones* peu pratique, en donnent une troisième modification.

Voici le détail de ces trois versions:

1. *Halsall*, *Hirst* et *Jones* effectuent l'oxydation avec du  $\text{IO}_4\text{K}$  (métaperiodate de potassium), en système hétérogène. Ce sel est peu soluble et se dissout au fur et à mesure de sa réduction. L'opération est très longue (jusqu'à deux semaines). Les auteurs travaillent à température ordinaire et titrent avec  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  0,1-n. au rouge de méthyle, dont le virage est situé vers le  $\text{p}_\text{H}$  5,5.

2. *K. H. Meyer* et *P. Rathgeb* emploient une solution de  $\text{IO}_4\text{Na}$  à laquelle une certaine quantité de soude est ajoutée. Après dilution et adjonction de glycol, le  $\text{p}_\text{H}$  doit être compris entre 7 et 7,5. L'oxydation se fait à température ordinaire et dure de 20 à 30 heures. Le titrage s'effectue au moyen de  $\text{NaOH}$  0,02-n. (indicateur rouge de phénol, virage vers le  $\text{p}_\text{H}$  8).

<sup>1)</sup> *T. G. Halsall*, *E. L. Hirst* et *J. K. N. Jones*, Soc. **1947**, 1399 et 1427.

<sup>2)</sup> *K. H. Meyer* et *P. Rathgeb*, *Helv.* **31**, 1540, 1545 (1948).

<sup>3)</sup> *T. G. Halsall*, *E. L. Hirst* et *J. K. N. Jones*, Soc. **1948**, 27.

<sup>4)</sup> *A. L. Potter* et *W. Z. Hassid*, *Am. Soc.* **70**, 3488 (1948).

3. *Potter et Hassid* font l'oxydation avec  $\text{IO}_4\text{Na}$  à  $0^\circ$  pendant 20 à 40 heures. Ils titrent avec  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  n. en présence de rouge de méthyle.

Ces trois modifications donnent des résultats semblables pour l'amylopectine ou le glycogène, mais très différents pour le lactose et le maltose. *Halsall, Hirst et Jones*, ainsi que *Hassid* constatent la formation d'environ 3 molécules d'acide formique par molécule de lactose ou de maltose, tandis que *Meyer et Rathgeb* n'en trouvent que 2 dont l'une serait due au groupe terminal réducteur et l'autre au groupe terminal non-réducteur. Cette différence nous a incités à reprendre le problème et à étudier tous les facteurs intervenant dans la réaction du periodate avec les oligosaccharides et polysaccharides.

### 1. Le changement de $p_H$ lors de la réaction du periodate.

La variation du  $p_H$  que nous avons signalée dans notre précédent travail ressort nettement de la comparaison des deux courbes ci-dessous (fig. 1). Les titrages ont été faits au moyen de l'électrode de verre. Les courbes montrent qu'à  $p_H$  4,9 seulement, la variation du  $p_H$  d'une solution 0,05-n. est nulle. Au-dessus de 4,9, la réaction devient plus alcaline et, au-dessous, plus acide lors de la réduction par le glycol. Comme nous allons le voir plus loin, il est préférable d'effectuer l'oxydation à un  $p_H$  supérieur à 5. Il faut donc tenir compte de l'alcalinisation produite par la réaction et faire un essai à blanc (periodate au  $p_H$  de départ + glycol, mais sans hydrate de carbone).

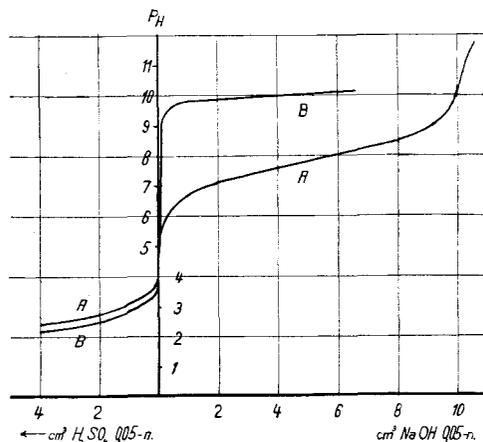


Fig. 1.

Courbe de titrage de  $\text{IO}_4\text{Na}$  0,05-n. par  $\text{NaOH}$  0,05-n. resp.  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0,05-n.

Prise:  $10 \text{ cm}^3 \text{ IO}_4\text{Na}$  0,05-n.

A = courbe de titrage de  $\text{IO}_4\text{Na}$  0,05-n. B = courbe de titrage de  $\text{IO}_3\text{Na}$  0,05-n.

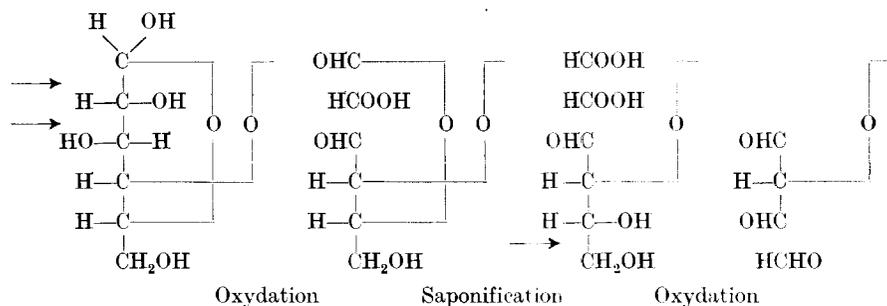
B s'obtient à partir de A par adjonction d'éthylène glycol.

2. *Le titrage de l'acide formique.*

Nous avons déterminé les courbes de titrage de l'acide formique par NaOH et Ba(OH)<sub>2</sub> 0,01-n. Les deux courbes sont identiques (fig. 2). L'usage de la baryte ne présente donc aucun avantage. La forte pente de la courbe entre les p<sub>H</sub> 5,8 et 8,5 indique que le point de virage doit être choisi entre ces deux valeurs. A un p<sub>H</sub> de 5,5, la pente de la courbe est moins raide, et, par conséquent, la précision moins grande. Pour éviter une saponification de l'ester formique, produit intermédiaire de l'oxydation, nous ne dépassons pas le p<sub>H</sub> 5,8 et titrons en présence de pourpre de bromocrésol (vert-violet au p<sub>H</sub> 5,8). C'est le premier virage qui compte, car peu de temps après le p<sub>H</sub> devient plus acide par suite de la saponification.

3. *Les conditions les plus favorables pour l'oxydation.*

Dans le travail précédent, nous avons émis l'hypothèse que les restes réducteurs réagissent en 3 étapes d'après les formules suivantes:



Cette hypothèse a été confirmée par l'étude de l'oxydation du lactose décrite ci-après. Il faut donc travailler à des conditions où la vitesse de saponification de l'ester formique est aussi petite que possible. Or, il est connu que l'hydrolyse de l'acétate de méthyle est 1400 fois plus rapide en présence d'ions OH qu'en présence de la même concentration en ions H<sup>+</sup>). La vitesse minimum n'est donc pas au point de neutralité, à p<sub>H</sub> 7, mais au p<sub>H</sub> où la concentration des ions H est 1400 fois plus grande que la concentration des ions OH, c'est-à-dire au p<sub>H</sub> 5,4. Nous avons constaté que la vitesse de saponification du formiate de méthyle présente également un minimum vers ce p<sub>H</sub>. Lorsque le formiate de méthyle est mis en présence d'eau pure, à 0°, il se saponifie assez rapidement, mais la vitesse diminue et devient très petite entre p<sub>H</sub> 5,7 et 4,2. Au-dessous de 4,2, elle augmente par suite de l'autocatalyse due à la libération de l'acide. Pour éviter la saponification des esters formiques intermédiaires, il faut donc maintenir le p<sub>H</sub> entre 5,7 et 4,2 au cours de l'oxydation et travailler à 0°.

<sup>1)</sup> J. J. A. Wijs, Z. phys. Chem. **12**, 514 (1893).

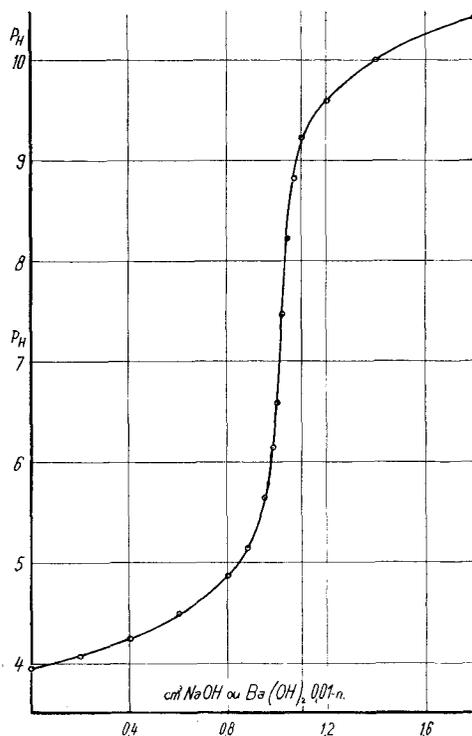


Fig. 2.

Courbe de titrage de l'acide formique, 1 cm<sup>3</sup> HCOOH 0,01-n. + 9 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O.

#### 4. La stabilité de l'acide formique.

A un p<sub>H</sub> compris entre 4,2 et 5,6, l'acide formique n'est pas oxydé par le periodate à 0°, même après une semaine. Au-dessous de p<sub>H</sub> 4, par contre, l'acide formique est lentement oxydé.

**Tableau I.**

*Stabilité de l'acide formique envers IO<sub>4</sub>Na à 0°*

Solutions: 50 cm<sup>3</sup> IO<sub>4</sub>Na 0,05-n.

2 cm<sup>3</sup> HCOOH 0,05-n.

Prise: 10 cm<sup>3</sup> titrés par NaOH 0,01-n.; indicateur: pourpre de bromocrésol.

Heures	Acide formique détruit, en %	
	à p <sub>H</sub> 4,7	à p <sub>H</sub> 3,8
0	0	0
100	0	22,6
200	0	84
250	0	86

#### *L'oxydation du lactose.*

La solution de métaperiodate de sodium utilisée pour l'oxydation avait été ramenée au p<sub>H</sub> = 5,8 (mesuré à l'électrode de verre) par de la soude 0,01-n. (150 cm<sup>3</sup> IO<sub>4</sub>Na 0,25-n.

nécessitant 4 cm<sup>3</sup> NaOH 0,01-n. Pour l'essai à blanc, on en prélève 10 cm<sup>3</sup> et ajoute de l'éthylène-glycol. Le p<sub>H</sub> diminue d'abord rapidement puis augmente jusqu'à 9—10. La destruction de l'excès de periodate n'est complète qu'après 5—20 minutes à 0°. On titre ensuite en retour par l'acide sulfurique 0,01-n. jusqu'au virage du pourpre de bromocrésol. La valeur à blanc doit être ajoutée aux valeurs obtenues lors du dosage de l'acide formique.

Nous avons oxydé le lactose à 0° par un grand excès de la solution décrite ci-dessus. Des prises de 10 cm<sup>3</sup> ont été titrées à 0° par la soude 0,01-n. jusqu'au premier virage du pourpre de bromocrésol (après avoir détruit l'excès de periodate par le glycol). C'est le premier virage qui compte, car peu de temps après le p<sub>H</sub> devient plus acide par suite de la saponification.

Après un repos de 30 minutes à 20°, nous avons titré de nouveau par la soude jusqu'au virage du bleu de bromothymol. On titre jusqu'à ce que la couleur persiste pendant 10 minutes. Dans ces conditions, les esters formiques sont saponifiés. Le tableau suivant montre qu'une mole d'acide formique est libérée par une réaction de saponification.

**Tableau II.**

T = 0°. Prise: 10 cm<sup>3</sup> contenant 0,00597 m moles de lactose.

Heures	NaOH 0,01-n. (blanc incl.) en cm <sup>3</sup>	Moles HCOOH par mole lactose	Saponification	
			NaOH 0,01-n. en cm <sup>3</sup>	Moles HCOOH par mole lactose
0	-0,13	0		
20	0,87	1,46	0,46	0,77
42	1,01	1,69	0,52	0,87
90	1,14	1,91	0,55	0,92
115	1,15	1,93	0,59	0,99
138	1,15	1,93	0,60	1,0
164	1,15	1,93	0,59	0,99
224	1,15	1,93	0,59	0,99

Lorsque l'oxydation se fait avec une solution de métaperiodate de sodium pur, la réaction continue à la suite de l'autocatalyse et aucun palier n'est atteint<sup>1)</sup>.

#### *L'oxydation du glucose.*

La molécule de glucose, dans les mêmes conditions, est totalement oxydée et donne rapidement 5 moles d'acide formique, sans que l'on puisse observer un palier après libération de deux moles d'acide. Ce comportement particulier provient, d'une part, de ce que le glucose semble surtout réagir sous la forme aldéhydique, et de l'autre, de ce que l'ester formique (25% environ lorsque deux moles d'acide formique ont été libérées) provenant de la forme non-aldéhydique est rapidement saponifié.

#### *L'oxydation de l'amyllose.*

Ces résultats montrent que cette méthode doit être employée dans tous les cas où le nombre des groupes réducteurs n'est pas négligeable par rapport aux groupes terminaux non-réducteurs (oligosaccharides ou polysaccharides non ramifiés, où le rapport est 1:1). Il faut cependant tenir compte de l'augmentation du p<sub>H</sub> produite par la réduction de l'acide periodique par les groupes glycoliques non terminaux. De cette manière, on obtient un palier correspondant aux

<sup>1)</sup> Voir courbe de la fig. 1, Helv. **31**, 1546 (1948), et les résultats de *Halsall, Hirst* et *Jones*. Soc. **1947**, 1427.

deux groupes terminaux à partir duquel on peut calculer le degré de polymérisation (60 pour l'amylose de la fig. 3).

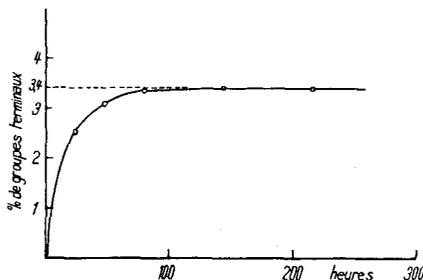


Fig. 3.

Oxydation de l'amylose  $A_1$  de pommes de terre par  $IO_4Na$  à  $0^\circ$ .  
 $p_H = 5,8$ .

#### *L'oxydation de l'amylopectine.*

Lorsque les groupes réducteurs sont plus nombreux par rapport aux groupes non réducteurs, l'effet produit par la saponification totale ou partielle des produits intermédiaires est moins grand et les résultats sont toujours satisfaisants. Pourtant, ici encore on n'obtient un palier net qu'en respectant les conditions indiquées (Fig. 4.)

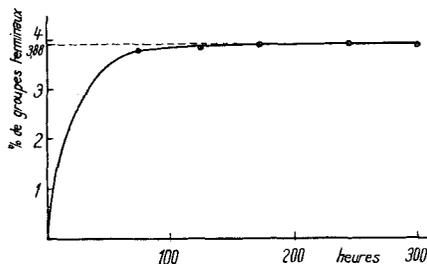


Fig. 4.

Oxydation de l'amylopectine de pommes de terre par  $IO_4Na$  à  $0^\circ$ .  
 $p_H = 5,8$ .

#### RÉSUMÉ.

Les différents facteurs influençant l'oxydation des oligosaccharides et polysaccharides par le periodate ont été étudiés. Il faut maintenir au cours de l'oxydation une température de  $0^\circ$  et un  $p_H$  compris entre 4,2 et 5,8, pour éviter soit la saponification des esters formiques provenant des groupes réducteurs, soit la scission hydrolytique de polysaccharides oxydés.

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