

Lois générales de l'action des diastases / par Victor Henri.

Contributors

Henri, Victor, 1872-1940.

Publication/Creation

Paris : Librairie Scientifique A. Hermann, 1903.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/nt4bv7e6>

License and attribution

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).



Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>

D. SCI.

*Presented to
University College.
London.*

*by
Mrs E. H. Starling.*



22500554815

Med
K11870



LOIS GÉNÉRALES

G. J. Starling,
Univ. Coll.

DE

L'ACTION DES DIASTASES

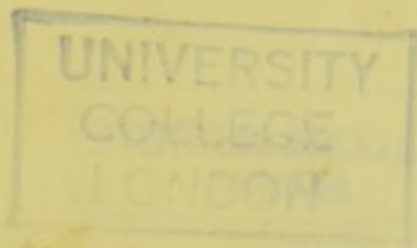
PAR

VICTOR HENRI

DOCTEUR EN PHILOSOPHIE (UNIVERSITÉ DE GÖTTINGUE)

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PRÉPARATEUR DE PHYSIOLOGIE A LA SORBONNE



PARIS

LIBRAIRIE SCIENTIFIQUE A. HERMANN

ÉDITEUR, LIBRAIRE DE S. M. LE ROI DE SUÈDE ET DE NORVÈGE

6 et 12, rue de la Sorbonne, 6 et 12

1903

11259 694

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	WelMOmec
Coll.	
No.	W

34182

A MON CHER MAÎTRE

MONSIEUR DASTRE

PROFESSEUR A LA SORBONNE

Hommage de reconnaissance et de dévouement.



Digitized by the Internet Archive
in 2016

<https://archive.org/details/b28114024>

PRÉFACE

Lorsqu'une théorie cherche à expliquer un ensemble de phénomènes en invoquant l'existence de forces ou de formes d'énergies absolument nouvelles, deux cas différents peuvent se présenter : ou bien ces facteurs nouveaux, dont l'existence est supposée, sont de nature telle que l'expérimentation peut en donner l'analyse et par conséquent peut permettre de pénétrer plus profondément dans le mécanisme des phénomènes étudiés, ou bien au contraire ces facteurs sont inabordables par l'expérience. Dans le premier cas la théorie conduira nécessairement à la découverte de faits nouveaux, elle suscitera toute une série de recherches expérimentales, par conséquent vraie ou fausse, elle contribuera au développement de la science. Dans le deuxième cas, au contraire, elle apportera des réponses d'un caractère purement spéculatif qui deviendront facilement dogmatiques, et pourront dans ce cas arrêter des recherches expérimentales.

Dans l'étude des phénomènes généraux de la vie des organismes deux groupes de théories ont été proposés : les unes considèrent que les manifestations vitales se ramènent aux actions physico-chimiques, les autres renoncent à cette réduction et admettent l'existence de

forces ou d'énergies nouvelles, *sui-generis*, « vitales » comme on dit. Puisque l'expérimentation se fonde sur les méthodes et les données de la chimie et de la physique, les théories vitalistes renoncent à la possibilité d'expérimentation sur cette force vitale; elles constituent une sorte de frein qui arrête la recherche expérimentale, c'est-à-dire scientifique, et transportent la discussion du domaine de l'expérimentation sur le terrain de la spéculation. L'action de ces théories est donc plutôt nuisible, puisque l'utilité de toute théorie se mesure par le nombre et l'importance des faits nouveaux qu'elle a conduit à découvrir.

Parmi les phénomènes qui se passent dans l'organisme vivant, les processus de nutrition, de résorption, de sécrétion et de défense des cellules de l'organisme, en somme tout le métabolisme de l'être vivant peut être considéré comme réductible presque complètement à des actions diastasiques; en effet, à mesure que le nombre de recherches expérimentales augmente, le nombre d'actions considérées auparavant comme liées intimement à la vitalité même de certaines cellules diminue; les recherches de Buchner, E. Fischer et d'autres nous en donnent des exemples aussi éclatants que suggestifs. Par conséquent l'étude des lois des actions diastasiques acquiert un intérêt de plus en plus considérable.

L'explication de ces actions diastasiques a soulevé un grand nombre de discussions et de théories que l'on peut

de nouveau répartir en deux groupes : les unes renoncent à classer les actions diastasiques parmi les actions de la chimie générale, elles en font un groupe spécial avec des lois particulières; les autres, au contraire, cherchent à ramener les actions diastasiques aux lois de la chimie générale, et de cette façon ces théories contribuent dans une certaine mesure aux théories qui expliquent les manifestations vitales par des actions physico-chimiques.

Le travail présent a pour sujet l'étude des lois générales des actions diastasiques. Le but poursuivi est d'étudier les actions des diastases en se servant des méthodes et des résultats de la chimie physique; ces méthodes sont rappelées brièvement dans l'introduction.

Trois diastases seulement ont été considérées dans ce travail: l'invertine, l'émulsine et l'amylase; ces diastases ont l'avantage de permettre une étude quantitative de leur action plus facilement que pour la plupart des autres diastases. Le travail présent ne contient qu'une première partie de l'étude expérimentale sur les actions diastasiques; c'est ainsi que l'influence de la température et de différentes conditions de milieu n'y est pas comprise. Malgré cela, il nous a semblé possible de présenter une théorie générale des actions diastasiques, qui ramenait complètement ces actions aux lois de la chimie générale.

Les expériences ont été faites au laboratoire de phy-

siologie expérimentale de la Sorbonne ; c'est grâce aux encouragements et aux conseils incessants de la part de mon cher Maître M. Dastre, que j'ai pu me mettre au courant des méthodes de la chimie physique, et mener à bout des expériences dont quelques-unes étaient délicates à faire. Je suis heureux de lui exprimer ma très vive reconnaissance.

J'ai fait un certain nombre d'expériences sur les diastases au laboratoire de chimie physique du professeur Ostwald à Leipzig ; je profite de cette occasion pour exprimer mes remerciements à Monsieur Ostwald pour la bienveillante hospitalité et les précieux conseils que j'ai trouvés dans son laboratoire.

Paris, le 2 Janvier 1903

TABLE DES MATIÈRE

PRÉFACE

INTRODUCTION

ÉTAT DE NOS CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES ACTIONS CATALYTIQUES

	Pages
1. Définitions des actions catalytiques d'après Berzelius	4
2. Difficulté de donner une définition simple des actions catalytiques	3
3. Disproportion entre la quantité de catalyseur et la masse des corps transformés	4
4. Lorsque la réaction qui se produit en présence d'un catalyseur aboutit à un équilibre, la présence du catalyseur ne change pas la position de cet équilibre	7
5. Action des catalyseurs sur la loi de la vitesse d'une réaction. Classification des actions catalytiques.	11
6. Résumé de l'étude des actions catalytiques	23
7. Points principaux dans l'étude des vitesses des réactions chimiques	25

CHAPITRE I

HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LES LOIS D'ACTION DES DIASTASES

8. Recherches de O' Sullivan et Tompson	30
9. Recherches de Tammann.	33
10. Recherches de Duclaux	37
11. Recherches de A. Brown	42
12. Recherches de H. Brown et Glendinning	45
13. Expériences de Herzog	47
14. Résumé de l'historique	48

CHAPITRE II

EXPÉRIENCES SUR L'INVERTINE

	Pages
15. Méthode	50
16. Etude de la vitesse d'inversion.	53
17. Formule empirique représentant la marche d'une inversion.	57
18. Preuves que le [ferment] reste comparable à lui-même pendant toute la durée d'une inversion	59
19. Action des produits de la réaction sur la vitesse d'inversion.	69
20. L'action ralentissante du sucre interverti est due presque uniquement au levulose	73
21. Action de la concentration du saccharose sur la vitesse d'inversion	74
22. Action de la quantité de diastase sur la vitesse d'inversion.	76
23. Première interprétation théorique des résultats sur l'action de l'invertine. Formule de M. Bodenstein	77
24. La formule de Bodenstein ne s'applique pas aux solutions diluées	83

CHAPITRE III

THÉORIE DE L'ACTION DE L'INVERTINE

25. Théorie de l'action de l'invertine	85
26. Vérification expérimentale de la théorie précédente	93
27. Action des acides et des bases sur l'invertine	98

CHAPITRE IV

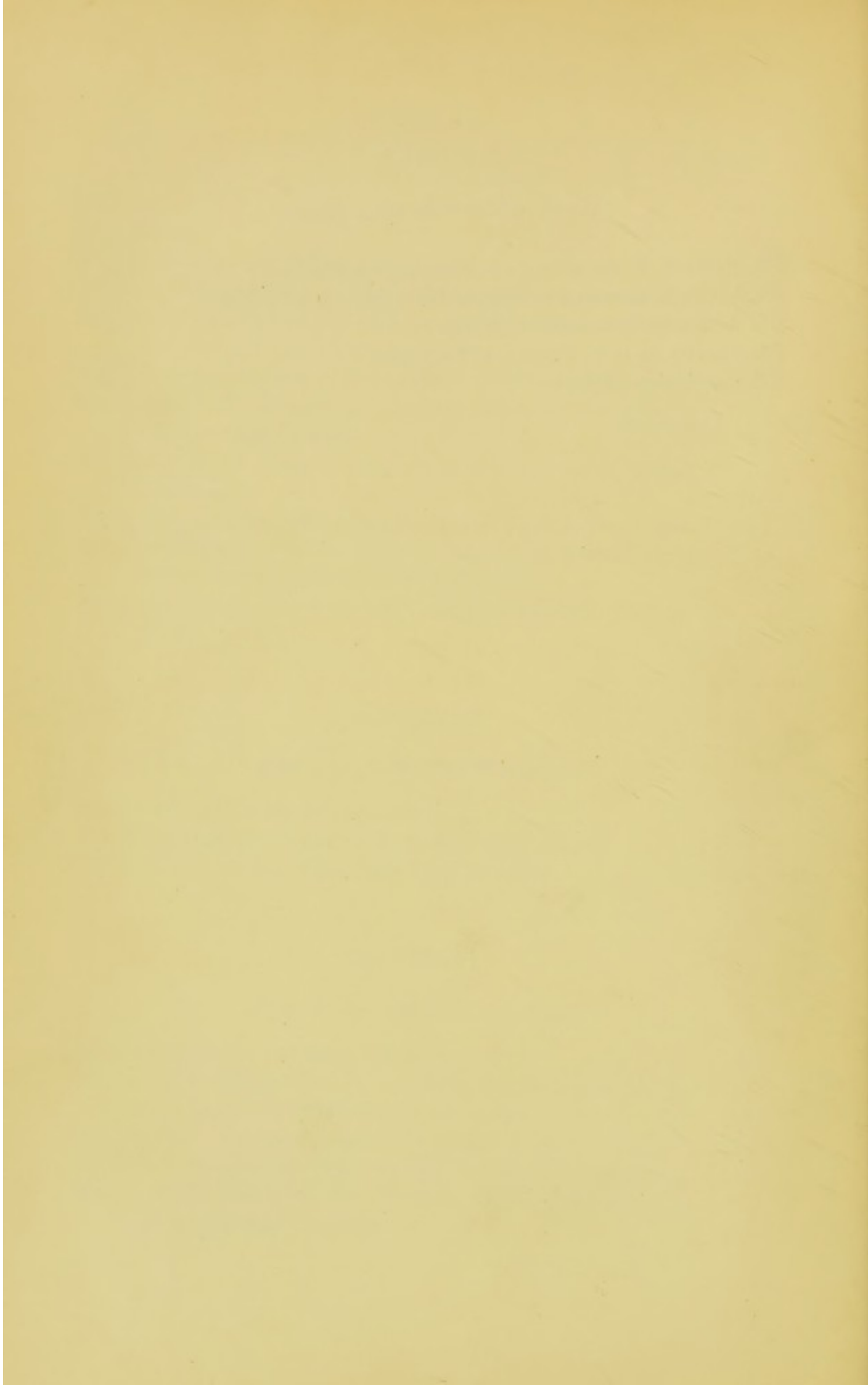
ACTION DE L'ÉMULSINE SUR LA SALICINE

28. Recherches de Tammann. Méthode	101
29. La vitesse d'hydrolyse de la salicine est plus lente que ne l'indique la loi logarithmique des acides	102
30. Action de la concentration de la salicine	104
31. Action des produits de la réaction. Constance du ferment	104
32. Discussion théorique des résultats. La loi d'action est la même que pour l'invertine	107

CHAPITRE V

ACTION DE L'AMYLASE SUR L'AMIDON

	Pages
33. Méthode. Recherches de H. Brown et Glendinning	413
34. Loi de la marche d'hydrolyse de l'amidon par l'amylase	414
35. Action de la quantité d'amidon	419
36. Théorie de la loi d'action de l'amylase	421
37. Conclusion générale	423
CONCLUSIONS.	426



INTRODUCTION

ÉTAT DE NOS CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES ACTIONS CATALYTIQUES

1. Définition des actions catalytiques d'après Berzélius. — *Berzélius* en introduisant en 1836 le nom d'*actions catalytiques* réunissait une série d'actions chimiques très variées parmi lesquelles nous trouvons : la transformation observée par *Kirchhoff*, en 1811, de l'amidon en sucre par l'acide sulfurique et la saccharification de l'amidon par l'extrait de malt, décrite également par *Kirchhoff*, en 1814 ; les expériences de *Thenard* sur la décomposition de l'eau oxygénée par le platine, par différentes poudres et par la fibrine ; les observations de *Davy* sur l'action du platine sur le mélange d'oxygène et d'hydrogène ; enfin les expériences de *Mitscherlich* relatives à l'action de l'acide sulfurique sur l'alcool qui est transformé en éther, etc.

Toutes ces réactions, parmi lesquelles nous rencontrons déjà dès le début les réactions diastasiques, ont un certain nombre de caractères communs que *Berzélius* a pensé utile de mettre en lumière et de représenter sous un terme générique de « réactions catalytiques ».

La force catalytique, dit Berzélius, consiste en ce fait que certains corps peuvent par leur présence seule, et non pas en vertu de leur affinité, éveiller les affinités « sommeillantes » d'autres corps et produire ainsi une réaction entre ces corps. L'action des catalyseurs est donc analogue à celle de la chaleur, et Berzélius déclare très nettement que ces corps ne prennent pas une part directe à la réaction. D'après cette définition l'expérience si importante de Clément et Désormes (*Annales de Chimie*, 59, 329, 1806) sur l'action favorisante du salpêtre dans l'oxydation de l'acide sulfureux par l'oxygène de l'air ne devait pas faire partie du groupe des actions catalytiques ; en effet, ces auteurs expliquaient cette action favorisante par la formation d'oxydes d'azote intermédiaires qui transportaient l'oxygène de l'air sur l'acide sulfureux.

Nous voyons donc que dès le début des recherches sur les actions exercées par des corps qui accélèrent une réaction chimique et qui, à la fin, se retrouvent en entier dans le mélange, apparaissent deux types différents : celui où il y a formation de combinaisons chimiques intermédiaires et celui où il n'y a pas de combinaisons intermédiaires ; c'est sur ce dernier groupe que Berzélius attire l'attention et il y fait entrer les actions diastasiques.

Nous ne nous arrêterons pas sur le développement historique de la question des actions catalytiques, signalons seulement que la dualité précédente s'est poursuivie jusqu'à nos jours ; un nombre immense de travaux ont été faits pour défendre l'une ou l'autre des deux hypothèses précédentes et pour étendre cette hypothèse à un plus grand nombre de cas.

2. Difficulté de donner une définition simple des actions catalytiques. — Nous commencerons par résumer d'abord l'état actuel de nos connaissances des lois des actions catalytiques, puisque, ainsi que nous le montrerons dans la suite, les actions diastasiques doivent entrer comme cas particulier dans ce groupe de réactions.

La définition des actions catalytiques paraissait simple au début ; on disait qu'un corps qui accélère une réaction sans apparaître dans les produits de cette réaction et qui, en plus, se retrouve en entier à la fin, exerce une action catalytique. Mais en étudiant de plus près certaines réactions qui semblaient faire partie de ce groupe, on a vu qu'il y avait des complications qui obligeaient de faire des réserves ou de modifier la définition précédente. En effet, dans quelques cas le corps ne se retrouvait pas à la fin en entier, ou bien il ne se retrouvait pas sous sa forme primitive, de sorte que son action catalysante était modifiée, ce que l'on a exprimé en disant qu'il y avait « autocatalyse » positive ou négative. Enfin on signalait des cas où le corps se retrouvait bien en entier à la fin, mais si on analysait le mélange au milieu de la réaction, on le trouvait combiné à d'autres corps. On se demandait donc si toutes ces exceptions devaient être éliminées du groupe des actions catalytiques ou bien si c'est la définition précédente qui devait être modifiée.

Les idées actuelles telles qu'elles résultent des recherches nombreuses qui ont été faites sous la direction d'Ostwald, au laboratoire de chimie physique de Leipzig, semblent conduire à une modification de la définition

du terme catalyse. Commençons donc par préciser les caractères les plus importants des réactions appelées catalytiques.

3. Disproportion entre la quantité de catalyseur et la masse des corps transformés. — Le premier caractère essentiel qui est commun à toutes les actions catalytiques est ce fait observé déjà en 1806, par Clément et Désorme, qu'une quantité donnée de catalyseur peut suffire pour provoquer la transformation de masses très considérables des corps entre lesquels la réaction se produit. Il n'existe pas de proportion déterminée entre la quantité du catalyseur et la quantité des corps transformés. Ce résultat est bien contenu dans l'énoncé cité plus haut, d'après lequel le catalyseur se retrouve à la fin de la réaction sous sa forme primitive, il peut donc resservir pour une nouvelle réaction. Donnons d'abord quelques exemples.

Le saccharose est transformé en solution aqueuse, en glucose et levulose, en présence d'un acide quelconque, et on sait qu'en dosant l'acidité par une méthode chimique ou physique, on la trouve constante pendant la durée de la réaction, de sorte qu'à la fin, lorsque tout le saccharose est interverti, on retrouve l'acide en entier. Si on rajoute du saccharose, il sera interverti à son tour en présence de cet acide. On voit bien qu'il n'y a ici aucune relation entre la quantité d'acide et la quantité de saccharose qui peut être interverti en présence de cet acide.

En faisant agir une solution de platine colloïdal, pré-

paré par le procédé de Bredig, sur un mélange d'hydrogène et d'oxygène, Ernst (1) a montré dans une de ses expériences qu'une solution contenant $\frac{1}{25}$ de milligramme de platine avait produit en quatorze jours la combinaison de 10 litres du mélange et que, à la fin, la solution de platine colloïdal était tout aussi active qu'au début.

Mais toutes les réactions catalytiques ne donnent pas lieu à des actions illimitées comme les précédentes ; dans certains cas le catalysateur ne se retrouve pas à la fin de la réaction sous le même état sous lequel il se trouvait au début. Ainsi, par exemple, si on prend une lame de platine bien propre, que l'on calcine et que l'on place après refroidissement dans un mélange d'hydrogène et d'oxygène, on verra se produire la combinaison avec une certaine vitesse. Si ensuite, après avoir laissé cette lame dans les gaz précédents pendant plusieurs heures, on la retire et qu'on la place de nouveau dans un mélange d'oxygène et d'hydrogène, on verra que la combinaison se produit bien plus lentement qu'en présence d'une lame fraîchement calcinée ; donc le catalysateur, qui est ici le platine, ne se retrouve pas à la fin de la réaction sous son état primitif.

Le nombre d'exemples de ce genre est très grand et c'est précisément dans cette classe que nous devons faire rentrer les actions diastasiques. Lorsque l'invertine produit l'inversion du saccharose, on ne retrouve pas à la fin de la réaction la diastase tout aussi active qu'au début ; son activité est sous la dépendance, non pas de la durée

(1) *Zeitsch. f. physik. Chem.*, 37, 1901, p. 454.

de la réaction, mais de la quantité des produits de la réaction qui se sont accumulés, ainsi que nous en donnerons la preuve dans la suite.

Cette modification du catalysateur pendant la réaction peut être produite de plusieurs manières, et la discussion des raisons de ce changement n'est pas toujours facile. Il peut arriver que le catalysateur forme avec l'un des corps de la réaction une combinaison stable qui ne peut plus agir sur la marche de la réaction ; c'est ce qui semble se produire dans le cas de la lame de platine placée dans le mélange d'hydrogène et d'oxygène. Il peut, au contraire, arriver que parmi les corps qui apparaissent dans la réaction l'un quelconque joue le rôle de catalysateur, de sorte qu'il accélère ou ralentit à son tour la réaction, c'est ce qu'on appelle une « autocatalyse ». Les exemples en sont nombreux, en voici deux typiques : Ostwald ⁽¹⁾ a étudié l'action de l'acide iodhydrique sur l'acide bromique, cette réaction est fortement accélérée par la présence d'un acide quelconque qui joue le rôle de catalysateur. La réaction $\text{HBrO}_3 + 6\text{HI} = \text{HBr} + 3\text{H}_2\text{O} + 3\text{I}_2$ va en se ralentissant fortement vers la fin ; ce ralentissement, qui semblerait montrer que le catalysateur devient moins actif, est dû à l'apparition de l'iode qui joue le rôle de catalysateur négatif, il ralentit la réaction, ainsi que Ostwald et ensuite Meyerhoffer ⁽²⁾ s'en sont assurés, en ajoutant dès le début une certaine quantité d'iode.

Hentschel ⁽³⁾, en étudiant la décomposition de la diacé-

⁽¹⁾ Ostwald, *Zeit. f. phys. Chem.*, II, p. 127-147.

⁽²⁾ Meyerhoffer, *Zeit. f. physik. Chem.*, II.

⁽³⁾ Hentschel, *Ueber Diacetamid Berl. Ber.*, 23, 1890, p. 2394.

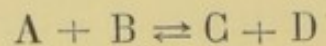
tamide par l'eau, trouva que la vitesse de décomposition se produisait plus rapidement que d'après la loi logarithmique, la courbe représentative de la vitesse de la réaction est une ligne droite; cette accélération est due à la formation de l'acide acétique qui est un catalysateur et, comme il s'en forme une quantité de plus en plus grande, il s'en suit que l'accélération produite par cette cause secondaire devient de plus en plus forte.

Enfin il peut arriver que le corps qui joue le rôle de catalysateur donne avec l'un des corps de la réaction une combinaison et que cette combinaison constitue un nouveau catalysateur plus intense que le corps primitif, dans ce cas également l'activité du catalysateur sera changée pendant la réaction.

Il est évident que dans certains de ces cas les actions secondaires pourront influencer le catalysateur primitif, de telle sorte que la réaction se trouvera arrêtée au bout d'un certain temps; dans ces cas l'on ne peut plus dire que l'action catalysatrice est illimitée; elle pourra dépendre directement de la quantité du catalysateur et de la quantité des corps à transformer; il semble donc que dans des cas de ce genre, et certaines diastases y rentrent probablement, la proposition énoncée au début de ce paragraphe fait défaut.

4. Lorsque la réaction qui se produit en présence du catalysateur aboutit à un équilibre, la présence du catalysateur ne change pas la position de cet équilibre. — Ce résultat est théoriquement exact seulement dans les cas où à la fin de la réaction on retrouve

le catalysateur sous la même forme qu'au début ; dans ce cas, évidemment, l'équilibre ne peut pas être modifié par la présence du catalysateur, sans quoi on pourrait obtenir un mouvement perpétuel de seconde espèce ; le catalysateur n'intervient donc que comme une *amorce*, comme un accélérateur qui doit agir de la même manière sur les deux vitesses contraires, dont l'égalité caractérise l'état d'équilibre. Ainsi si les corps A + B se combinent en donnant les corps C + D et que la réaction ne soit pas complète, ce que l'on représente par le symbole



au moment de l'équilibre, d'après l'hypothèse de Guldberg et Waage il y a égalité de la vitesse de combinaison des corps A et B et de la vitesse de la réaction inverse, c'est-à-dire de la combinaison des corps C et D. Si un agent catalysateur quelconque augmente la première vitesse, il devra augmenter également la vitesse de la deuxième réaction.

Ce résultat élémentaire est d'une grande importance pour l'étude des diastases. En effet, certaines diastases donnent lieu à des réactions incomplètes, la réaction s'arrête à un certain stade qui peut être un équilibre, et alors les considérations précédentes exigent que si on augmente la quantité des produits de la réaction, en présence de la diastase, on verra la réaction se produire en sens inverse. On pourrait donc énoncer cette règle générale que si, en présence d'une diastase, une réaction n'est pas complète et si elle aboutit à un équilibre, en présence de cette même diastase, on verra se produire la réaction

inverse lorsqu'on la mettra avec les produits de la réaction. C'est ainsi que Hill, Emmeling et E. Fischer ont montré que la maltase agissait sur le maltose et également sur le glucose concentré, que la lactase hydrolysait le lactose et produisait la combinaison du glucose avec le galactose; que l'émulsine hydrolysait l'amygdaline et pouvait en produire la synthèse.

Il est certain que le nombre de ces synthèses peut être augmenté considérablement; il est facile d'établir *a priori* que les synthèses de ce genre doivent se produire d'autant mieux que la concentration de la solution est plus forte.

Citons quelques exemples qui montrent que la présence d'un catalyseur ne modifie pas l'état d'équilibre. L'acide iodhydrique se décompose partiellement vers 350°, l'équilibre s'établit à cette température très lentement, il faut environ 300 heures, d'après Lemoine. Or, en présence de la mousse de platine la décomposition de l'acide iodhydrique à 350° se produit très vite et de même la combinaison de l'iode avec l'hydrogène est très fortement accélérée par la mousse de platine. Les expériences de Hautefeuille et de Lemoine montrent que l'équilibre est le même lorsque la dissociation de HI se produit en présence de la mousse de platine ou sans catalyseur. « Ainsi à 350°, en opérant en présence de la mousse de platine, M. Hautefeuille a donné pour cette limite 0,19; en opérant avec l'influence de la chaleur seule, à une pression de deux atmosphères, j'ai (Lemoine) trouvé 0,186 (¹). »

En étudiant la polymérisation du paraldéhyde en aldé-

(¹) Lemoine, *Etudes sur les équil. chimiques*, 1881, p. 82.

hyde se produisant à la température de 50°,5 en présence de différents catalyseurs, Turbaba (1) trouve que l'état d'équilibre est le même, quel que soit le catalyseur employé et quelle que soit sa quantité; comme catalyseur il se servait de SO^2 , ZnSO^4 , $(\text{COOH})^2$ et H^3PO^4 .

De même Kœlichen (2), en étudiant la polymérisation de l'acétone $2\text{CH}^3\text{COCH}^3 \rightleftharpoons \text{CH}^3\text{COCH}^2\text{C}(\text{CH}^3)^2\text{OH}$ en présence de différents catalyseurs, trouve le même état d'équilibre pour les différents catalyseurs : soude, triéthylamine, pipéridine, hydroxyde de tétraéthylammoniaque et l'ammoniaque. L'état d'équilibre est aussi le même quelle que soit la concentration du catalyseur, à condition pourtant qu'elle ne soit pas trop forte.

Enfin on sait que l'équilibre entre l'acide acétique, l'alcool, l'éther et l'eau s'établit bien plus vite en présence d'un acide quelconque qui agit comme catalyseur sans modifier la position de l'équilibre, à condition toutefois que cet acide ne soit pas en proportion trop forte.

Ces résultats montrent donc bien que le rôle du catalyseur n'est point de nature énergétique, qu'il est réduit à une simple amorce ou à un accélérateur. On n'a donc pas le droit d'assimiler l'action d'un catalyseur à une élévation de température, comme l'avaient fait Berzélius et d'autres auteurs (par exemple Lemoine), puisque nous savons bien que la température influe d'une manière bien déterminée (en rapport avec la chaleur de la réaction) sur l'état d'équilibre. De même, on n'a pas le droit d'assimiler l'action d'un catalyseur à l'effet d'une augmentation de

(1) Turbaba, *Zeit. phys. Chem.*, 38, 1901, 505.

(2) Kœlichen, *Zeit. phys. Chem.*, 33, 1900, 129.

pression ou d'une condensation, comme l'ont fait certains auteurs dans l'explication du rôle des corps poreux ; puisque de nouveau la pression peut déplacer l'équilibre, ce qui n'est guère possible pour un catalysateur que l'on retrouve à la fin de la réaction sous sa forme primitive ; ceci n'exclue pas les phénomènes de condensation à la surface des corps poreux.

Les considérations précédentes conduisent également à cette remarque qu'un catalysateur peut tout aussi bien accélérer une réaction exothermique qu'une réaction endothermique ; cette possibilité d'accélération catalytique de réactions endothermiques a été niée par plusieurs auteurs, en particulier pour les diastases par Duclaux (*Microbiologie*, t. II, p. 16) et par Oppenheimer ; ce dernier auteur insiste longuement sur cette idée que les réactions diastasiques ne peuvent être que des réactions exothermiques ; les recherches de Van't Hoff, Gibbs et Le Chatelier ont établi définitivement qu'une pareille idée est en contradiction avec les principes de la thermodynamique, il est donc inutile de s'y arrêter.

5. Action des catalysateurs sur la loi de vitesse d'une réaction. Classification des actions catalytiques. — Si, au lieu d'étudier l'action des catalysateurs sur la position d'équilibre d'un ensemble de corps, on porte l'attention sur la vitesse des réactions catalytiques, on arrive à un certain nombre de résultats importants.

1° *Catalyse par simple présence.* — Lorsque le catalysateur se retrouve à chaque instant sous sa forme primitive, on peut affirmer que l'ordre de la réaction chimique n'est

pas changé par la présence du catalysateur. Ainsi, par exemple, si on fait intervertir du saccharose par un acide quelconque en solution aqueuse, l'acidité de la solution reste invariable pendant la durée de la réaction et cette dernière reste toujours du premier ordre, quel que soit l'acide ajouté et quelle qu'en soit la quantité ; en effet, la réaction $C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = C^6H^{12}O^6 + C^6H^{12}O^6$ est bien du premier ordre en solution aqueuse, puisque la concentration de l'eau peut être considérée comme constante. Si on désigne par a la quantité de saccharose mise au début, par x la quantité intervertie au bout de t minutes, par dx la quantité de saccharose intervertie pendant l'intervalle de temps dt , on a d'après la loi des masses :

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x)$$

d'où l'on déduit par intégration et après avoir satisfait à la condition que pour $t = 0$, x est égal à 0, la valeur de la constante d'inversion

$$(1) \quad K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x}.$$

Cette expression reste bien constante pendant toute la durée de l'inversion, quelle que soit la concentration en sucre. Si on augmente la quantité d'acide la valeur de la constante d'inversion augmente, mais la loi suivant laquelle se produit l'inversion reste la même.

C'est à ce groupe d'actions catalytiques qu'appartiennent les actions produites par les solutions colloïdales des métaux sur l'eau oxygénée et sur le mélange d'oxygène et d'hydrogène. Les recherches remarquables faites par

Bredig et ses élèves avec ces métaux colloïdaux (platine, palladium, or, argent, cadmium, etc.), ont montré que les lois des réactions n'étaient pas modifiées par ces catalyseurs. Il y a à ce point de vue une différence essentielle entre les actions de ces solutions colloïdales et les actions diastasiques auxquelles on a voulu les assimiler; en effet, nous verrons dans la suite que les actions diastasiques modifient profondément les lois des vitesses des réactions.

Ce cas de catalyse « pure » est le plus simple qui puisse se rencontrer ; très souvent on a des complications diverses qui peuvent modifier complètement la loi suivant laquelle se produira la réaction. Puisque, dans les réactions diastasiques, ces complications se produisent toujours, nous devons insister avec détails sur les différentes sortes de complications qui peuvent se produire dans les actions catalytiques.

2° *Autocatalyse*. — Un ou plusieurs des corps qui apparaissent dans la réaction ont une action catalytique accélératrice ou ralentissante sur la marche de la réaction ; nous avons donné dans le § 3 deux exemples de ces autocatalyses. Cette action catalytique secondaire, due aux produits de la réaction, peut à son tour se produire de deux manières différentes : ou bien les produits de la réaction agissent sur la réaction même, ou bien, au contraire, ils agissent sur le catalyseur et modifient ainsi son activité.

L'étude analytique de ces réactions se fait de la manière suivante : supposons que nous ayons une réaction du premier ordre dont la vitesse au moment t est représentée par $\frac{dx}{dt} = K(a - x)$. Si les produits de la réaction dont la

quantité est égale à x exercent une action catalytique sur la réaction, cette action secondaire sera proportionnelle à une puissance n de ces corps et à la concentration du corps à transformer, donc la vitesse sera augmentée d'un terme $K_1 x^n (a - x)$, on aura donc comme vitesse totale l'expression

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x) + K_1 x^n (a - x).$$

Si nous supposons que n est égal à 1, comme cela arrive dans la majorité des cas, l'expression précédente devient

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x) + K_1 x(a - x),$$

ou encore

$$\frac{dx}{dt} = (K + K_1 x) (a - x).$$

En intégrant et en déterminant la constante d'intégration de façon que x soit égal à 0 pour $t = 0$ on obtient :

$$K + aK_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a(K + K_1 x)}{K(a - x)};$$

On peut simplifier cette expression en posant $\frac{aK_1}{K} = \varepsilon$, on a alors

$$(II) \quad K(1 + \varepsilon) = \frac{1}{t} \ln \frac{a + \varepsilon x}{a - x}.$$

Cette expression contient deux constantes K et ε et une fois ces constantes déterminées, la réaction devra se produire suivant la loi indiquée par la formule (II), quelle que soit la concentration a .

En étudiant l'action de l'invertine sur le saccharose, j'avais trouvé, en septembre 1901, que la réaction se pro-

duisait d'après une loi qui correspondait bien à la formule II lorsque l'on suivait la vitesse d'inversion depuis le début jusqu'à la fin pour une valeur déterminée de la concentration a ; dans ce cas, la constante ϵ était égale à 1. On aurait donc pu croire qu'il s'agissait d'autocatalyse, mais une telle supposition devait être écartée, puisque la constante K variait avec la valeur de la concentration en saccharose a .

On trouvera des exemples très complets et variés des autocatalyses dans le travail de Paul Henry ⁽¹⁾ sur l'action des lactones, et dans le travail de Meyerhoffer ⁽²⁾ sur l'action de l'acide iodhydrique sur l'acide bromique.

3° *Formation de combinaisons intermédiaires se produisant très rapidement.* — Supposons encore que nous ayons une réaction du premier ordre, comme, par exemple, dans l'inversion du saccharose. Un corps A se décompose en présence d'un catalysateur C ; supposons que ce catalysateur C forme avec une partie de A une combinaison intermédiaire M qui se forme très rapidement, de sorte que cette formation puisse être considérée comme instantanée. Nous devons distinguer deux cas suivant que la réaction entre le catalysateur et le corps A est une réaction complète ou que c'est un équilibre dans lequel seulement une partie de C et de A sont combinées.

α) Si la réaction est complète et si la quantité de catalysateur est faible par rapport à celle du corps A, la quantité du corps intermédiaire M est proportionnelle à la quantité du catalysateur C mise au début dans le milieu ; ce corps inter-

⁽¹⁾ Henry, *Zeit. phys. Chem.*, 1892, 10, p. 96.

⁽²⁾ Meyerhoffer, *Zeit. physik. Chem.*, II.

médiaire va se décomposer en donnant les produits de la réaction et en régénérant de nouveau le catalyseur C, lequel va donc immédiatement se combiner avec une nouvelle partie de A. La vitesse de transformation sera donc proportionnelle à la quantité M, et comme celle-ci est proportionnelle à la quantité de catalyseur C, laquelle est constante, on en déduit que la vitesse sera une constante :

$$\frac{dx}{dt} = K, \text{ c'est-à-dire } x = Kt,$$

la courbe qui représente une pareille réaction est une ligne droite ; la valeur de cette constante K est indépendante de la quantité de corps A qui se trouve au début. Ce n'est que lorsque la quantité de ce corps A sera inférieure à celle du catalyseur que la vitesse changera et suivra une courbe logarithmique (1).

C'est une action de ce genre qui devrait se produire pour les diastases d'après la théorie de Brown, ainsi que nous le verrons dans la suite.

β) Si la réaction entre C et A n'est pas complète et qu'il s'établisse un équilibre entre la quantité du composé M et les quantités des corps C et A, la discussion devient un peu plus compliquée. Soit $a - x$ la quantité du corps A au moment t , c la quantité de catalyseur C qui a été mise au début de la réaction, m la quantité du composé M au moment t ; la quantité du catalyseur non combiné à ce moment sera donc égale à $c - m$; d'après la loi des

(1) Ce raisonnement peut être appliqué à tous les cas d'autoxydation expliqués par la formation d'oxydes supérieurs instables, qui ont été étudiés par Berthelot.

masses appliquées à l'état d'équilibre entre les corps A, C et M et que nous supposons pour plus de simplicité de la forme $A + C \rightleftharpoons M$, on aura :

$$(a - x)(c - m) = K.m,$$

on en déduit pour m la valeur

$$m = \frac{c(a - x)}{K + a - x}.$$

Ce composé intermédiaire M se décompose et la vitesse de dédoublement est, d'après la loi des masses, proportionnelle à la valeur de m , donc on aura pour l'expression de la vitesse de réaction :

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_1.c(a - x)}{K + a - x},$$

en intégrant on obtient

$$(III) \quad K_1ct = K \ln \frac{a}{a - x} + x.$$

Cette loi dépend de deux constantes K et K_1 ; la partie droite de l'expression III se compose de deux facteurs dont l'un $K \ln \frac{a}{a - x}$ dépend seulement du rapport $\frac{x}{a}$, c'est-à-dire de la *proportion* du corps A transformée à chaque instant, tandis que l'autre x est la valeur *absolue* de la quantité de corps transformé. De plus, nous voyons que les constantes K et K_1 qui correspondent à l'état d'équilibre et à la vitesse de décomposition de M entrent dans des termes isolés de l'expression (III), par conséquent, si l'on faisait varier la température, comme il est probable que cette variation de température influe d'une manière différente sur chacune de ces deux constantes, on pourra

par ce moyen pousser l'analyse du mécanisme intime encore plus loin et déterminer isolément les valeurs de K et de K_1 . Il n'existe pas d'exemple qui soit élaboré d'après ce type, mais il est certain que l'on pourrait en trouver plusieurs. Ainsi il semble *a priori* que l'action du fer comme transporteur d'oxygène dans la formation de l'acide sulfurique devrait être discutée par cette formule, v_1 que le sel ferreux ne s'oxyde pas complètement, il s'établit un équilibre entre le sel ferreux, le sel ferrique et l'oxygène. De même pour les phénomènes d'oxydations divers étudiés par différents auteurs.

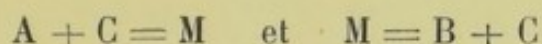
Nous verrons dans la suite que pour les diastases c'est un raisonnement analogue qui permettra d'arriver à la loi générale de leur action.

4° *Combinaison intermédiaire se produisant lentement.* — Dans les réactions catalytiques qui appartiennent à ce groupe le catalysateur forme, avec un ou plusieurs des corps à transformer, une combinaison intermédiaire, et la vitesse de formation de cette combinaison intermédiaire est faible ; puis, ce corps intermédiaire se décompose également avec une vitesse faible et donne lieu aux produits de la réaction ainsi qu'au catalysateur primitif. Lorsque l'on discute la marche d'une telle réaction, on est obligé de tenir compte des vitesses de deux réactions successives et la loi à laquelle on arrive est plus ou moins complexe, suivant l'ordre de chacune des réactions considérées.

Supposons d'abord qu'il s'agisse de réactions monomoléculaires. Le corps A donne avec le corps C un composé M ; ce composé M donne à son tour le corps B et le

cataysateur C. Soit a la quantité du corps A mise au début, c la quantité de catalysateur ajoutée au commencement de la réaction. Après un temps égal à t minutes on trouve dans le milieu $a - x - y$ du corps A, $c - y$ du catalysateur, y du corps M et x du corps B.

Les deux réactions



se produiront au moment t avec les vitesses suivantes :
pour la première

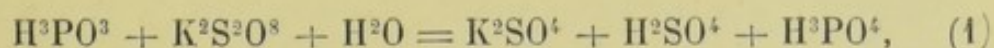
$$\frac{dy}{dt} = K.(a - x - y)(c - y). \quad (1)$$

pour la seconde

$$\frac{dx}{dt} = K_1 y. \quad (2)$$

Ces deux équations différentielles permettent d'obtenir une relation entre x , t et les deux constantes K et K_1 . Nous ne donnerons pas le développement complet de cette solution qui conduit à des formules assez compliquées.

Citons un exemple d'action catalytique qui fait partie de ce groupe, c'est le cas étudié par *Federlin* (1). La réaction entre le persulfate de potassium et l'acide phosphoreux est extrêmement lente ; cette réaction a pour formule chimique

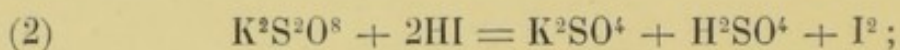


théoriquement c'est une réaction du deuxième ordre, puisqu'une molécule d'acide phosphoreux réagit sur une molécule de persulfate de potasse.

(1) Federlin, *Zeitsch. f. phys. Chem.* 41, 1902, 563.

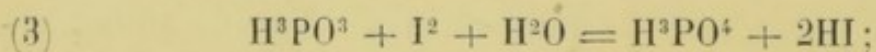
Cette réaction se produit avec une vitesse facilement mesurable, si l'on ajoute dans le milieu un peu d'acide iodhydrique qui intervient comme catalyseur, puisqu'il n'apparaît pas dans les produits définitifs de la réaction et qu'une quantité donnée d'acide iodhydrique peut transformer des quantités quelconques d'acide phosphoreux et de persulfate.

Federlin a pu analyser complètement l'action de l'acide iodhydrique. En effet, si l'on fait agir l'acide iodhydrique sur le persulfate de potasse il y a formation de sulfate de potasse, d'acide sulfurique et mise en liberté de l'iode. La formule est la suivante :



cette réaction se produit avec une certaine vitesse que l'on peut facilement mesurer, et les recherches de *Price* (1) ont montré que la réaction précédente était une réaction du second ordre.

L'iode qui est mis en liberté oxyde l'acide phosphoreux d'après l'équation :



on retrouve donc de nouveau de l'acide iodhydrique. Cette réaction entre iode et l'acide phosphoreux se produit également avec une vitesse mesurable, et la réaction est de second ordre.

Donc, en définitive, la transformation de l'acide phos-

(1) Price, *Zeit. physik. Chem.*, 27.

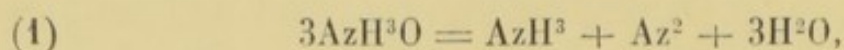
phoreux et du persulfate de potassium en présence de l'acide iodhydrique se produit par suite de deux réactions successives et inverses l'une de l'autre, qui transforment l'acide iodhydrique en iode et l'iode en acide iodhydrique. Si on applique la loi de l'action des masses à chacune de ces réactions, on arrive à une formule compliquée qui exprime la vitesse de transformation du persulfate et de l'acide phosphoreux ; cette formule ne correspond point du tout à la loi des réactions du second ordre, comme on en aurait eu une, si la réaction (1) était accélérée par un catalysateur qui ne donne pas de combinaison intermédiaire. Comme, d'autre part, on peut déterminer isolément les vitesses des deux réactions partielles (2) et (3) on a un moyen permettant de contrôler si les hypothèses, relatives à la façon dont l'acide iodhydrique intervient comme catalysateur, sont exactes ou non. Federlin a confronté les résultats expérimentaux et les résultats calculés d'après les considérations théoriques fondées sur la loi de l'action des masses et il est arrivé à une concordance très bonne.

Il est certain que des exemples de ce genre ne sont pas rares et que l'on en trouve parmi les réactions diastasiques.

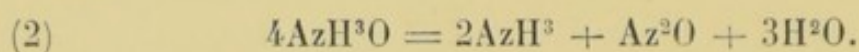
5° *Action d'un catalysateur sur une série de réactions successives.* — Dans certains cas la réaction qui est provoquée par un catalysateur n'est pas simple, mais est suivie d'une deuxième réaction entre les produits de la réaction, de sorte que la réaction se produit en plusieurs stades. Le catalysateur peut, dans ces cas, agir d'une manière différente sur chacun de ces stades et modifier ainsi non seulement la courbe de vitesse, mais aussi la nature

des corps que l'on obtiendra. Citons deux exemples qui ont été étudiés récemment par *Fanatar* ⁽¹⁾.

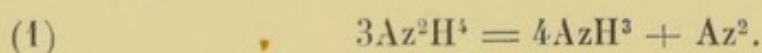
1) L'hydroxylamine se décompose à chaud en donnant de l'ammoniaque, de l'azote et de l'eau :



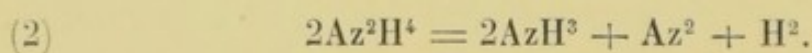
cette décomposition est accélérée par le noir de platine qui agit comme catalyseur, mais dans ce cas on a Az^2O au lieu de l'azote, la réaction se produit suivant l'équation :



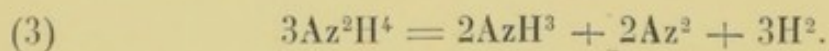
2) Le sulfate d'hydrazine se décompose en présence du noir de platine en donnant de l'ammoniaque et de l'azote.



L'hydrazine libre se décompose au contact du platine et donne en plus de l'azote, de l'hydrogène :



Enfin, en présence de la soude on a la troisième forme de décomposition de l'hydrazine :



L'auteur n'a pas donné d'explication complète de ces différences, mais il est certain qu'elles doivent être ramenées à l'hypothèse de réactions successives avec formation de composés intermédiaires.

Ce groupe de réaction catalytique présente un grand intérêt pour l'étude des actions diastasiques qui con-

⁽¹⁾ *Fanatar*, *Zeit. ph. Chem.*, 40, 1902, 425 et 41, 1902, 37.

duisent très souvent à toute une série de stades successifs ; les digestions peptiques et tryptiques, la saccharification de l'amidon et du glycogène en sont des exemples typiques. On entrevoit très bien que certains ferments, comme par exemple la pepsine, provoqueront surtout les transformations du début, par exemple depuis le stade albumine jusqu'au stade peptone, et n'agiront que très faiblement sur les transformations ultérieures, tandis que d'autres diastases, telle que la trypsine, agiront également sur la transformation de la peptone.

Il en est de même pour l'action de l'amylase qui peut, suivant les conditions, soit agir presque uniquement sur la transformation de l'amidon en dextrine, soit, au contraire, agir aussi bien sur la transformation de la dextrine en maltose. La loi de l'action totale sera modifiée suivant que l'on aura l'un ou l'autre de ces cas et nous verrons dans la suite comment l'étude de la vitesse de la réaction totale permet de faire certaines conclusions relatives aux réactions intermédiaires par lesquelles passent les corps avant d'arriver au stade terminal.

6. Résumé de l'étude des actions catalytiques. —

De l'étude précédente on doit déduire deux conclusions essentielles. 1° La présence d'un catalyseur peut modifier complètement la courbe de vitesse d'une réaction, sans que pour cela cette modification soit en contradiction avec les lois de la chimie générale ; ce résultat est important pour l'étude des diastases. En effet, nous verrons dans la suite que certains auteurs (par exemple Duclaux) ayant trouvé que l'inversion du saccharose par

l'invertine se produit suivant une loi différente de celle des acides, en avaient déduit que les lois de la chimie générale ne s'appliquent pas aux diastases, conclusion non justifiée, ainsi que cela résulte du paragraphe précédent. Nous avons vu que non seulement la courbe de vitesse de la réaction pouvait être complètement modifiée par la présence d'un catalysateur, mais que les produits de la réaction peuvent être différents suivant que l'on aura tel ou tel catalysateur.

2° La deuxième conclusion qui résulte immédiatement, c'est l'utilité des recherches sur les vitesses des réactions catalytiques. Si on étudie la loi suivant laquelle se produit une réaction catalytique, la discussion de cette loi permettra de classer la réaction étudiée dans l'un des groupes précédents, et par conséquent cette étude donnera des indications importantes relatives au mécanisme intime suivant lequel se produit l'action catalytique. Quelques fois la réponse ne pourra pas être absolument certaine, mais on pourra, par contre, affirmer avec certitude que toute une série d'hypothèses relatives à l'explication de l'action catalytique devront être éliminées. Ainsi par exemple on peut affirmer, en étudiant la vitesse des actions diastasiques, que la théorie physique d'Arthus est inadmissible.

Par conséquent, l'étude cinétique de réactions catalytiques apprendra toujours quelque chose de nouveau relativement à la nature de ces réactions. Voilà pourquoi il faut essayer de reprendre l'étude des vitesses de toutes les réactions diastasiques, ce n'est que de cette manière qu'on pourra arriver à comprendre leur mécanisme.

On se demande donc quelles sont les règles générales qu'il faudra suivre dans ces études de vitesses et comment on devra discuter les résultats. Bien que ce soient là des questions d'ordre général qui sont exposées longuement dans les traités classiques de Van't Hoff, Ostwald et Nernst, nous rappellerons en quelques lignes les points principaux.

7. Points principaux dans l'étude des vitesses des réactions chimiques. — La première question qui se pose dans une étude sur les vitesses des réactions, c'est la détermination de l'ordre de la réaction, et par conséquent de la loi suivant laquelle cette réaction se produit.

Comme d'après la loi de l'action des masses la vitesse d'une réaction est proportionnelle au produit des masses actives des corps qui interviennent dans la réaction, il s'en suit que l'on distinguera différents ordres de réactions, suivant les nombres de molécules qui entrent dans la réaction. Si la réaction chimique se produit dans un milieu homogène d'après la formule $m A + p B + q C =$ des corps de formule quelconque, si $a - x$, $b - x$, $c - x$ sont les quantités des corps A, B, C à un moment donné t et enfin si v est le volume occupé par le système, la vitesse de la réaction, c'est-à-dire la quantité $\frac{dx}{v}$ (exprimée en molécules grammes) de corps A, B, C qui se combinent par unité de volume pendant l'intervalle dt , sera égale à

$$K \cdot \left(\frac{a-x}{v}\right)^m \left(\frac{b-x}{v}\right)^p \left(\frac{c-x}{v}\right)^q;$$

on aura donc l'équation différentielle

$$\frac{dx}{v \cdot dt} = K \left(\frac{a-x}{v}\right)^m \left(\frac{b-x}{v}\right)^p \left(\frac{c-x}{v}\right)^q.$$

En intégrant et en déterminant la constante d'intégration par la condition qu'au début, c'est-à-dire pour $t = 0$, x est égal à zéro, on obtiendra une certaine relation entre les grandeurs t, a, b, c, x, v et K . Si l'on détermine expérimentalement les valeurs de x pour des intervalles de temps déterminés, en substituant ces valeurs dans la formule obtenue, on pourra étudier si les valeurs de K qui s'en suivent sont bien constantes. Pratiquement, on a seulement trois cas à discuter.

1° *Réactions du premier ordre.* — Un seul corps A se décompose avec une certaine vitesse ; dans ce cas m est égal à 1, et la vitesse est égalé à

$$\frac{dx}{v \cdot dt} = K \left(\frac{a - x}{v} \right)$$

où a est la quantité du corps A au début ; en intégrant on obtient $-\ln(a - x) = Kt + C^{\text{te}}$, pour $x = 0$ on doit avoir $t = 0$, donc $C^{\text{te}} = -\ln a$, et la loi suivant laquelle se produit une réaction du premier ordre a la forme suivante

$$(1) \quad Kt = \ln \frac{a}{a - x};$$

on voit que dans cette relation le volume v occupé par le système n'intervient pas.

Une réaction du premier ordre, comme par exemple l'inversion du saccharose en présence des acides, est caractérisée d'abord par la courbe logarithmique qui relie le temps et la quantité de substance transformée, et puis par l'indépendance du volume occupé. Ainsi lorsque l'on produit l'inversion du saccharose par un acide dans des solutions de concentrations différentes contenant 10, 20, 30 grammes de sucre par litre, la même *proportion* de sucre sera intervertie dans ces solutions au bout du même

temps ; par exemple, au bout d'une heure dans la première solution sera interverti 1 gramme de sucre, dans la deuxième solution 2 grammes, dans la troisième 3 grammes, etc.

Par conséquent, lorsqu'on veut étudier si une réaction est du premier ordre, on déterminera une série de valeurs de x correspondant à des temps différents, puis on calculera l'expression $K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$, si elle reste constante la courbe de vitesse correspond bien à une réaction du premier ordre ; mais on ne peut pas encore en déduire que la réaction est réellement du premier ordre, ce serait une erreur qui est précisément celle qui a été commise par O'Sullivan et Tompson dans la discussion de la réaction produite par l'invertine. Il faut comparer la vitesse pour différentes valeurs de a , c'est-à-dire pour différentes concentrations du corps à transformer, et si on trouve qu'au bout du même temps la même proportion de ce corps est transformée dans ces différentes solutions on pourra affirmer que la réaction est réellement du premier ordre. Nous verrons des applications dans la suite, en étudiant les actions diastasiques.

2° *Réactions du second ordre.* — Le type de ces réactions est représenté par la formule chimique $A + B = AB$; si a et b sont les quantités exprimées en grammes molécules du corps A et B au début, x la quantité de AB formée après t minutes, et v le volume du mélange, on aura au moment t par litre $\frac{a-x}{v}$ du corps A, $\frac{b-x}{v}$ du corps B et la vitesse aura pour expression :

$$\frac{dx}{v \cdot dt} = K \cdot \frac{a-x}{v} \cdot \frac{b-x}{v}.$$

Deux cas différents doivent être distingués : α) Les corps A et B sont en quantité équimoléculaire, donc $a = b$; et la vitesse a pour expression :

$$\frac{dx}{dt} = K. \frac{(a - x)^2}{v};$$

en intégrant on obtient :

$$\frac{v}{(a - x)} = Kt + \text{constante};$$

pour $t = 0$, x doit être égal à 0, donc

constante = $\frac{v}{a}$, par conséquent la loi de la réaction a pour expression

$$(II) \quad \frac{K.at}{v} = \frac{x}{a - x}.$$

On voit donc que la relation entre t et x dépend du volume occupé par le mélange et par conséquent de la concentration des corps A et B. — β) Les quantités a et b ne sont pas égales entre elles ; on a dans ce cas

$$\frac{dx}{v.dt} = K. \frac{(a - x)(b - x)}{v^2},$$

d'où l'on déduit après intégration

$$(II^{bis}) \quad \ln \frac{b(a - x)}{a(b - x)} = \frac{(a - b)}{v}.K.t.$$

Donc, on aura une réaction du deuxième ordre lorsque x et t seront reliés entre eux par la formule II ou II bis, et que, de plus, la vitesse sera d'autant plus faible que le volume occupé sera plus grand. En diluant le système deux fois on diminuera la vitesse de la réaction de deux

fois. Ainsi supposons que nous ayons deux réactions de saponifications de l'acétate de méthyle par la soude, la première contient 100 centimètres cubes du mélange d'acétate de méthyle et de soude au dixième normale, la deuxième contient 100 centimètres cubes du mélange d'acétate et de soude au vingtième normale. Si au bout de 30 minutes dans le premier flacon un quart d'acétate se trouve saponifié, alors dans le deuxième flacon c'est seulement un huitième de la quantité d'acétate qui le sera ; il y a là une différence essentielle avec les réactions du premier ordre.

3° *Réactions du troisième ordre.* — Le type est la réaction $A + B + C = ABC$, la vitesse a pour expression :

$$\frac{dx}{v \cdot dt} = K \frac{a - x}{v} \cdot \frac{b - x}{v} \cdot \frac{c - x}{v},$$

donc elle dépend du carré du volume occupé par le mélange. La discussion complète est assez compliquée et nous entraînerait en dehors de notre sujet.

Tels sont les points essentiels qui devront servir de base dans l'étude des vitesses de réaction, et c'est en nous appuyant sur ces principes que nous entreprenons maintenant l'étude des actions diastasiques.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LES LOIS D'ACTION DES DIASTASES

S. Recherches de O'Sullivan et Tompson. — Le nombre de recherches qui ont été faites sur les diastases est très considérable, mais seulement un petit nombre d'auteurs se sont occupés d'une manière systématique de l'étude des lois générales de l'action des diastases ; je ne m'arrêterai que sur les travaux qui concernent uniquement ce point de la question, ce sont les recherches de O'Sullivan et Tompson, Tammann, Duclaux et Brown.

En 1890, O'Sullivan et Tompson ont publié un travail très détaillé sur l'invertine ⁽¹⁾, dans lequel ils étudient la loi d'action de ce ferment. Une quantité déterminée d'invertine est dissoute dans l'eau, portée à la température de l'expérience et mélangée avec un certain volume d'une solution de saccharose. Pour activer la diastase les auteurs ajoutent une très faible quantité d'acide. A des moments déterminés on prélève une certaine quantité de la liqueur et on la verse dans un verre contenant quelques

⁽¹⁾ O'Sullivan et Tompson, *Invertase. Journ. of Chem. Soc.*, 1890, t. LVII, p. 834-930.

gouttes de soude, ce qui suffit pour arrêter l'action de la diastase. Le dosage du sucre se faisait au polarimètre.

Les auteurs construisent la courbe qui représente la marche d'une réaction et la comparent à une courbe logarithmique telle qu'on l'obtiendrait pour l'action d'un acide sur le saccharose. Ils concluent que les deux courbes se confondent presque exactement, d'où ils déduisent que l'action de l'invertine sur le saccharose suit la loi logarithmique des réactions monomoléculaires, par conséquent il y aurait identité pour les lois d'action des acides et de l'invertine sur le saccharose.

Les auteurs tirent cette conclusion de l'étude des résultats obtenus pour trois expériences de vitesse d'inversion ; ils remarquent que pour ces trois cas il existe de faibles écarts entre la courbe logarithmique et la courbe obtenue, et que ces écarts ont lieu dans le même sens ; mais ils n'étudient pas ce point et ne font pas les calculs de la constante d'inversion K donnée par la relation

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}.$$

Lorsqu'on fait ces calculs pour les expériences de O'Sullivan et Tompson, on voit que la valeur de K ne reste pas constante, mais qu'elle croît régulièrement depuis le début jusqu'à la fin (Voir les résultats p. 32).

On voit que les valeurs de K augmentent d'une manière régulière, donc la loi suivie pendant une inversion n'est pas exactement la loi logarithmique. Mais l'erreur principale commise par O'Sullivan et Tompson dans leur assimilation de l'action de l'invertine à celles des acides provient de ce qu'ils n'ont pas étudié l'action de la con-

Durées	Proportions interverties	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
<i>Première série</i>		
5 minutes	0,031	0,002 736
15 —	0,098	0,002 986
30 —	0,192	0,003 086
57 —	0,336	0,003 120
90 —	0,458	0,002 956
120 —	0,585	0,003 183
150 —	0,674	0,003 245
182 —	0,745	6,003 261
210 —	0,798	0,003 308
240 —	0,844	0,003 362
270 —	0,873	0,003 319
381 —	0,935	0,003 116
<i>Deuxième série</i>		
4 minutes	0,049	0,005 455
19 —	0,192	0,004 873
39 —	0,353	0,004 049
59 —	0,495	0,005 029
79 —	0,618	0,005 290
99 —	0,710	0,005 430
132 —	0,819	0,005 624
164 —	0,887	0,005 774
<i>Troisième série</i>		
5 minutes	0,031	0,002 736
17 —	0,088	0,002 354
35 —	0,183	0,002 508
55 —	0,277	0,002 561
78 —	0,373	0,002 599
108 —	0,490	0,002 708
139 —	0,592	0,002 801
170 —	0,667	0,002 809
204 —	0,743	0,002 892
235 —	0,796	0,002 938
359 —	0,908	0,002 886

centration du saccharose qui leur aurait révélé immédiatement une différence profonde entre ces deux actions. Cette étude a été faite par Duclaux qui a montré l'erreur commise par O'Sullivan et Tompson dans leur conclusion. Mais avant de parler des recherches de Duclaux, nous examinerons les travaux de Tammann parus simultanément avec ceux de O'Sullivan et Tompson.

9. Recherches de Tammann. — Tammann a consacré trois mémoires ⁽¹⁾ à l'étude des lois d'action des diastases. Il rapporte des expériences faites avec l'émulsine et l'invertine et examine l'influence de toute une série de facteurs différents.

Il cherche à montrer d'abord que les actions de ces deux ferments ne sont pas complètes. Une quantité donnée d'émulsine ne transforme qu'une certaine proportion d'amygdaline, de salicine, arbutine, aesculine ; de même une quantité déterminée d'invertine ne peut transformer qu'une partie du saccharose auquel elle est ajoutée. Cette proportion limite varie avec la température, la quantité de ferment et la quantité de substance à transformer ; elle dépend également de l'accumulation des produits de la réaction, de sorte que, si on élimine ces produits, la réaction progresse davantage.

Cette proportion limite n'est pas, d'après Tammann, un état d'équilibre, puisque, en ajoutant une certaine quantité des produits de la réaction, on ne voit pas la limite rétrograder.

Cet ensemble de résultats qui conduisirent Tammann à

⁽¹⁾ Tammann, *Zeitsch. f. physik. Chem.* III et XVIII ; *Zeit. f. physiol. Chem.* XVI.

l'énoncé de la loi générale que les actions diastasiques sont incomplètes, est composé d'expériences n'ayant pas toutes la même valeur. A côté d'expériences comme celles sur l'action de l'émulsine sur l'amygdaline, l'esculine et l'arbutine qui ne sont pas sujettes directement à des causes d'erreur, nous croyons que certaines expériences sur la salicine et surtout sur l'invertine doivent être critiquées ; en effet, l'auteur a étudié des séries qui dureraient plus de 24 heures, et il n'a pris aucune précaution contre le développement des microorganismes. Il dit lui-même, en parlant de la limite d'action de l'invertine sur le saccharose, (*Zeits. physiol. Chem.*, p. 280) que dans une expérience d'inversion de saccharose qui a été suivie pendant 3046 minutes, environ 500 minutes après le début la solution a commencé à se troubler par suite du développement des microorganismes. Il n'est pas étonnant que dans ces conditions on trouve que la réaction n'est pas complète.

De même dans certains tableaux sur l'action de l'émulsine sur la salicine qui servent également à montrer que l'action du ferment est incomplète, l'auteur indique pour certaines séries qu'à partir d'un certain moment la lecture polarimétrique était impossible, puisque le liquide était devenu trouble.

Or, nous savons maintenant quel rôle important les microorganismes peuvent jouer dans des réactions diastasiques, soit en augmentant l'activité, soit en l'annihilant complètement.

Donc pour cette première partie du travail de Tammann, nous devons faire des réserves en ce qui concerne l'action de l'invertine sur le saccharose et celle de l'émul-

sine sur la salicine. Nous montrerons plus loin que dans les conditions où nous nous sommes placées, ces actions pouvaient être considérées pratiquement comme complètes.

Relativement au résultat annoncé par Tammann que dans les cas de réactions diastasiques limitées il n'y avait pas d'état d'équilibre, nous savons également que les recherches de Hill, Emmerling, E. Fischer ont démontré le contraire. Pour l'action de la maltase sur le maltose, de l'émulsine sur l'amygdaline et de la lactase sur le lactose nous avons bien un état d'équilibre, ce qui permet d'obtenir la synthèse de ces sucres et glycosides en partant de leurs produits de décomposition.

Tammann examine ensuite la loi de la vitesse des actions diastasiques et il trouve que cette loi n'est pas simple, elle dépend de la quantité de ferment qui est mise dans la solution. Ainsi, pour l'action de l'invertine sur le saccharose, l'auteur donne dix séries d'expériences faites avec une même quantité de saccharose et avec des quantités d'invertine variant de 0 gr. 920 jusqu'à 0 gr. 001. L'auteur trace les courbes qui représentent les vitesses d'inversion et il voit que la forme de ces courbes est très différente suivant la dose de ferment : pour de fortes quantités d'invertine la vitesse d'inversion va en diminuant continuellement, tandis que pour de faibles doses la vitesse augmente de plus en plus avec le temps.

Ce résultat conduit l'auteur à affirmer que la réaction de l'invertine sur le saccharose suit une loi très complexe, bien différente de la loi logarithmique des acides.

Lorsqu'on examine de plus près les tableaux des expériences de Tammann, on s'aperçoit que pour les quatre

premières séries faites avec des quantités d'invertine égales à 0 gr. 92, 0,46, 0,23, 0,092 la vitesse diminue progressivement depuis le début de la réaction jusqu'à la fin. Dans ces séries, des dosages faits pendant les 500 premières minutes indiquent déjà des transformations de plus de la moitié du sucre. Au contraire, pour les dix séries suivantes, au bout de 500 minutes la transformation est ou bien très faible, ou même n'est pas du tout appréciable, et l'auteur donne les mesures faites après des durées bien plus longues, atteignant 5437 minutes. C'est pour ces durées qui dépassent 24 heures qu'il trouve l'anomalie indiquée plus haut que la vitesse s'accroît avec le temps. Puisqu'il ne dit pas avoir pris de précaution pour empêcher le développement de microorganismes, il est à craindre que ces anomalies ne soient dues à cette cause d'erreur qui s'introduit si facilement dans les expériences avec des milieux nutritifs aussi bons que les solutions de saccharose à 20 0/0.

Nous ne devons donc considérer que les quatre premières séries, et nous voyons en les étudiant que l'expression $K = \frac{1}{x} \log \frac{a}{a-x}$ calculée d'après ces expériences augmente d'une manière régulière depuis le début de la réaction. Voici (p. 37) les résultats pour la première série.

Ce résultat est donc bien conforme à celui qui a été obtenu par O'Sullivan et Tompson.

Enfin Tammann examine longuement l'action de la température sur les diastases, mais comme nous ne nous occuperons pas du tout de l'action de la température, nous laisserons complètement de côté cette partie des recherches de Tammann.

La conclusion générale de l'auteur est donc que les diastases ne suivent pas les mêmes lois que les actions catalytiques de la chimie générale, et qu'il est très difficile de trouver les lois des actions diastasiques.

Durées	Proportions interverties	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
14 minutes	0,054	0,00172
35 —	0,170	0,00231
58 —	0,290	0,00247
83 —	0,450	0,00271
100 —	0,481	0,00285
124 —	0,59	0,00300
160 —	0,68	0,00309
202 —	0,767	0,00313
299 —	0,85	0,00274

10. Recherches de Duclaux. — Duclaux a donné en 1898, dans les *Annales* de l'Institut Pasteur et dans le II^e volume de sa *Microbiologie*, un essai général d'une grande importance sur les lois des actions diastasiques. Il commence par critiquer la conclusion de O'Sullivan et Tompson relative à l'identité des actions diastasiques et des actions produites par les acides. Cette critique repose sur les résultats obtenus pour différentes concentrations en saccharose.

En 1878 Barth ⁽¹⁾ et en 1883 Duclaux avaient vu que si l'on mettait la même quantité d'invertine en présence de doses croissantes de saccharose, les quantités de saccharose interverties au bout du même intervalle de temps

⁽¹⁾ Barth, *Berl. Ber.* 1878, p. 481.

dans ces solutions ne variaient pas du tout proportionnellement à la concentration en sucre, comme cela se passe pour l'action des acides ; au contraire, pour des solutions de concentrations moyennes, comprises chez Barth entre 5 et 15 0/0 et chez Duclaux entre 10 et 40 0/0, on trouve que la quantité de sucre interverti est la même quelle que soit la concentration en sucre. Voici, du reste, les résultats numériques de Barth.

Concentration de saccharose			Quantité de sucre interverti au bout de 30 minutes	
0 ^{gr} ,5 pour 100 centimètres cubes.			20 milligrammes.	
1, 0	—	—	43	—
2, 5	—	—	65	—
5, 0	—	—	100	—
7, 5	—	—	100	—
10, 0	—	—	104	—
15, 0	—	—	104	—
20, 0	—	—	83	—

Duclaux remarque que cette propriété n'appartient pas seulement à l'invertine, mais qu'elle se produit pour d'autres diastases, ainsi, par exemple, pour l'amylase de l'urine, d'après les recherches de Dubourg.

Un deuxième point sur lequel insiste Duclaux, c'est le résultat observé par beaucoup d'auteurs qu'au début d'une réaction diastasique la vitesse est uniforme, la quantité de substance transformée est proportionnelle au temps, la courbe représentative est donc une ligne droite ; et ceci a lieu jusqu'à la transformation d'environ 20 0/0 de la totalité du corps qui se trouve dans le mélange.

Enfin Duclaux insiste sur l'action retardatrice exercée par les produits de la réaction.

En se fondant sur cet ensemble de faits, Duclaux construit une théorie générale de l'action des diastases. Dès le début de cette théorie, l'auteur renonce aux lois de la chimie générale, en affirmant que l'action d'une diastase sur le corps à transformer est indépendante de la quantité de ce corps et ne dépend que de la durée. De sorte que la vitesse a pour expression $\frac{dx}{dt} = K$; elle est constante, la courbe est donc une ligne droite.

Mais ceci n'est que la première phase du phénomène, à celle-ci s'ajoute une deuxième qui est l'influence exercée par les produits de la réaction, influence retardatrice qui explique pourquoi la vitesse diminue à mesure que la réaction avance. Cette action retardatrice des produits de la réaction sur la diastase est différente, d'après Duclaux, de l'action exercée par le ferment sur le corps à transformer; elle dépend de la quantité des produits de la réaction; mais ici encore, l'auteur admet une action se produisant suivant des lois différentes de celle de la loi des masses; en effet, l'action retardatrice serait proportionnelle au rapport des produits de la réaction à la quantité de substance à transformer qui se trouvait au début de la réaction. Ainsi, si à un moment donné nous avons dans le milieu les quantités $a - x$ du corps à transformer, a étant la quantité au début, et x est la quantité des produits de la réaction, l'action retardatrice serait proportionnelle au rapport $\frac{x}{a}$. L'auteur fait cette hypothèse d'une façon absolument arbitraire, elle ne correspond à

aucune considération théorique relative à la nature de cette action retardatrice.

La vitesse définitive de l'action diastatique est représentée par la formule.

$$\frac{dx}{dt} = K - K_1 \frac{x}{a}$$

ou encore

$$\frac{dx}{dt} = \frac{1}{a} (Ka - K_1 x).$$

En intégrant on obtient :

$$- \frac{1}{K_1} \ln (Ka - K_1 x) = \frac{t}{a} + \text{constante},$$

en observant que pour $t = 0$, x est égal à 0 on obtient la valeur de la constante d'intégration,

$$C^e = - \frac{1}{K_1} \ln Ka$$

de sorte que la formule définitive est :

$$t = \frac{a}{K_1} \ln \frac{Ka}{Ka - K_1 x}.$$

Cette formule contient deux constantes K et K_1 ; si la réaction observée est totale, ainsi que cela se produit pour l'invertine, on doit avoir $K = K_1$ et la formule précédente prend la forme :

$$(I) \quad K = \frac{a}{t} \ln \frac{a}{a - x}.$$

On voit que cette expression diffère de la loi des réactions du premier ordre seulement par le facteur a .

La formule (I) exprime donc, d'une part, que la vitesse d'une réaction est représentée par une courbe logarithmique, ainsi que l'avaient trouvé O'Sullivan et Tompson, et, d'autre part, que, pour des solutions de concentrations variables en saccharose, la quantité *absolue* de sucre interverti au bout du même temps est la même dans toutes les solutions, ce qui est conforme aux résultats de Duclaux, Barth et Dubourg.

Plusieurs critiques doivent être adressées à cette formule (I). D'abord pour ce qui concerne la forme de la courbe, on trouve en réalité que cette courbe est plus rapide que la courbe logarithmique. Les valeurs de K calculées d'après la formule (I) pour une inversion croissent d'une manière régulière depuis le début jusqu'à fin.

Deuxièmement, le résultat sur l'indépendance de la quantité transformée de la concentration en sucre n'est exact que pour des concentrations moyennes ; pour des solutions diluées déjà Barth avait trouvé que la quantité de sucre interverti après un certain temps était de plus en plus faible, à mesure que la solution devenait de plus en plus diluée. Les expériences de Tammann (p. 315 et 316) confirment le même fait pour l'action de l'émulsine sur l'amygdaline et de l'invertine sur le saccharose. Enfin les recherches de Brown et celles que nous rapportons plus loin montrent également que le résultat de l'indépendance de la concentration n'est vrai que pour les solutions de concentrations moyennes.

Enfin la théorie de Duclaux présente ce défaut qu'elle suppose deux lois d'action différentes pour l'action de la diastase sur le corps à transformer et pour l'action des produits de la réaction sur la diastase, et ces deux lois différentes ne correspondent ni l'une ni l'autre à la loi d'action des masses. Les diastases sont donc envisagées comme obéissant à des lois *sui generis*, constituant ainsi une classe devant être mise à part des phénomènes de la chimie générale.

11. Recherches de A. Brown. — Passons maintenant aux recherches récentes publiées par *Adrian J. Brown* (1). Cet auteur avait montré, en 1892, que l'action de la levure de bière sur le sucre dans la fermentation alcoolique ne suivait pas la loi logarithmique des acides, mais que la vitesse était représentée par une ligne droite. Il reprend la question pour l'invertine ; il montre d'abord que si l'on étudie une inversion de saccharose par l'invertine, la vitesse suit une loi plus rapide que la loi logarithmique ; l'expression

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

augmente continuellement depuis le début jusqu'à la fin. Voici (p. 43) les nombres relatifs à deux séries d'expériences de A. Brown.

Ensuite il montre que pour des solutions de concentrations moyennes (de 5 à 30 0/0) une certaine quantité d'in-

(1) Adrian J. Brown, *Enzyme Action. Journ. of. Chem. Soc.*, avril 1902, p. 373-388.

Durées	Proportion interverte	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
<i>Première série.</i> — 9 ^{gr} ,48 saccharose pour 100 centimètres cubes.		
30 minutes	0,265	0,00445
64 —	0,509	0,00483
120 —	0,794	0,00571
180 —	0,945	0,00698
240 —	0,983	0,00737
300 —	1,003	«
<i>Deuxième série.</i> — 19 ^{gr} ,28 saccharose pour 100 centimètres cubes		
30 minutes	0,130	0,00201
64 —	0,256	0,00201
120 —	0,454	0,00219
180 —	0,619	0,00232
240 —	0,738	0,00242
300 —	0,831	0,00257
360 —	0,890	0,00265
420 —	0,935	0,00283
480 —	0,961	0,00293
540 —	0,983	0,00327
581 —	0,990	0,00344

vertine hydrolyse au bout d'un temps donné la même quantité de saccharose. Voici des exemples numériques.

Concentration des solutions de saccharose	Quantité intervertie après 60 minutes
4 ^{gr} ,89 pour 100 centimètres cubes.	1 ^{gr} ,230
9, 85 — —	1, 355
19, 91 — —	1, 355
29, 96 — —	1, 235
40, 02 — —	1, 076

Ce résultat est bien conforme à ceux de Barth, Duclaux et Tammann. Par conséquent, conclut l'auteur, l'invertine

ne suit pas la loi des masses, telle qu'elle s'applique à l'action des acides.

A. Brown essaie ensuite de donner une théorie qui expliquerait l'action de l'invertine. Il suppose que le ferment forme avec une partie du saccharose une combinaison intermédiaire, qui persiste un certain temps et puis se décompose en donnant le sucre interverti et le ferment primitif. Puisque la combinaison intermédiaire ne se décompose pas immédiatement, mais persiste pendant un certain intervalle de temps, une quantité donnée de ferment ne pourra donner lieu à ces transformations qu'un nombre limité de fois. Par conséquent, si la quantité de saccharose est forte par rapport à celle de la diastase, la transformation sera indépendante de la concentration en saccharose; au contraire, si la quantité de sucre est faible, le nombre de transformation par unité de temps n'aura pas atteint le maximum et alors la concentration du sucre aura une influence sur la vitesse de l'inversion. L'auteur arrive donc ainsi à étudier les solutions très diluées et il trouve que l'expérience correspond bien à ses prévisions théoriques; voici du reste les résultats numériques :

Concentration en saccharose	Quantité intervertie après 60 minutes
2 ^{gr} ,0 pour 100 centimètres cubes.	0 ^{gr} ,308
1, 0 — —	0, 249
0, 5 — —	0, 129
0, 25 — —	0, 060

On voit nettement que pour ces solutions diluées la vitesse d'inversion dépend de la concentration en saccharose.

La théorie de A. Brown est très incomplète. Elle suppose d'abord que la combinaison intermédiaire persiste un temps minimum avant de se décomposer, mais l'auteur ne nous dit pas s'il admet que cette combinaison se produit très rapidement et que la décomposition se produit également avec une vitesse très grande ; de sorte qu'il est absolument impossible d'écrire les équations du problème. La chimie générale nous enseigne que nous ne pouvons pas admettre la formation rapide d'un composé intermédiaire qui resterait intact quelque temps et puis se décomposerait brusquement ; les phénomènes chimiques ne présentent pas de discontinuités de cette nature ; ou bien c'est la formation du composé intermédiaire qui est lente, ou bien sa décomposition est lente, ou bien les deux processus sont lents. Quelle que soit l'hypothèse que nous fassions, nous n'arriverons pas à une formule, qui représente les faits connus sur l'inversion du saccharose, puisque ces hypothèses ne tiennent aucun compte de l'action du sucre interverti sur la vitesse de la réaction.

Or, le sucre interverti ralentit l'action du ferment et A. Brown donne lui-même des expériences à ce sujet, mais il n'en tient aucun compte dans sa théorie. Cette théorie est donc très incomplète et ne permet nullement de prévoir la loi suivant laquelle se produit l'action de l'invertine sur le saccharose.

12. Recherches de H. Brown et Glendinning. — Horace T. Brown et Glendinning ⁽¹⁾ ont publié à la

⁽¹⁾ The velocity of Hydrolysis of Starch by Diastase with some Remarks on Enzyme Action. *Journ. of. Chem. Soc.*, avril 1902, p. 388-400

suite du travail de A. Brown des recherches sur l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase et ils établissent également une théorie de l'action des diastases.

En ce qui concerne l'hydrolyse de l'amidon, ils montrent que la loi est la même que pour l'invertine ; nous reviendrons dans la suite sur ces expériences. La théorie que développent les auteurs diffère de celle de A. Brown, elle a l'avantage sur la précédente d'être plus complète et de ne pas admettre l'existence de combinaisons qui persisteraient sans se décomposer pendant un temps minimum.

Cette théorie appartient au groupe de réactions catalytiques avec formation de combinaison intermédiaire complète se produisant très rapidement et se décomposant lentement. Nous avons montré précédemment (p. 15) que dans ce cas, si la quantité de catalysateur était faible par rapport à celle du corps à transformer, la courbe de vitesse serait d'abord une ligne droite et deviendrait, au bout d'un certain temps, une logarithmique ; de sorte que l'on voit bien que pour des solutions de concentration moyenne la vitesse est indépendante de la concentration en sucre, et au contraire, elle en dépendra pour des solutions diluées.

Cette théorie explique bien quelques points de l'action des diastases, mais elle est incapable de donner une représentation complète de la marche de la réaction ; en effet, le sucre interverti n'entre pas en ligne de compte dans cette théorie ; les auteurs prétendent que pour des solutions de concentration faibles les produits de la réaction n'ont pas d'action notable, cette hypothèse est contraire aux faits expérimentaux qui seront exposés plus loin. Donnons un

exemple numérique qui montrera que la théorie précédente est incomplète.

Supposons que nous ayons deux solutions de saccharose à 5 0/0 et à 10 0/0; ajoutons dans les deux la même quantité de diastase, nous verrons qu'au bout d'une heure il y aura le même nombre de grammes intervertis dans ces deux solutions, soit 1 gr., 2 dans chacune.

Supposons maintenant que nous ajoutions d'abord à chacune des deux solutions primitives la même quantité de sucre interverti, 5 grammes, par exemple, de sorte que la première solution contiendra 5 grammes saccharose + 5 grammes sucre interverti et la deuxième solution 10 grammes saccharose + 5 grammes sucre interverti. Puisque la quantité de saccharose est bien supérieure à la quantité d'invertine que l'on ajoute à chacune de ces deux solutions, d'après la théorie des auteurs on devrait de nouveau s'attendre à voir la même quantité de sucre hydrolysée au bout d'une heure; l'expérience montre qu'il n'en n'est rien: on trouvera, par exemple, dans la première solution, au bout d'une heure, 0 gr., 8 saccharose hydrolysé et dans la deuxième 1 gr., 0. Il y aura une différence très nette.

Tout un ensemble de faits de ce genre, ainsi que les résultats relatifs à l'action de l'invertine sur le saccharose et de l'émulsine sur la salicine, ne peuvent pas être expliqués par la théorie des auteurs précédents.

13. Expériences de Herzog. — Nous devons enfin mentionner les recherches sur les lois d'action des dias-

tases publiées par Medwedew ⁽¹⁾ sur les oxydases et par Herzog ⁽²⁾ sur la fermentation alcoolique.

Medwedew a surtout étudié l'influence de la concentration du ferment.

Herzog a mesuré la vitesse de fermentation alcoolique du glucose et du lévulose par la zymase de Buchner en déterminant la quantité d'acide carbonique mise en liberté au bout de durées différentes. Ces expériences encore préliminaires montrent que l'expression $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ reste à peu près constante pendant une réaction, la courbe de vitesse semble être une courbe logarithmique ; mais en comparant les résultats pour différentes concentrations en sucre, on voit que l'action suit la même loi que l'invertine ou la salicine : la valeur de K varie lorsqu'on passe d'une concentration à une autre et le produit aK (qui devrait rester constant d'après la théorie de Duclaux) augmente lorsque la concentration a diminue.

14. Résumé de l'histoire. — En résumé, l'examen historique précédent nous montre que l'étude expérimentale des lois d'action des diastases n'est, pour ainsi dire, qu'ébauchée ; le nombre d'expériences systématiques faites jusqu'ici est trop faible pour qu'on puisse s'en servir dans le but de construire une théorie quelconque.

Un fait ressort nettement de cet ensemble, c'est que les actions diastasiques ne se produisent pas en apparence de la même manière que les actions produites

⁽¹⁾ *Pfl. Arch.* 65 (1896), p. 249, 74 (1899), p. 193, 81 (1900), p. 540.

⁽²⁾ *Zeit. physiol. Chem.*, 37, 1902, 149.

par les acides. Donc, en vertu de ce qui a été dit dans l'introduction, on doit en conclure que si les actions diastasiques sont assimilables aux réactions catalytiques de la chimie générale, elles appartiennent à un autre groupe de réactions catalytiques que celles dues aux acides.

Deux problèmes principaux se posent dans l'étude des lois des actions diastasiques : 1° il faut reprendre systématiquement l'étude expérimentale de la question, en faisant varier les conditions d'une manière aussi complète que possible et en se guidant continuellement par les indications de méthodes fournies par la chimie générale ; 2° cette étude expérimentale terminée, discuter les résultats en se plaçant de nouveau au point de vue des lois de la chimie générale et examiner si l'on ne peut pas arriver à une conception générale des lois des actions diastasiques en s'appuyant uniquement sur la loi de l'action des masses et sans avoir recours à des propriétés *sui generis* qui seraient dues seulement aux diastases et qui en formeraient une classe de phénomènes à part.

Tels sont les deux problèmes que je me suis proposé d'étudier.

CHAPITRE II

—

EXPÉRIENCES SUR L'INVERTINE

15. Méthode. — L'invertine qui m'a servi pour les expériences a été préparée au moyen de la levure de bière ; je la broyais avec du sable, la mettais dans de l'eau chloroformée pendant 2 à 4 jours à l'étuve à 25°, filtrais, précipitais par l'alcool et desséchais le précipité obtenu. Cinq préparations différentes m'ont servi pour les expériences, elles étaient préparées avec des levures différentes. De plus, je me suis servi dans quelques expériences de l'invertine commerciale de « Merck ». Toutes ces préparations ont donné des résultats semblables.

Les sucres employés — saccharose, glucose, lévulose, maltose — (pris chez Kahlbaum et Schuckhardt) ont été contrôlés au polarimètre, à la liqueur de Fehling et avec les osazones. Leur pureté au point de vue des substances salines a été déterminée par la mesure de la conductibilité électrique des solutions, cette conductibilité a été trouvée très faible.

Les dosages ont été faits au moyen du polarimètre, sauf pour les solutions très diluées où je me suis servi en même temps de déterminations avec la liqueur de Feh-

ling. La précision des lectures polarimétriques a été très suffisante ; avec le polarimètre Laurent et un tube de 22 centimètres on arrive, après un certain exercice, à lire avec un écart maximum de 2 minutes, et comme dans la plupart des expériences la rotation du plan de polarisation était d'une dizaine de degrés, on voit que les erreurs de lecture devenaient négligeables.

Les expériences ont été faites dans la grande majorité des cas à la température de 25°, les écarts de température de l'étuve n'atteignaient jamais un demi degré pendant une série d'expériences. Il y a une exception pour les séries faites au mois de juillet 1901 où la température extérieure était de 29-30 degrés et la température de l'étuve 31-33°, aussi voit-on que les résultats de ces séries ne sont pas aussi réguliers que ceux des autres époques.

Par suite de l'impossibilité de doser la quantité de ferment, de façon à pouvoir comparer entre elles les expériences de jours différents, il fallait nécessairement faire plusieurs séries le même jour et comparer entre elles les expériences faites dans la même journée avec la même solution d'invertine. C'est une complication que l'on ne rencontre pas dans les expériences avec les acides, et qui oblige de faire un plus grand nombre de séries le même jour sur un plan combiné d'avance.

Un point très important, c'est la manière de préparer les solutions de ferment. Une certaine quantité d'invertine sèche (environ 1 décigramme) était diluée dans un mortier avec de l'eau (50 cc.) puis filtrée quatre ou cinq fois d'abord sur des filtres simples, puis sur filtres durcis de Schleicher et Schühl ; on obtient ainsi une solution opa-

lescente. Si on laisse cette solution qui paraît homogène au repos pendant 2-3 heures, on remarque qu'il se forme un très léger précipité, ou plus exactement la couche inférieure est plus fortement opalescente que la couche supérieure, il faut donc refiltrer encore plusieurs fois en rejetant les quelques centimètres cubes du fond. Ceci étant, la solution de ferment est laissée à l'étuve à 25° pendant encore une ou deux heures et au moment où on s'en sert on l'agite pour plus de précaution.

J'insiste sur ces points qui sont importants, puisque seulement en tenant compte de ces précautions on peut obtenir des résultats précis et bien comparables. Presque dans toutes les séries je faisais au moins deux expériences identiques qui servaient de contrôle, et ces deux expériences étaient « lancées » l'une au début, l'autre à la fin de la série.

Les solutions de sucre étaient faites quelques heures avant les expériences, bouillies et ramenées au volume nécessaire à 25° dans des ballons jaugés à cette température, de sorte que une solution normale en saccharose signifie une solution contenant 342 grammes de saccharose dans un litre de solution à 25°.

Il est important de tenir compte de microorganismes. Un grand nombre de séries ont été faites avec des solutions additionnées de fluorure de sodium à 0,5 ou 1 0/0 ; beaucoup de séries dont la durée ne dépassaient pas dix heures étaient faites sans fluorure de sodium, j'ai fait un grand nombre d'expériences de contrôle qui ont montré que dans ces conditions les erreurs qui pourraient être apportées par les microorganismes étaient insignifiantes.

La dose de fluorure de sodium choisie ne modifie pas l'activité de l'invertine ; plusieurs séries d'expériences ont montré que pour des doses plus faibles il y avait accélération et pour des doses plus fortes ralentissement de la réaction. Du reste, jamais les résultats d'une série avec fluorure de sodium n'étaient combinés avec ceux d'expériences sans fluorure.

16. Etude de la vitesse d'inversion. — Nous avons vu dans la partie historique que, d'après O'Sullivan et Tompson, la marche d'une inversion de saccharose était représentée par la loi logarithmique des acides ; ce résultat est considéré par la plupart des auteurs comme bien établi. J'ai commencé par faire des expériences avec le plus de précaution possible, de façon à étudier si vraiment la marche d'une inversion produite par l'invertine correspondait à la loi logarithmique.

Je portais 50 centimètres cubes d'une solution de saccharose à la température de 25°, et à un moment déterminé j'y ajoutais 2 ou 4 centimètres cubes d'une solution d'invertine portée également à 25°. Immédiatement après le mélange, je versais la solution dans le tube du polarimètre chauffé à 25, et je faisais la première détermination. Entre le moment du mélange et cette première lecture qui servait de point de départ, s'écoulait un intervalle de temps de 2 à 3 minutes. Puis je faisais des lectures polarimétriques à des intervalles déterminés.

Si α_1 est la rotation du plan de polarisation dans la première lecture, α_2 la rotation à la fin lorsque tout le saccharose est interverti, et enfin si α_t est la lecture faite t

minutes après le début de la réaction, le rapport $\frac{\alpha_0 - \alpha}{\alpha_0 - \alpha_1}$ donne la proportion de saccharose qui est intervertie à ce moment, c'est donc la valeur du rapport désigné par $\frac{x}{a}$ qui est donnée par ce calcul.

Exemple : pour une solution contenant 50 centimètres cubes de saccharose demi-normale additionnée de 4 centimètres cubes de solution de ferment, la rotation initiale est $\alpha_0 = +22^{\circ},25'$, lorsque la réaction est terminée la rotation devient $\alpha_1 = -7^{\circ},5'$; 115 minutes après le début on trouve $\alpha = 13^{\circ}5'$, donc la proportion de saccharose intervertie à ce moment est égale à $\frac{22^{\circ}25' - 13^{\circ}5'}{22^{\circ}25' + 7^{\circ}5'} = 0,316$; c'est-à-dire 31,6 0/0 du sucre ont été intervertis pendant les 115 premières minutes; c'est ce rapport 0,316 qui est représenté par la fraction $\frac{x}{a}$.

La formule logarithmique telle qu'on l'obtient par l'action des acides sur le saccharose donne pour l'expression de la constante d'inversion

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x}$$

ou bien

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{1}{1 - \frac{x}{a}}$$

Lorsqu'on calcule les valeurs de cette expression pour les différentes mesures faites pendant une inversion produite par l'invertine, on s'aperçoit qu'elle ne reste pas constante, mais présente une marche croissante bien régulière. Voici quelques exemples qui montrent ces varia-

tions, nous donnons les valeurs de K multipliées par 10^5 , ainsi 105 correspond à 0,00105.

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	K.10 ⁵
I. 25 février 1901. — Saccharose 0,5 normale.		
26 minutes	0,061	105
115 —	0,316	143
182 —	0,487	159
311 —	0,713	174
373 —	0,789	174
511 —	0,892	181
630 —	0,932	185
II. 2 février 1901. — Saccharose 0,5 normale.		
66 minutes	0,038	25
177 —	0,097	26
330 —	0,186	27
487 —	0,267	28
698 —	0,372	29
1 358 —	0,628	32
1 959 —	0,777	33
III. 2 février. — Saccharose 0,2 normale.		
81 minutes	0,101	57
181 —	0,230	63
344 —	0,427	70
502 —	0,577	75
709 —	0,735	81
1 369 —	0,938	88
IV. 2 février 1901. — Saccharose 0,2 normale.		
66 minutes	0,084	58
168 —	0,220	64
334 —	0,426	72
488 —	0,581	77
696 —	0,746	85
1 356 —	0,952	97

On voit nettement que les valeurs de K augmentent depuis le début de la réaction jusqu'à la fin ; l'inversion du saccharose par l'invertine se produit suivant une loi plus rapide que celle de l'inversion par les acides. Voici, du reste, un exemple d'une inversion produite par l'acide chlorhydrique en solution 0,4 normale.

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	K.10 ⁵
<i>4 janvier 1901. — Saccharose normale + HCl 0,4 norm.</i>		
91 minutes	0,220	118
226 —	0,489	129
288 —	0,571	128
385 —	0,675	127
506 —	0,774	128
556 —	0,806	128
866 —	0,923	129
1 545 —	0,986	120

Ce premier résultat étant obtenu, plusieurs questions se posaient. Il fallait d'abord chercher une formule empirique qui représente la marche d'une réaction, et puis il fallait étudier si cet accroissement de la valeur K ne correspondait pas à des transformations du ferment autres que celles qui peuvent être dues à l'action du saccharose et du sucre interverti ; il fallait se demander si l'activité du ferment n'avait pas changé pendant la réaction, c'est-à-dire si le ferment restait pendant une réaction bien comparable à lui-même.

17. Formule empirique représentant la marche d'une inversion. — Pour chercher empiriquement cette formule, j'ai eu recours à un procédé recommandé par Ostwald dans son *Traité de chimie générale* (t. II, 2, p. 265). Puisque la valeur de K augmente à mesure que la proportion de sucre interverti augmente, on peut remplacer dans l'expression de la vitesse de la réaction K par $K_1 \left(1 + \varepsilon \frac{x}{a}\right)$, où K_1 et ε sont deux constantes ; la vitesse de la réaction au moment t devient :

$$\frac{dx}{dt} = K_1 \left(1 + \varepsilon \frac{x}{a}\right) (a - x).$$

En intégrant et en déterminant la constante d'intégration par la condition initiale que pour $t = 0$, x est égal à zéro, on obtient la relation :

$$(I) \quad K_1(1 + \varepsilon) = \frac{1}{t} \left[\ln \frac{a}{a - x} + \ln \left(1 + \varepsilon \frac{x}{a}\right) \right].$$

Si pour plusieurs séries de mesures on calcule les valeurs de ε qui correspondent à la condition que K_1 reste constante pendant toute la durée de la réaction, on trouve pour ε des valeurs comme 1,02 ; 1,04 ; 0,98 ; 1,05 ; 1,01 etc., c'est-à-dire des nombres qui sont très voisins de l'unité. Il était donc tout indiqué de remplacer ε par l'unité, et alors la formule (I) devient plus simple et prend la forme suivante :

$$(II) \quad 2K_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a + x}{a - x}.$$

C'est cette nouvelle expression obtenue d'une manière

absolument empirique qu'il fallait calculer pour différentes séries.

Le résultat obtenu a été très satisfaisant, l'expression (II) reste, en effet, constante depuis le début de la réaction jusqu'à la fin, ou au moins jusqu'à l'inversion des 90 0/0 du sucre.

Je donne quelques exemples. Les tables suivantes contiennent les valeurs de $2 K_1$ multipliées par 10^5 .

I. 25 février 1901. — Saccharose 0,5 normale (v. § 16).
 $2K_1 \cdot 10^5 =$ 204 247 253 249 249 243 230

II. 2 février 1901. — Saccharose 0,5 normale (v. § 16).
 $2K_1 \cdot 10^5 =$ 50 50 50 49 49 47 46

III. 2 février 1901. — Saccharose 0,2 normale (v. § 16).
 $2K_1 \cdot 10^5 =$ 109 113 118 114 115 110

IV. 2 février 1901. — Saccharose 0,2 normale (v. § 16) c. III.
 $2K_1 \cdot 10^5 =$ 111 115 118 117 120 118

Durées	Proportions inverties $\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$
--------	--	--------------------------------------	---

V. 11 janvier 1901. — Saccharose 0,5 normale.

69 minutes	0,042	27	53
183 —	0,112	28	53
392 —	0,240	30	53
504 —	0,305	31	54
1136 —	0,630	38	56

VI. 25 janvier 1901. — Saccharose 0,5 normale.

21 minutes	0,012	25	50
99 —	0,065	29	57
215 —	0,141	31	57
299 —	0,199	32	58
457 —	0,302	34	59
585 —	0,372	34	58
1200 —	0,659	39	57

Par conséquent, lorsqu'il s'agit de représenter la marche d'une inversion depuis le début jusqu'à la fin produite par l'invertine, l'expression

$$2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$$

donne une valeur constante très suffisante.

Cette loi empirique, publiée par moi à la fin de l'année 1901, a été vérifiée ensuite par A. Brown et elle a été trouvée également satisfaisante pour ses expériences. Voici du reste l'exemple donné par A. Brown.

Durées	Proportions inverties	$2K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$
30 minutes	0,130	201	376
64 —	0,256	201	355
120 —	0,454	219	356
180 —	0,619	232	346
240 —	0,738	242	343
300 —	0,831	257	353
360 —	0,890	265	343
420 —	0,935	283	351
480 —	0,961	293	354
540 —	0,983	327	383
581 —	0,990	344	395

Mais cette expression $2K_1$ a le défaut : 1° d'être établie d'une manière purement empirique et 2° de varier lorsqu'on passe d'une concentration de saccharose à une autre, ainsi que nous le verrons plus loin.

18. Preuves que le ferment reste comparable à lui-même pendant toute la durée d'une inversion.

— Un certain nombre d'auteurs ont soutenu que lors-

qu'un ferment produisait une réaction il y avait « usure », le ferment devenait moins actif et par conséquent le début de la réaction n'était pas comparable directement à la fin. Tammann a même étudié comment un ferment (l'émulsine) se transformait avec le temps et en se fondant sur ces expériences, dont un grand nombre sont à critiquer, il a cherché à établir une loi générale qui expliquerait l'action diastasique. Il était important de reprendre cette question pour l'invertine.

Deux méthodes différentes peuvent être employées dans ce but. La première méthode générale consiste à préparer d'avance des solutions de saccharose et de sucre interverti qui correspondent aux divers stades d'une réaction d'inversion, et d'ajouter à ces solutions la même quantité d'invertine. Ainsi, par exemple, on prendra deux solutions, l'une contenant du saccharose 0,5 normale, l'autre un mélange formé de saccharose 0,2 normale et de sucre interverti 0,3 normale, cette deuxième solution correspond donc à la première après inversion des trois cinquièmes du sucre. En ajoutant dans ces deux solutions la même quantité d'invertine et en suivant les deux réactions on pourra décider, si le ferment a changé d'activité ou non pendant la première réaction. En effet, on aura à comparer la vitesse d'une réaction dans laquelle l'invertine aura produit l'inversion des $\frac{3}{5}$ du saccharose avec une réaction où le ferment sera ajouté sans avoir agi auparavant.

Comment comparer ces deux vitesses ? La méthode est toute indiquée d'après ce que nous avons dit dans le paragraphe précédent. En effet, supposons que nous ayons,

d'une part, une solution contenant au début a saccharosé, et, d'autre part, une solution contenant au début a_1 saccharose et i sucre interverti, la somme $a_1 + i$ étant égale à a .

Nous avons vu que pour le premier cas la vitesse au moment t est égale à

$$\frac{dx}{dt} = K \left(1 + \frac{x}{a} \right) (a - x),$$

ou bien :

$$\frac{dx}{2} \left(\frac{1}{a+x} + \frac{1}{a-x} \right) = K_1 dt,$$

en intégrant on obtient :

$$\ln(a+x) - \ln(a-x) = 2K_1 t + \text{constante.}$$

La constante est déterminée par la condition initiale que pour $t = 0, x = 0$, donc la constante est égale à zéro et on obtient :

$$(1) \quad 2K_1 t = \ln \frac{a+x}{a-x}.$$

Pour la deuxième solution on peut discuter le problème en supposant que la position initiale correspond à un certain stade d'une réaction contenant au début $a_1 + i$ saccharose, c'est-à-dire a saccharose, et qui, après un temps égal à t_1 contient a_1 saccharose et i sucre interverti ; c'est à partir de ce moment que l'on compte les durées et on trouve que t minutes après le début de cette réaction la solution contient $i + x$ sucre interverti, et $a_1 - x$, c'est-à-dire $a - i - x$ saccharose.

La vitesse au moment t a donc pour expression :

$$\frac{dx}{dt} = K_1 \left(1 + \frac{i+x}{a} \right) (a - i - x),$$

ou bien

$$\frac{dx}{2} \left(\frac{1}{a+i+x} + \frac{1}{a-i-x} \right) = K_1 dt;$$

l'intégration donne

$$\ln(a+i+x) - \ln(a-i-x) = 2K_1 t + \text{constante.}$$

Pour déterminer la constante nous remarquons qu'au début pour $t = 0$, x est égal à 0, donc

$$\text{Constante} = \ln(a+i) - \ln(a-i);$$

en remplaçant dans l'équation précédente on obtient :

$$2K_1 t = \ln(a+i+x) - \ln(a-i-x) - \ln(a+i) + \ln(a-i).$$

Nous pouvons enfin simplifier encore en remplaçant a par $a_1 + i$, on obtient ainsi pour formule définitive :

$$(II) \quad 2K_1 = \frac{1}{t} \left[\ln \frac{a_1 + 2i + x}{a - x} - \ln \frac{a_1 + 2i}{a} \right].$$

Par conséquent, si le ferment reste bien comparable à lui-même pendant la réaction, la valeur $2K_1$, calculée pour la première réaction d'après la formule (I) doit être égale à la valeur de $2K_1$, calculée pour la deuxième réaction d'après la formule (II).

Un grand nombre de séries faites dans ce but et calculées par cette méthode ont donné une concordance

complète pour les valeurs de $2K_1$. Donnons plusieurs exemples :

11 janvier 1901. — Saccharose 0,5 normale. $a = 0,5$.

Durées	Proportions inverties $\frac{x}{a}$	$2K_1 \cdot 10^5$
69 minutes	0,042	53
183 —	0,112	53
392 —	0,240	53
504 —	0,305	54
1 136 —	0,630	56

Moyenne : 53,7.

11 janvier 1901. — Saccharose 0,3 normale + sucre inverti
0,2 normal. $a_1 = 0,3$; $i = 0,2$.

	Proportions inverties $\frac{x}{a_1}$	
77 minutes	0,054	44
187 —	0,137	47
498 —	0,311	54
566 —	0,383	54
1 128 —	0,678	54

Moyenne : 50,6.

11 janvier 1901. — Saccharose 0,2 normale + sucre inverti
0,3 normal. $a_1 = 0,2$; $i = 0,3$.

71 minutes	0,057	44
183 —	0,157	50
393 —	0,355	52
502 —	0,428	57
1 128 —	0,719	55

Moyenne : 51,3.

Durées	Proportions inverties $\frac{x}{a_1}$	$2K_1 10^5$
--------	--	-------------

11 janvier 1901. — Saccharose 0,5 normale, $a = 0,5$
(comme la 1^{re} série).

75 minutes	0,037	43
186 —	0,103	48
399 —	0,228	50
505 —	0,292	51
557 —	0,322	51
1 120 —	0,589	52
1 172 —	0,611	52

Moyenne : 49,6.

25 février 1901. — Saccharose 1 normale, $a = 1,0$.

108 minutes	0,122	98
176 —	0,199	99
304 —	0,334	99
361 —	0,389	98
506 —	0,511	97
625 —	0,594	95
1 304 —	0,854	85

Moyenne : 96.

25 février 1901. — Saccharose 0,5 norm. + sucre inverti
0,5 norm. $a_1 = 0,5$; $i = 0,5$.

109 minutes	0,161	91
177 —	0,256	91
304 —	0,412	94
361 —	0,472	95
506 —	0,604	95
625 —	0,682	94

Moyenne : 93.

Durées	Proportions inverties $\frac{a_1}{x}$	$2K_1 \cdot 10^5$
25 février 1901. — Saccharose 0,2 norm. + sucre inverti 0,8 norm. $a_1 = 0,2$; $i = 0,8$.		
40 minutes	0,075	94
117 —	0,211	96
231 —	0,378	96
303 —	0,480	100
490 —	0,658	101
596 —	0,720	98

Moyenne : 97.

25 Février 1901. — Saccharose 0,5 norm. + Sucre inverti 0,2 norm. $a_1 = 0,5$; $i = 0,2$;

La moyenne des valeurs de $2 K_1 \cdot 10^5$ est égale à 162.

25 Février 1901. — Saccharose 0,2 norm. + Sucre inverti 0,5 norm. $a_1 = 0,2$; $i = 0,5$;

La moyenne est égale à 168.

18 Janvier 1901. — Saccharose 0,3 norm. + Sucre inverti 0,2 norm. $a_1 = 0,3$; $i = 0,2$;

La moyenne est égale à 19.

18 Janvier 1901. — Saccharose 0,2 norm. + Sucre inverti 0,3 norm. $a_1 = 0,2$; $i = 0,3$;

La moyenne est égale à 18.

18 Janvier 1901. — Saccharose 0,4 norm. + Sucre inverti 0,4 norm. $a_1 = 0,4$; $i = 0,4$;

La moyenne est égale à 16.

Ces résultats montrent que l'on a le droit de considérer le ferment comme restant comparable à lui-même pendant toute la durée de l'inversion ; le fait que le ferment a produit une inversion n'influe pas sur son activité.

Mais il existe une deuxième méthode qui permet de déduire la même conclusion. Cette méthode consiste à ajouter à des moments différents dans des réactions identiques la même quantité de saccharose ou de sucre interverti et de suivre la réaction après cette addition. Ainsi, par exemple, prenons trois flacons contenant le même volume d'une solution de saccharose 0,5 normale ; ajoutons dans ces trois flacons la même quantité d'invertine et suivons la réaction. Dans le premier flacon nous ajouterons après 90 minutes une nouvelle quantité de saccharose qui fera élever le titre de cette solution de 0,13 normale ; dans le deuxième flacon nous ajouterons cette même quantité de saccharose après 170 minutes et enfin dans le troisième flacon après 420 minutes. Si le ferment est resté comparable à lui-même pendant toute la durée de l'inversion, les valeurs de $2K_1$ calculées pour ces trois séries après l'addition de saccharose devront être égales entre elles. L'expérience montre que cette égalité a lieu. Voici quelques exemples :

8 février 1901. — I. Saccharose 0,5 norm. Après 90 minutes addition de 0,13 norm. de saccharose.

Durées	Proportions interverties	$2K_1 \cdot 10^5$
25 minutes	0,052	183
86 —	0,197	201

Durées	Proportions interverties	$2K_{1.10^5}$
Addition de saccharose.		
170 —	0,286	155
257 —	0,421	154
322 —	0,510	154
419 —	0,627	154
492 —	0,698	154
558 —	0,752	153

Moyenne : 154.

II. Saccharose 0,5 norm. Après 170 minutes addition de 0,13 norm. saccharose.

26 minutes	0,052	178
87 —	0,191	193
167 —	0,358	194

Addition de saccharose.

258 —	0,416	152
322 —	0,510	156
420 —	0,627	155
493 —	0,698	154
558 —	0,752	154

Moyenne : 154.

III. Saccharose 0,5 norm. Après 420 minutes addition de 0,13 norm. saccharose.

26 minutes	0,052	179
87 —	0,190	192
166 —	0,357	195
257 —	0,522	196
321 —	0,620	196
416 —	0,734	196

Addition de saccharose.

493 —	0,656	149
558 —	0,718	154

Moyenne : 152.

IV. Saccharose 0,2 normale. Après 88 minutes addition de 0,13 norm. saccharose.

La moyenne de $2 K_1 \cdot 10^5$ après addition est égale à 315.

V. Saccharose 0,2 normale. Après 168 minutes, addition de 0,13 norm. saccharose.

La moyenne après addition est égale à 321.

VI. Saccharose 0,1 normale. Après 33 minutes, addition de 0,13 norm. saccharose.

La moyenne après addition est égale à 451.

VII. Saccharose 0,1 normale. Après 108 minutes, addition de 0,13 norm. saccharose.

La moyenne après addition est égale à 434.

VIII. Saccharose 0,1 normale. Après 181 minutes, addition de 0,13 norm. saccharose.

La moyenne après addition est égale à 449.

On voit donc nettement que les valeurs de $2K_1$ sont les mêmes pour les trois premières séries, pour les séries IV et V et aussi pour les séries VI, et VII VIII. Les écarts sont inférieurs aux causes d'erreur des expériences.

Par conséquent, cet ensemble de faits nous montre que dans la discussion de la loi d'action du ferment on peut considérer celui-ci comme restant comparable à lui-même depuis le début jusqu'à la fin de la réaction ; on n'aura à tenir compte que de la composition du milieu pour en déduire la vitesse de la réaction.

Mais ces faits nous apprennent aussi un autre point très important pour la discussion des lois des diastases, c'est l'action du sucre interverti.

19. Action des produits de la réaction sur la vitesse d'inversion. — Nous avons vu dans la partie historique quelle importance Duclaux attribuait à l'action du sucre interverti sur le ferment. Les auteurs ne sont pas tous d'accord entre eux pour ce qui concerne l'action exercée par les produits de la réaction sur la diastase ; c'est ainsi, par exemple, qu'Effront (*Les enzymes*, p. 98) dit que l'addition du sucre interverti ne ralentit pas la réaction produite par l'invertine.

Lorsque l'on compare deux réactions dont l'une contient au début du saccharose et l'autre la même quantité de saccharose additionnée d'une certaine quantité de sucre interverti, on voit immédiatement que l'inversion par la diastase se produit plus lentement dans la deuxième réaction. L'addition du sucre interverti ralentit une inversion produite par l'invertine. Il s'agit d'étudier quantitativement le degré de ce ralentissement en rapport avec la quantité de saccharose et de sucre interverti additionné.

Voici d'abord quelques résultats numériques obtenus pour 17 séries d'expériences faites simultanément le même jour avec la même quantité de ferment. Les nombres suivants indiquent les proportions de saccharose interverties au bout d'un certain temps ; les six premières séries contenaient toutes au début la même quantité de saccharose, le titre en saccharose était 0,5 normale.

Solutions		Proportions interverties après 110 minutes
1. Sacch. 0,5 norm.	32 p. 100
2. — 0,5 — + sucre interv. 0,1 norm.	28 —
3. — 0,5 — + — 0,2 —	25 —
4. — 0,5 — + — 0,3 —	22 —
5. — 0,5 — + — 0,4 —	18 —
6. — 0,5 — + — 0,5 —	16 —

Les sept séries suivantes contiennent 0,2 normale de saccharose.

Solutions						Proportions interverties après 45 minutes	
7.	Sacch.	0,2	norm.	.	.	33	p. 100
8.	—	0,2	—	+	sucres intervert.	0,4	norm.
9.	—	0,2	—	+	—	0,2	—
10.	—	0,2	—	+	—	0,3	—
11.	—	0,2	—	+	—	0,4	—
12.	—	0,2	—	+	—	0,5	—
13.	—	0,2	—	+	—	0,8	—

Enfin les quatre dernières séries contenaient au début 0,05 normale de saccharose.

Solutions						Proportions interverties après 35 minutes	
14.	Sacch.	0,05	norm.	.	.	60	p. 100
15.	—	0,05	norm.	+	sucres intervert.	0,5	norm.
16.	—	0,05	—	+	—	0,1	norm.
17.	—	0,05	—	+	—	0,5	norm.

L'examen attentif des nombres précédents indique les points essentiels relatifs au mode d'action du sucre interverti. Nous voyons que :

1° L'action ralentissante exercée par le sucre interverti, pour une même quantité initiale de saccharose, est d'autant plus forte que la quantité de sucre interverti est plus grande.

2° L'action ralentissante exercée par le sucre interverti ne dépend pas uniquement de la quantité de sucre, elle dépend également de la quantité de saccharose présente dans la solution. Ainsi, nous voyons que l'addition de 0,1 n. de sucre interverti fait baisser la proportion de saccharose hydrolysé de 32 à 28 pour des solutions conte-

nant 0,5 n. de saccharose et de 33 à 26 pour les solutions 0,2 normales ; de même l'addition de 0,5 n. de sucre interverti fait baisser la proportion intervertie pour les solutions 0,5 norm. de 32 à 16, pour les solutions 0,2 norm. de 33 à 11 et enfin pour les solutions 0,05 norm. de 60 à 13.

3° Une même quantité de sucre interverti exerce une action ralentissante d'autant plus forte que la quantité de saccharose qui se trouve dans la solution est plus faible. C'est un résultat très important pour la discussion théorique de l'action des diastases.

Les mêmes conclusions résultent des expériences dans lesquelles au lieu d'ajouter le sucre interverti au début on l'ajoute au milieu d'une réaction. Je donne quelques exemples d'additions de sucre interverti et de saccharose au milieu d'une réaction. Les nombres suivants indiquent les quantités de saccharose en milligrammes interverties en moyenne par minute pendant un intervalle de temps de 55 minutes après l'addition du sucre.

Solutions	Inversion moyenne par minute entre la 200 ^e et 255 ^e minute
Sacch. 0,5 n. (conten. 8 ^{gr} ,55 sacch. dans 50 ^{cc}).	16,2 milligr.
Sacch. 0,5 n. après 200 m. addit. de 2 ^{gr} ,56 sac.	19,5 —
Sac. 0,5 n. apr. 200 m. ad. de 5 ^{gr} ,13 sac . . .	19,8 —
Sac. 0,5 — 200 — 1, 8 suc. interv.	12,1 —
Sac. 0,5 — 200 — 3, 6 —	10,9 —

Solutions	Inversion entre la 80 ^e et la 140 ^e minute
Sacch. 0,2 n. (conten ^t 3 ^{gr} ,42 sacch. dans 50 ^{cc}) .	14,8 mgr. p. min.
Sacch. 0,2 n. apr. 80 min. addit. de 2 ^{gr} ,56 sac.	24,5 —
Sacch. 0,2 — — — 5, 12 sac.	26,9 —
Sac. 0,2 n. apr. 80 m. addit. de 1 ^{gr} ,8 suc. int.	9,4 —
Sac. 0,2 n. apr. 80 m. addit. de 3 ^{gr} ,6 sucre int.	6,3 —

Ces expériences confirment d'abord les résultats précédents : l'addition du sucre interverti ralentit la réaction d'autant plus que la quantité de sucre interverti ajoutée est plus grande et que la quantité de saccharose présente dans la solution est plus faible. Mais ils montrent encore un autre résultat qui ne ressortait pas directement des expériences précédentes. On voit, en effet, que l'addition de saccharose au milieu d'une réaction augmente la vitesse. C'est un fait sur lequel il faut s'arrêter un peu.

Si nous prenons la solution de saccharose 0,5 norm. et que nous y ajoutions au début, avant que la réaction ait encore commencé, 2 gr. 56 de saccharose, nous voyons que cette addition de saccharose *n'influe pas* sur la vitesse au début. Ainsi pendant les 90 premières minutes pour les solutions 0,5 normale, 24 milligr. 6 saccharose sont intervertis en moyenne par minute, pour la même solution 0,5 normale additionnée de 2 gr. 56 saccharose nous trouvons 24 mgr. 8 saccharose interverti par minute, enfin pour la solution 0,5 normale additionnée au début de 5 gr. 13 saccharose nous trouvons encore 24 mgr. 5 saccharose interverti par minute. Et exactement le même résultat est obtenu pour les solutions de saccharose 0,2 normale, additionnées au début de 2 gr. 56 ou de 5 gr. 12 de saccharose.

L'addition de saccharose n'a pas d'influence sur les vitesses d'inversion lorsque cette addition est faite au début de la réaction (à condition que les solutions de saccharose ne soient pas plus diluées que 0,1 normale) ; mais l'addition de la même quantité de saccharose au milieu d'une réaction fait augmenter la vitesse d'inversion. Ainsi,

lorsqu'après 200 minutes on ajoute 5 gr. 13 de saccharose à la solution 0,5 normale dans laquelle à ce moment 48 0/0 du saccharose ont été hydrolysés, on voit que la vitesse moyenne par minute devient égale à 19,8 au lieu de 16,2.

On comprend bien ce résultat, lorsqu'on se représente la composition du milieu au moment de l'addition. En effet, le sucre interverti qui s'est accumulé dans la solution exercera une action ralentissante qui sera d'autant plus faible que la quantité de saccharose, sera plus forte ; on augmente la quantité de saccharose donc, par ce fait même, on diminue l'action ralentissante exercée par le sucre interverti qui se trouve dans la solution et il en résulte une accélération de la vitesse de la réaction.

Je remarque enfin que ces différents points contredisent la théorie de Brown que nous avons exposée plus haut (§ 11).

20. L'action ralentissante du sucre interverti est due presque uniquement au lévulose. — Il était intéressant de chercher si l'action ralentissante exercée par le sucre interverti était produite également par les deux sucres glucose et lévulose qui apparaissent dans l'hydrolyse, ou bien s'il y avait une différence entre les deux sucres. Plusieurs séries d'expériences ont montré que l'action exercée par le lévulose était bien plus forte que celle exercée par le glucose. Voici quelques exemples qui contiennent les proportions interverties pour différentes solutions.

22 janvier 1902 :

Durées	Saccharose 0,2 normale	Sacch. 0,2 norm. + Glucose 0,2 norm.	Sacch. 0,2 norm. + Levulose 0,2 n.	Sacch. 0,2 norm. + Suc. interv. 0,2 n.
75 minutes	0,142	0,144	0,123	0,119
184 —	0,385	0,362	0,317	0,306
275 —	0,564	0,532	0,457	0,440
445 —	0,798	0,746	0,672	0,648
605 —	0,906	0,878	0,799	0,794

Nous reviendrons sur ce résultat dans la partie théorique de ce travail.

21. Action de la concentration du saccharose sur la vitesse d'inversion. — Jusqu'ici nous avons considéré seulement la vitesse d'une réaction d'inversion sans nous préoccuper de la concentration initiale du saccharose. Examinons maintenant cette action sur laquelle on trouve dans la littérature un assez grand nombre de renseignements, ainsi que nous l'avons indiqué dans l'historique.

Lorsqu'on compare les vitesses d'inversion de différentes réactions avec des concentrations différentes de saccharose, on s'aperçoit que tantôt la concentration a une influence sur la vitesse, tantôt elle n'en a pas; tout dépend du degré de concentration du sucre. Ainsi pour des solutions comprises en 0,1 normale et 0,5 normale, la vitesse d'inversion du début est presque la même, quelle que soit la concentration du sucre. Mais si on prend des solutions plus diluées que 0,1 normale on voit que la vi-

tesse d'inversion diminue avec la concentration. Pour des solutions au-dessus de 0,5 normale la vitesse diminue à mesure que la concentration augmente.

L'action de la quantité de sucre est donc très complexe et ne ressemble pas à ce qu'elle est pour l'inversion produite par des acides. Voici quelques exemples. Les nombres suivants expriment les quantités de saccharose interverties en moyenne par minute au début de chaque réaction.

1^{er} mai 1902 :

Solutions		Quantités interverties par minute	
0,01	normale	0,58	milligrammes
0,025	—	1,41	—
0,05	—	2,40	—
0,1	—	2,96	—
{ 0,25	—	4,65	—
{ 0,25	—	4,66	—
{ 0,5	—	5,04	—
{ 0,5	—	5,04	—
{ 1,0	—	4,45	—
{ 1,0	—	4,45	—
1,5	—	2,82	—
2,0	—	1,45	—

La concentration du saccharose exerce une influence nette au-dessous de 0,25 normale, mais la vitesse n'est pas proportionnelle à la quantité de sucre, elle augmente plus lentement que cette dernière ; ainsi nous voyons que, en passant de la solution 0,025 normale à la solution 0,1 normale qui est quatre fois plus concentrée, la vitesse a augmenté seulement du double (de 1,41 à 2,96) ; et de même en passant de la solution 0,025 normale à la solu-

tion dix fois plus concentrée 0,25 normale la vitesse devient un peu plus de trois fois plus grande. L'influence est donc très compliquée et aucune relation simple ne semble ressortir de l'examen des nombres expérimentaux.

La diminution de vitesse pour les fortes concentrations est également intéressante, mais nous sommes là en présence d'anomalies qui se rencontrent très souvent pour les solutions concentrées, et il est très difficile de chercher des interprétations théoriques de ce ralentissement de vitesse. Nous devons donc nous arrêter sur l'étude des solutions diluées.

22. Action de la quantité de diastase sur la vitesse d'inversion. — Cette question a été étudiée un grand nombre de fois pour différents ferments; plusieurs auteurs ont montré que la vitesse d'inversion était proportionnelle à la quantité d'invertine. Ainsi, par exemple, O'Sullivan et Tompson ont déterminé le temps nécessaire pour intervertir 74 0/0 du saccharose, lorsqu'on met différentes quantités de ferment; ils trouvent à la température de : 15,5 pour 0 gr. 15 d'invertine 283 minutes

»	0 gr. 45	»	94,8	»
»	1 gr. 5	»	30,7	»

les produits de la quantité de diastase par la durée sont égaux à 424,5, 426,6 et 460,5. Il y a donc proportionnalité entre la vitesse d'inversion et la quantité de ferment.

J'ai fait plusieurs séries pour étudier l'influence de la quantité d'invertine et les résultats montrent la même proportionnalité.

Voici quelques exemples.

Solutions	2 cc. invertine	4 cc. invertine	6 cc. invertine
Sacch. 0,1 norm.	73	148	226
— 0,2 —	36	78	114
— 0,5 —	22 (?)	33	48

Les nombres précédents sont les valeurs moyennes de $2K_1$; on voit que ces valeurs sont proportionnelles aux quantités de ferment.

23. Première interprétation théorique des résultats sur l'action de l'invertine. *Formule de M. Bodenstein.* — M. Bodenstein, assistant au laboratoire d'Ostwald à Leipzig, en étudiant les résultats de mes expériences ⁽¹⁾, a proposé une première interprétation théorique de ces résultats. Je suis heureux de pouvoir exprimer ici mes remerciements à M. Bodenstein pour les nombreux conseils qu'il m'a donnés dans l'étude de l'action des diastases. L'hypothèse qui sert de point de départ à la théorie de Bodenstein c'est que le saccharose diminue l'activité du ferment. Lorsqu'on met une certaine quantité Φ de ferment dans un mélange contenant a_1 saccharose et i sucre interverti, l'activité du ferment est diminuée : 1° par le saccharose et 2° par le sucre interverti.

Cette diminution de l'activité du ferment est en plus supposée proportionnelle à la quantité de saccharose et de sucre interverti, de sorte que l'on peut raisonner comme

⁽¹⁾ V. Henri, *Ueber das Gesetz der Wirkung des Invertins*. *Zeit. phys. Chem.*, 39, 1901, 194-216.

si, au lieu de la quantité Φ de ferment, on en avait une proportion $\frac{\Phi}{ma_1 + ni}$ où m et n sont deux constantes.

Puisque les expériences montrent qu'une inversion de saccharose se produit plus rapidement que d'après la loi logarithmique des acides, on peut en déduire que l'action retardatrice exercée par le sucre interverti est plus faible que celle qui est exercée par le saccharose, donc, Bodenstein conclut que m doit être plus grand que n .

La vitesse d'inversion au moment t , lorsque la quantité x de saccharose a été hydrolysée, sera donc représentée par la formule :

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_2 \Phi}{m(a_1 - x) + n(i + x)} \cdot (a_1 - x)$$

ou bien

$$dx \left[m + \frac{ni}{a_1 - x} + \frac{na_1}{a_1 - x} - n \right] = K_2 \Phi \cdot dt.$$

En intégrant on obtient

$$(m - n)x - n(a_1 + i) \ln (a_1 - x) = K_2 \Phi t + \text{constante.}$$

Pour déterminer la constante posons $t = 0$ pour $x = 0$, on a alors :

$$\text{Constante} = -n(a_1 + i) \ln a.$$

Donc la formule définitive devient

$$K_2 \Phi = \frac{1}{t} \left[(m - n)x + n(a_1 + i) \ln \frac{a_1}{a_1 - x} \right],$$

ou encore

$$(I) \quad K_2 \Phi = \frac{a_1 + i}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a_1 + i} + n \ln \frac{a_1}{a_1 - x} \right].$$

La constante K_2 calculée d'après cette équation, une fois les valeurs de m et n choisies, doit rester constante, d'une part, pendant toute la durée d'une inversion et, d'autre part, lorsqu'on passe d'une concentration de saccharose à une autre.

Si au début on met le ferment dans une solution contenant seulement du saccharose en quantité a , l'expression (I) se simplifie et devient :

$$(II) \quad K_2\Phi = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right]$$

En cherchant par tâtonnement les valeurs de m et de n qui correspondent le mieux à mes expériences, M. Bodenstein arrive à choisir $m = 2$ et $n = 1$, dans ce cas la constante de Bodenstein prend la forme simple :

$$(III) \quad K_2\Phi = \frac{a}{t} \left[\frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a - x} \right].$$

Dans cette expression c'est le logarithme naturel qui doit être calculé.

Cette nouvelle constante s'est trouvée très satisfaisante pour un grand nombre de séries. Voici quelques exemples :

Durées	Proportions interverties	$K_2\Phi \cdot 10^6$
25 février 1901. — Saccharose 0,5 normale $a = 0,5$.		
26 minutes	0,061	238
115 —	0,316	303
182 —	0,487	321
311 —	0,713	316
373 —	0,789	315
511 —	0,892	312
630 —	0,932	288

Moyenne : 298.

Durées	Proportions interverties	$K_2\Phi.10^6$
15 juillet 1901. — Saccharose 0,588 normale.		
47 minutes	0,048	121
163 —	0,174	131
245 —	0,264	137
365 —	0,378	137
547 —	0,525	136
1171 —	0,807	123

Moyenne : 131.

Voici deux exemples pour des séries dans lesquelles à un certain moment on ajoutait une certaine quantité de saccharose.

8 février 1901. — Saccharose 0,5 normale. Après 420 minutes addition de 0,13 saccharose

26 minutes	0,052	204
87 —	0,190	230
166 —	0,357	241
257 —	0,522	245
321 —	0,620	251
416 —	0,734	247

Moyenne : 236.

Addition de saccharose.

493 —	0,656	238
558 —	0,718	255

Moyenne : 246.

8 février 1901. — Saccharose 0,5 normale. Après 90 minutes addition de 0,13 saccharose

25 minutes	0,052	212
86 —	0,197	242

Moyenne : 227.

Addition de saccharose.

170	—	0,286	221
257	—	0,421	235
322	—	0,510	239
419	—	0,627	243
492	—	0,698	244
558	—	0,752	243

Moyenne : 237.

On voit que dans ces deux dernières séries la valeur moyenne de la nouvelle constante K_2 reste la même après l'addition du saccharose.

Enfin voici les valeurs moyennes de ces constantes, calculées par Bodenstein pour les différentes séries d'expériences.

11 janvier 1901 :

Sacch. 0,5 norm.	$a = 0,5$	$K_2 \Phi \cdot 10^6 = 662$
— 0,5 —	$a = 0,5$	— 656
— 0,3 — + s. int. 0,2	$a_1 = 0,3 ; i = 0,2$	— 654
— 0,2 — + — 0,3	$a_1 = 0,2 ; i = 0,3$	— 678
— 0,3 —	$a = 0,3$	— 554
— 0,2 —	$a = 0,2$	— 567
— 0,1 — + s. int. 0,4 n.	$a_1 = 0,1 ; i = 0,1$	— 611
— 0,1 —	$a = 0,1$	— 474

18 janvier 1901 :

Sacch. 0,3 norm.	$a = 0,3$	$K_2 \Phi \cdot 10^6 = 266$
— 0,2 —	$a = 0,2$	— 227
— 0,1 —	$a = 0,1$	— 274
— 0,5 —	$a = 0,05$	— 233
— 0,3 — + s. int. 0,2 n.	$a_1 = 0,3 ; i = 0,2$	— 253
— 0,2 — + — 0,3 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,3$	— 233
— 0,1 — + — 0,4 n.	$a_1 = 0,1 ; i = 0,4$	— 203

25 janvier 1901. — 2 cc. ferment ajoutés à 50 cc. de solution de sucre.

Sacch. 0,5 norm.		$a = 0,5$	$K_2\Phi.10^6 = 65,8$
— 0,2 —	+ s. int. 0,3 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,3$	— 54,2
— 0,4 —		$a = 0,4$	— 73,5
— 0,2 —		$a = 0,2$	— 58,4
— 0,1 —		$a = 0,1$	— 58,1
— 0,05 —		$a = 0,05$	— 44,1

25 janvier 1901. — 4 cc. ferment ajoutés à 50 cc. de solution de sucre.

Sacch. 0,5 norm.		$a = 0,5$	$K_2\Phi.10^6 = 125$
— 0,2 —	+ s. int. 0,3 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,3$	— 157
— 0,2 —		$a = 0,2$	— 126
— 0,1 —		$a = 0,1$	— 122

25 février 1901 :

Sacch. 1 norm.		$a = 1$	$K_2\Phi.10^6 = 237$
— 0,5 —	+ s. int. 0,5 n.	$a_1 = 0,5 ; i = 0,5$	— 241
— 0,2 —	+ — 0,8 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,8$	— 241
— 0,5 —	+ — 0,4 n.	$a_1 = 0,5 ; i = 0,4$	— 258
— 0,8 —		$a = 0,8$	— 267
— 0,5 —	+ — 0,3 n.	$a_1 = 0,5 ; i = 0,3$	— 275
— 0,5 —	+ — 0,2 n.	$a_1 = 0,5 ; i = 0,2$	— 289
— 0,2 —	+ — 0,5 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,5$	— 292
— 0,5 —	+ — 0,1 n.	$a_1 = 0,5 ; i = 0,1$	— 305
— 0,2 —	+ — 0,4 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,4$	— 320
— 0,5 —		$a = 0,5$	— 298
— 0,2 —	+ — 0,3 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,3$	— 330
— 0,2 —	+ — 0,2 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,2$	— 325
— 0,2 —	+ — 0,1 n.	$a_1 = 0,2 ; i = 0,1$	— 315
— 0,2 —		$a = 0,2$	— 338
— 0,05 —	+ — 0,1 n.	$a_1 = 0,05 ; i = 0,1$	— 295
— 0,05 —	+ — 0,05	$a_1 = 0,05 ; i = 0,05$	— 253
— 0,05 —		$a = 0,05$	— 201
— 0,05 —	+ — 0,5 n.	$a_1 = 0,05 ; i = 0,5$	— 275

L'examen de ces nombres montre que la valeur K_2 reste bien constante pour les séries faites avec des concentra-

tions de saccharose au-dessus de 0,1 normale. Au contraire, on voit dans les séries précédentes que pour des concentrations plus faibles, (0,05 normale), les valeurs K_2 s'écartent de la moyenne.

24. La formule de Bodenstein ne s'applique pas aux solutions diluées. — Il était nécessaire de faire des expériences en portant son attention sur les solutions diluées. Ces expériences ont montré que la constante de Bodenstein ne s'appliquait plus aux cas de ces solutions diluées. Voici, en effet, quelques exemples qui montrent nettement ce résultat.

1^{er} mai 1902 :

Saccharose 0,01 normale	$K_2 \Phi \cdot 10^4 = 100$
— 0,025 —	— 243
— 0,05 —	— 358
— 0,1 —	— 513
— 0,25 —	— 650
— 0,25 —	— 666
— 0,5 —	— 650
— 0,5 —	— 652
— 1 —	— 545
— 1 —	— 545
— 1,5 —	— 340
— 2 —	— 140

8 mai 1902 :

Saccharose 0,01 normale	— 174
— 0,01 —	— 205
— 0,025 —	— 280
— 0,025 —	— 280
— 0,05 —	— 455
— 0,05 —	— 445

Saccharose	0,1	normale	$K_2 \Phi \cdot 10^4 =$	565
—	0,1	—	—	575
—	0,2	—	—	600
—	0,2	—	—	630
—	0,2	—	—	600
—	0,5	—	—	660
—	1	—	—	500

30 mai 1902 (température 31°).

Saccharose	0,01	normale	—	188
—	0,01	—	—	209
—	0,025	—	—	457
—	0,025	—	—	302
—	0,05	—	—	920
—	0,05	—	—	920
—	0,1	—	—	840
—	0,1	—	—	630
—	0,2	—	—	724
—	0,2	—	—	662
—	0,5	—	—	610
—	0,5	—	—	585
—	1	—	—	490

La formule de Bodenstein ne peut donc pas être considérée comme définitive, puisqu'elle n'exprime pas les résultats pour les solutions diluées, pour lesquelles, comme on sait, les lois de la chimie générale s'appliquent en général mieux que pour les solutions de concentration moyenne.

De plus, cette formule de Bodenstein est fondée sur l'hypothèse que le saccharose et le sucre interverti exercent une action retardatrice sur le ferment, mais elle ne donne aucune interprétation de cette action retardatrice qui est supposée être proportionnelle à la quantité de sucre.

CHAPITRE III

—

THÉORIE DE L'ACTION DE L'INVERTINE

25. Théorie de l'action de l'invertine. — J'ai repris l'étude de l'action de l'invertine sur le saccharose en prenant comme point de départ un certain nombre d'hypothèses qui peuvent être justifiées par des expériences.

On sait que *Emil Fischer* ⁽¹⁾ a montré qu'entre l'action d'une diastase et la constitution stéréochimique d'un corps sur lequel elle agit existe une relation très étroite, de sorte que l'on peut prévoir d'avance si un ferment donné pourra hydrolyser un corps déterminé ou bien s'il restera sans action sur ce corps. Et, inversement, lorsqu'on trouve qu'un certain corps est hydrolysé par un ferment, on peut affirmer que la constitution chimique de ce corps a une forme déterminée.

Ce résultat capital a été confirmé depuis par plusieurs auteurs. C'est ainsi que nous savons, d'après les recherches de E. Fischer, que l'invertine agit sur les sucres qui donnent le lévulose par hydrolyse (saccharose, raffinose,

⁽¹⁾ E. Fischer, *Zeit. f. physiol. Chem.*, 16,

gentiobiose); que l'émulsine agit sur les sucres et les glycosides qui donnent du galactose et ainsi de suite.

Fischer a conclu de ses recherches sur les diastases que le ferment formait avec le corps à transformer une combinaison chimique intermédiaire, laquelle se décomposait ensuite en régénérant le ferment primitif.

L'étude de la vitesse d'inversion du saccharose, et surtout l'étude de l'influence de la concentration du sucre, montre que cette inversion suit des lois complexes qui rappellent celles que nous avons rencontrées en étudiant les réactions catalytiques, dans lesquelles il y avait formation de combinaisons intermédiaires. Il est donc naturel de chercher à expliquer l'action de l'invertine sur le saccharose en supposant qu'il y a formation de combinaisons intermédiaires.

Mais, d'autre part, nous avons vu que le sucre interverti exerçait également une action sur la vitesse de la réaction, donc pour expliquer cette action nous ferons l'hypothèse de l'existence d'une combinaison intermédiaire entre le ferment et le sucre interverti. On pourrait même dire que cette combinaison intermédiaire a lieu entre le ferment et le lévulose, puisque nous avons vu dans le § 20 que l'action retardatrice du sucre interverti était due presque uniquement au lévulose. De cette façon l'action des produits de la réaction se trouve rapprochée du résultat de E. Fischer, d'après lequel l'invertine hydrolyse les sucres qui donnent du lévulose par dédoublement.

Dans la classification générale des actions catalytiques, nous avons vu que l'on pouvait soit admettre la formation de combinaisons intermédiaires complètes, soit, au con-

traire, supposer la formation de combinaisons incomplètes avec existence d'un certain état d'équilibre entre le catalysateur et le corps à transformer.

L'hypothèse de combinaisons complètes conduisait à une équation de la vitesse ayant pour expression $\frac{dx}{dt} = K$, la courbe serait donc dans ce cas une ligne droite.

Ces considérations théoriques nous conduisent donc à supposer que les combinaisons intermédiaires entre le ferment et le saccharose, ainsi que entre le ferment et le sucre interverti, sont incomplètes et donnent lieu à des états d'équilibre.

Enfin, si nous admettons que ces combinaisons sont incomplètes, il en résulte qu'une certaine partie du ferment restera non combinée; deux suppositions se présentent donc à l'esprit: 1° On pourra supposer que la partie de ferment non combinée agit sur le saccharose et le transforme. 2° On pourra, au contraire, supposer que c'est la combinaison entre le ferment et le saccharose qui se décompose et produit ainsi l'hydrolyse du saccharose.

Quelle devrait être la loi d'action du ferment s'il obéissait aux différentes hypothèses que nous venons d'indiquer? Telle est la question qu'il s'agit d'examiner maintenant.

Supposons que nous ayons une solution contenant la quantité a de saccharose et que nous ajoutions la quantité Φ de ferment: au bout d'un temps égal à t minutes nous voyons qu'il y a dans la solution $a - x$ saccharose et x sucre interverti.

D'après les hypothèses indiquées plus haut, nous supposons que le ferment est réparti entre le saccharose et le

sucres interverti et qu'une partie du ferment reste non combinée. Soit donc X la quantité de ferment qui n'est pas combinée, z la quantité qui est combinée au moment t avec le saccharose et y la quantité combinée avec le sucre interverti. Nous supposons, en plus, que ces combinaisons présentent des états d'équilibre, c'est-à-dire qu'elles suivent la loi de l'action des masses.

Ecrivons donc les équations qui expriment les conditions d'équilibre. Nous avons pour l'équilibre entre le ferment et le saccharose dont la quantité est $a - x$:

$$(1) \quad X.(a - x) = \frac{1}{m} z.,$$

pour l'équilibre entre le ferment et le sucre interverti :

$$(2) \quad X.x = \frac{1}{n} . y,$$

m et n sont les deux constantes d'équilibre ; enfin écrivons que la quantité totale de ferment combiné et libre est égal à Φ :

$$(3) \quad \Phi = X + y + z.$$

Ces trois équations permettent de calculer la quantité x de ferment non combiné et la quantité z de la combinaison entre le saccharose et le ferment. Nous obtenons en effet :

$$(4) \quad X = \frac{\Phi}{1 + m(a - x) + nx}$$

et

$$(5) \quad Z = \frac{m.\Phi.(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}.$$

Ceci étant, examinons quelle devra être la vitesse d'inversion au moment t , suivant que nous admettons que c'est le ferment libre qui agit sur le saccharose ou bien que c'est la combinaison z qui se décompose.

1^{re} hypothèse. — La partie libre du ferment agit sur le saccharose ; dans ce cas la vitesse est proportionnelle à la quantité de ce ferment libre et à la quantité de saccharose, elle sera donc proportionnelle à X et à $a - x$, par conséquent au produit de ces deux valeurs. Donc :

$$\frac{dx}{dt} = K.X.(a - x),$$

ou en remplaçant X par sa valeur (4) on obtient :

$$(6) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{K.\Phi.(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}.$$

2^e hypothèse. — C'est la combinaison entre le ferment et le saccharose qui se décompose, la vitesse de cette décomposition sera donc proportionnelle à la quantité de cette combinaison intermédiaire, c'est-à-dire à z ; on aura : $\frac{dx}{dt} = K.z$ ou en remplaçant z par sa valeur (5) on obtient :

$$(7) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{K.m.\Phi.(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}.$$

Ces deux expressions de la vitesse de la réaction (6) et (7), sont identiques entre elles, par conséquent, quelle que soit l'hypothèse que l'on fasse, la loi suivant laquelle se produira l'inversion du saccharose sera la même. Ce résultat présente un intérêt au point de vue de la chimie générale, mais je ne m'y arrête pas ici.

Donc la vitesse de la réaction a pour expression :

$$(I) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}$$

ou K_3 est une constante proportionnelle à la quantité de ferment ; m et n sont deux constantes caractéristiques qui pourront varier avec le milieu et avec la température, mais qui, une fois déterminées, devront donner pour K_3 la même valeur, quelle que soit la concentration de saccharose ou de sucre interverti.

Si, au début de la réaction, nous avons un mélange de a_1 saccharose et de i sucre interverti, la vitesse au moment t aurait pour expression :

$$(II) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a_1 - x)}{1 + m(a_1 - x) + n(x + i)}$$

On peut discuter la forme générale de l'action de l'invertine en se servant des équations (I) ou (II).

Considérons le cas où au début nous ayons seulement du saccharose et étudions la vitesse du début ; cette vitesse s'obtient évidemment en posant dans l'expression (I) x égal à zéro. Donc

$$\text{Vitesse initiale} = \frac{K_3 a}{1 + ma}$$

On voit que lorsque la concentration en saccharose est faible, c'est-à-dire si a est petit, ma disparaît en face de l'unité, et alors la vitesse initiale est proportionnelle à la concentration de saccharose. Mais à mesure que a augmente la vitesse croît d'abord rapidement puis lentement,

de sorte que lorsque ma sera grand par rapport à l'unité, la vitesse initiale sera égale environ à $\frac{K_3 a}{ma}$ c'est-à-dire à $\frac{K_3}{m}$, elle sera constante quelle que soit la concentration du saccharose.

Donc, pour les solutions diluées la vitesse d'inversion est influencée par la quantité de saccharose et pour les solutions plus concentrées elle en est presque indépendante. Graphiquement la relation entre la concentration de saccharose et la vitesse initiale est représentée par une hyperbole passant par l'origine et ayant une asymptote parallèle à l'axe des x à une distance égale à K_3 .

C'est bien la forme générale que l'on obtient expérimentalement, ainsi que nous l'avons vu plus haut.

Supposons maintenant que nous ayons au début une quantité a_1 de saccharose et i de sucre interverti; la vitesse au début sera alors :

$$\text{Vitesse initiale} = \frac{K_3 a_1}{1 + ma_1 + ni}$$

Cette expression nous donne une représentation complète de l'action du sucre interverti. En effet, pour la même quantité de saccharose a_1 , la vitesse sera d'autant plus faible que i sera plus grand (exemples § 19).

2° Pour la même quantité de sucre interverti i le ralentissement produit par ce sucre sera d'autant plus intense que a_1 sera plus faible : une même quantité de sucre interverti ralentit plus la vitesse d'inversion d'une solution faible que d'une solution concentrée en saccharose (exemples § 19).

Calculons maintenant la formule qui donnera la constante K_3 . Intégrons l'équation (I) que nous pouvons encore écrire sous la forme :

$$dx \cdot \left[\frac{1 + na}{a - x} + m - n \right] = K_3 dt;$$

nous obtenons :

$$- (1 + na) \ln (a - x) + (m - n)x = K_3 t + \text{constante};$$

la constante est déterminée par la condition que $t = 0$ pour $x = 0$, on obtient :

$$- (1 + na) \ln a = \text{constante},$$

donc la relation devient :

$$(1 + na) \ln \frac{a}{a - x} + (m - n)x = K_3 t,$$

ou encore :

$$(III) \quad K_3 = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x}.$$

On obtient de même dans le cas où au début on a une quantité a_1 de saccharose et i de sucre interverti l'expression suivante :

$$(IV) \quad K_3 = \frac{a_1}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a_1} + n \left(1 + \frac{i}{a_1} \right) \ln \frac{a_1}{a_1 - x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a_1}{a_1 - x}.$$

On voit que l'expression de K_3 se compose de la somme de deux facteurs dont l'un dépend de la valeur *absolue* de a , tandis que l'autre ne dépend que du *rapport* $\frac{x}{a}$. C'est

cette forme complexe qui exprime l'influence exercée par la concentration de saccharose sur la vitesse de la réaction.

26. Vérifications expérimentales de la théorie précédente. — Il s'agissait avant tout de chercher les valeurs de m et n ; en tâtonnant, j'ai trouvé que lorsqu'on pose $m = 30$, $n = 10$ on obtenait pour K_3 des valeurs qui étaient suffisamment constantes. Il est possible qu'on pourrait obtenir une constance encore meilleure, si on choisissait pour m et n d'autres valeurs numériques. Les expressions (III) et (IV) deviennent donc :

$$K_3 = \frac{10.a}{t} \left[2 \frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x},$$

$$K_3 = \frac{10.a_1}{t} \left[2 \frac{x}{a_1} + \left(1 + \frac{i}{a_1} \right) \ln \frac{a_1}{a_1-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

Ce sont donc ces formules qui servent au calcul des valeurs de la constante K_3 .

Donnons quelques exemples de ces calculs :

11 janvier 1901 :

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	$K_3 \cdot 10^5$
--------	--	------------------

I. Saccharose 0,5 normale. $a = 0,5$.

75 minutes	0,037	(796)
186 —	0,103	904
399 —	0,228	958
505 —	0,292	987
557 —	0,322	997
1 120 —	0,589	1 002
1 172 —	0,611	1 005

Moyenne : 950

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	$K_3 \cdot 10^5$
--------	--	------------------

II. Saccharose 0,5 normale, $a = 0,5$.

69 minutes	0,042	981
183 —	0,112	1 000
392 —	0,240	1 031
504 —	0,305	1 038
1 136 —	0,630	1 079

Moyenne : 1 026.

III. Sacch. 0,3 norm. + sucre interv. 0,2 norm. $a_1 = 0,3$; $i = 0,2$.

77 minutes	0,054	853
187 —	0,137	912
398 —	0,311	1 030
566 —	0,383	1 023
1 128 —	0,678	982

Moyenne : 960.

IV. Sacch. 0,2 norm. + sucre interv. 0,3 norm. $a_1 = 0,2$; $i = 0,3$.

71 minutes	0,057	817
183 —	0,157	902
393 —	0,355	960
502 —	0,428	1 007
1 128 —	0,719	929

Moyenne : 923

V. Saccharose 0,3 norm. $a = 0,3$.

77 minutes	0,051	(668)
187 —	0,153	845
398 —	0,349	911
506 —	0,430	953
557 —	0,463	944
1 126 —	0,801	1 003

Moyenne : 931.

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	$K_3 \cdot 10^5$
--------	--	------------------

VI. Saccharose 0,2 norm. $a = 0,2$.

71 minutes	0,080	803
182 —	0,230	936
393 —	0,501	1 040
502 —	0,614	1 058
1 126 —	0,918	992

Moyenne : 966.

VII. Sacch. 0,1 norm. + sucre interv. 0,1 norm. $a_1 = 0,1$; $i = 0,1$.

69 minutes	0,132	997
183 —	0,337	1 041
393 —	0,618	1 047
502 —	0,720	1 046
1 131 —	0,919	829

Moyenne : 992.

VIII. Saccharose 0,1 norm. $a = 0,1$.

70 minutes	0,148	882
183 —	0,418	1 046
393 —	0,738	1 056
504 —	0,818	1 000
1 135 —	0,965	760

Moyenne : 948.

1^{er} mai 1902 :

I. Saccharose 0,01 norm. $a = 0,01$.

232 minutes	0,800	830	} 852
459 —	0,969	875	

II. Saccharose 0,025 norm. $a = 0,025$.

233 minutes	0,77	910
-------------	------	-----

Durées	Proportions interverties $\frac{x}{a}$	$K_2 \cdot 10^5$
III. Saccharose 0,05 norm. $a = 0,05$.		
233 minutes	0,652	958
459 —	0,901	952
		} 955
IV. Saccharose 0,1 norm. $a = 0,1$.		
457 minutes	0,790	1 026
V. Saccharose 0,25 norm.		
455 minutes	0,497	1 073
VI. Saccharose 0,25 norm.		
455 minutes	0,498	1 073
1 055 —	0,867	1 080
		} 1 076
VII. Saccharose 0,5 norm.		
450 minutes	0,267	1 004
1 098 —	0,580	998
		} 1 001
VIII. Saccharose 0,5 norm.		
449 minutes	0,269	1 010
1 106 —	0,584	998
		} 1 004
IX. Saccharose 1 norm.		
445 minutes	0,118	828
1 104 —	0,280	830
		} 829
X. Saccharose 1 norm.		
444 minutes	0,118	828
1 103 —	0,279	830
		} 829

On voit donc que les expériences du 1^{er} mai donnent pour K_3 des valeurs suffisamment constantes dans des limites très larges, comprises entre $a = 0,01$ normale et $a = 1$ normale. Ce sont ces expériences qui ne pouvaient pas être représentées par la formule de Bodenstein.

Voici encore quelques valeurs moyennes de K_3 pour les expériences du 8 mai 1902 et du 25 février 1901.

8 mai 1902 :

	K_3	K_2 (Bodenstein)
Saccharose 0,025 normale	107	279
— 0,05 —	119	454
— 0,1 —	111	565
— 0,2 —	101	600
— 0,5 —	95	575
— 1 —	77	500

25 février 1901 :

Sacch. 0,05 norm.	559	201
Sacch. 0,05 norm. + sucre interv. 0,05 norm.	505	253
— 0,05 — + — 0,1 —	505	295
— 0,2 —	564	338
— 0,2 — + — 0,1 —	479	315
— 0,2 — + — 0,2 —	463	325
— 0,2 — + — 0,3 —	446	330
— 0,5 —	454	309
— 0,5 — + — 0,1 —	439	305
— 0,2 — + — 0,4 —	419	320

En résumé on voit que, en prenant pour m et n les valeurs indiquées plus haut, on trouve pour K_3 des valeurs qui, d'une part, restent constantes pendant toute la durée d'une inversion et, d'autre part, sont les mêmes, lorsqu'on compare les différentes séries faites avec différentes concentrations de saccharose et de sucre interverti.

Par conséquent, la vitesse d'inversion du saccharose produite par l'invertine peut être représentée par la loi :

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}$$

A la température de 25° et pour des solutions faites dans l'eau distillée on a $m = 30$ et $n = 10$, a est exprimé en solutions normales.

Il est très probable que lorsqu'on fera varier la température ou le milieu par l'addition de différentes substances, la valeur des coefficients m et n devra être différente. C'est un point que je n'ai pas encore étudié.

27. Action des acides et des bases sur l'invertine.

— Beaucoup d'auteurs se sont occupés après Kjeldahl de l'action des acides et des bases sur l'invertine ; les résultats obtenus par différents auteurs sont bien concordants, je ne reprendrai donc pas cette question. Je signalerai seulement un résultat intéressant pour l'étude de l'invertine, puisqu'il montre la fixité de ce ferment et pourrait servir dans l'interprétation de l'action des acides et des bases.

On sait qu'en ajoutant une faible quantité d'alcali à un mélange de saccharose et d'invertine on arrête complètement la réaction ; si ensuite on rétablit la neutralité, souvent on voit la réaction se produire. Mais les auteurs affirment en général que l'activité du ferment se trouve affaiblie. C'est ce point particulier que j'étudierai ici.

Si on arrête l'action de l'invertine par une quantité extrêmement faible de soude et que, après avoir laissé ce

mélange plusieurs heures à 25°, on rétablit la neutralité par un acide quelconque, on voit que la réaction se produit avec la même vitesse que dès le début dans une réaction témoin qui ne contenait pas de soude. La soude n'a donc produit qu'un arrêt passager sans altérer le ferment d'une manière permanente. Voici quelques résultats numériques qui démontrent la proposition précédente.

7 juin 1901. — I. Saccharose 0,5 norm. ; 50 cc. solution de sucre + $\frac{1}{2}$ cc. NaOH $\frac{1}{50}$ n et + 1 cc. acide acétique, ce mélange est fait au début. C'est donc le flacon témoin.

Durées	Proportions interverties	K ₂
63 minutes	0,192	643
142 —	0,430	698
190 —	0,548	705
254 —	0,678	713
365 —	0,822	697
522 —	0,919	657

Moyenne : 685

7 juin 1901. — II. Saccharose 0,5 normale addition de $\frac{1}{2}$ cent. c. NaOH $\frac{1}{50}$ n et de ferment, 75 m. après séjour à 25°, addition de 1 cc. acide acétique. La réaction est suivie à partir de ce moment :

Durées	Proportions interverties	K ₂
80 minutes	0,227	606
127 —	0,362	639
191 —	0,528	669
303 —	0,733	677
460 —	0,883	658

Moyenne : 650

7 juin 1901. — III. Saccharose 0,5 n. + $\frac{1}{2}$ cc. NaOH $\frac{1}{50}$ n et ferment, 150 minutes après addition de 1 cc. d'acide acétique.

Durées	Proportions interverties	K ₂
47 minutes	0,126	554
110 —	0,323	648
224 --	0,599	675
380 —	0,826	677

Moyenne : 639

7 juin 1901. — IV. Saccharose 0,5 norm. + $\frac{1}{2}$ cc. NaOH $\frac{1}{50}$ n et ferment, 260 minutes après addition de 1 cc. acide acétique.

Durées	Proportions interverties	K ₂
114 minutes	0,349	688
270 —	0,707	716

Moyenne : 702

On voit que les écarts entre les moyennes sont dans les limites des erreurs d'expériences.

CHAPITRE IV

ACTION DE L'ÉMULSINE SUR LA SALICINE

28. Recherches de Tammann. Méthode. — L'étude des lois suivant lesquelles se produit l'action de l'émulsine a été faite par Tammann; cet auteur a étudié l'action de cette diastase sur la salicine, l'amygdaline; il a fait également quelques expériences isolées sur l'urée, l'esculine et l'arbutine.

Les résultats obtenus sont : 1° que l'action de l'émulsine est incomplète; 2° l'addition des produits de la réaction ralentit la vitesse; 3° l'émulsine s'altère progressivement avec le temps aussi bien lorsqu'elle est en solution seulement dans l'eau que quand elle est en présence des produits sur lesquels elle agit; 4° la loi suivant laquelle se produit l'action est très complexe, la vitesse est plus lente que ne l'indique la loi logarithmique des acides.

J'ai repris l'étude des lois d'action de l'émulsine en choisissant avant tout son action sur la salicine; les expériences avec l'amygdaline et l'arbutine sont plus complexes à analyser par suite de réactions secondaires. Ces expériences ont été faites au laboratoire de chimie phy-

sique du professeur Ostwald à Leipzig pendant les mois d'août, septembre et octobre 1902.

La méthode employée a été la même que pour l'étude de l'invertine. Le ferment (pris chez Merck) a été dissous dans l'eau distillée, environ 0 gr. 4 dans 50 centimètres cubes d'eau, puis filtré cinq ou six fois, laissé à 25° pendant plusieurs heures et de nouveau filtré plusieurs fois. La solution est à peine opalescente. J'employais en général 4 centimètres cubes pour 100 centimètres cubes de la solution de salicine.

La solution de salicine était faite également plusieurs heures avant le début des expériences, bouillie, filtrée et portée à 25°.

Pour les solutions de saligenine et de glucose les mêmes précautions ont été prises, afin d'écartier les effets de bi-rotation.

Les mesures ont été faites soit au polarimètre, soit avec la liqueur de Fehling. Une série complète a été menée parallèlement avec ces deux méthodes et les résultats ont été très concordants, donnant des écarts ne dépassant en général pas 2 0/0, ce qui est bien suffisant pour ces recherches.

29. La vitesse d'hydrolyse de la salicine est plus lente que ne l'indique la loi logarithmique des acides. — Lorsqu'on examine les résultats obtenus pour une série de mesures faites pendant le cours d'une réaction, on voit que la valeur de l'expression $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ diminue depuis le début de la réaction jusqu'à la fin.

Voici quelques exemples :

3 octobre 1902. — Salicine 0,14 normale.

Durées	Proportion hydrolysée	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x} \cdot 10^5$
25 minutes	0,132	246
55 —	0,209	185
87 —	0,306	182
211 —	0,534	157
271 —	0,603	148
373 —	0,686	135
1 323 —	0,950	100

3 octobre 1902. — Salicine 0,07 normale.

24 minutes	0,174	345
54 —	0,351	348
86 —	0,450	302
210 —	0,691	243
270 —	0,775	240
371 —	0,847	220
1 322 —	0,997	190

8 octobre 1902. — Salicine 0,14 normale.

31 minutes	0,110	163
123 —	0,305	128
211 —	0,447	122
276 —	0,516	114
343 —	0,583	111

On voit nettement que les nombres de la troisième colonne diminuent progressivement depuis le début de la réaction jusqu'à la fin.

Donc ce résultat nous montre que l'action de l'émulsine sur la salicine suit une loi différente de celle que nous

avons trouvée pour l'action de l'invertine sur le saccharose. L'expression

$$K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a + x}{a - x}$$

restait constante dans le cas de l'invertine et diminue fortement dans le cas de l'émulsine.

30. Action de la concentration de la salicine. —

Lorsqu'on compare les réactions avec différentes concentrations de salicine on voit que la vitesse varie avec la concentration, mais cette variation n'est pas proportionnelle à la concentration comme dans le cas des acides, la relation entre la vitesse d'hydrolyse et la quantité de salicine se rapproche beaucoup de celle que nous avons trouvée dans le cas de l'invertine et du saccharose. Ainsi nous trouvons qu'au bout d'une heure les proportions suivantes de salicine ont été hydrolysées par la même quantité d'émulsine :

Solutions	Proportions hydrolysées
Salicine 0,14 normale	0,179
— 0,105 —	0,216
— 0,07 —	0,221
— 0,035 —	0,394

31. Action des produits de la réaction. Constance du ferment. — De même que pour l'invertine nous trouvons dans le cas de l'émulsine que l'addition de saligine + glucose ralentit la réaction, ce ralentissement est d'autant plus fort que la quantité de ces produits ajoutés

est plus grande et que la quantité de salicine est plus faible. Il y a donc un parallélisme complet avec les résultats obtenus pour l'invertine. Voici quelques exemples numériques.

10 octobre 1902.

Solutions		Proportions hydrolysées au bout de 60 minutes
Salicine 0,07 n.		0,221
Salicine 0,07 n. + produits d'hydrolyse	0,035 n.	0,157
— 0,07 n. + —	0,07 n.	0,146
— 0,035 n.		0,394
— 0,035 n. + produits d'hydrolyse	0,035 n.	0,194
— 0,035 n. + —	0,07 n.	0,182
— 0,035 n. + —	0,105 n.	0,151

On voit que l'addition d'une même quantité de glucose égale à 0,035 normale influe plus fortement sur la vitesse d'hydrolyse dans le cas de la solution de salicine 0,035 normale que dans le cas de la solution 0,07 normale ; dans le premier cas la vitesse moyenne diminue dans le rapport de $\frac{394}{194}$ et dans le deuxième cas dans le rapport de 221 à 157.

Tammann avait cherché à expliquer la loi d'action de l'émulsine en faisant intervenir l'altération progressive du ferment avec le temps. Il fallait examiner si, dans les expériences faites dans les conditions où je me plaçais, le ferment perdait de son activité pendant le cours d'une réaction. Je me suis assuré que lorsque le ferment avait produit une certaine hydrolyse, si on ajoutait une nouvelle quantité de salicine, la réaction se produisait avec une vitesse très voisine de sa valeur du début. D'autre part, plusieurs séries parallèles ont été faites de façon à

voir si l'émulsine en solution dans l'eau et à 25° s'altérerait pendant plusieurs heures. La même quantité de ferment était ajoutée à des solutions identiques de salicine, seulement les moments de début étaient espacés. Donnons deux exemples :

8 octobre 1902 :

I. Salicine 0,14 normale.

Durées	Proportions hydrolysées
31 minutes.	0,110
123 —	0,305
211 —	0,447
276 —	0,516
343 —	0,583

II. Salicine 0,14 norm. lancée 20 heures après la 1^{re} série, pendant ces 20 heures la solution d'émulsine est restée à 25°.

Durées	Proportions hydrolysées
65 minutes.	0,203
260 —	0,490
390 —	0,562

On voit que dans la 2^e série le ferment est un peu moins actif que dans la première série. Mais la différence est faible.

10 octobre 1902 :

1^{re} Série. — Salicine 0,14 normale; à 11 h. 20 m. addition de 5 cc. d'émulsine.

Durées	Proportions interverties
60 minutes.	0,179
177 —	0,371
294 —	0,505
355 —	0,550
415 —	0,579

2° *Série.* — Salicine 0,14 normale; à 4 h. 45 m. addition de 5 cc. d'émulsine, qui est restée pendant tout le temps à 25°.

60 minutes.	0,171
92 —	0,224

On voit que la vitesse d'hydrolyse est la même dans ces deux séries, donc le ferment conservé à 25° dans l'eau distillée pendant plus de cinq heures n'a pas changé d'activité d'une manière appréciable.

On peut donc conclure de ces résultats que pour les expériences que j'ai faites sur la salicine qui ne dureraient pas plus de 7 heures en général, la marche de l'hydrolyse n'était pas modifiée par des actions secondaires autres que celles qui tiennent à la composition du milieu.

32. Discussion théorique des résultats. La loi d'action est la même que pour l'invertine. — L'ensemble des résultats indiqués plus haut montre que qualitativement l'action de l'émulsine ressemble beaucoup à l'action de l'invertine sur le saccharose. Il y a donc lieu de chercher à appliquer la même loi numérique pour cette diastase.

D'abord nous remarquons que la vitesse est plus lente que ne l'indique la courbe logarithmique; ceci fait, supposons que l'action des produits de la réaction est plus forte que celle de la salicine, c'est-à-dire que dans la formule générale

$$K_3 = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x},$$

le coefficient n devra être plus grand que m ; nous rappelons que pour l'invertine on avait $m = 30$, $n = 10$.

En essayant une série de valeurs différentes je me suis arrêté sur deux valeurs qui expriment d'une manière assez satisfaisante la marche de la réaction; ces valeurs sont $m = 40$, $n = 120$; la constante de la réaction a pour expression

$$(I) \quad K_3 = \frac{40 \cdot a}{t} \left[-2 \frac{x}{a} + 3 \ln \frac{a}{a-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

Dans le cas où au début on avait une quantité a_1 de salicine et i des produits d'hydrolyse (saligénine + glucose), la valeur de K_3 devient :

$$(II) \quad K_3 = \frac{40 \cdot a}{t} \left[-\frac{2x}{a_1} + 3 \left(1 + \frac{i}{a_1} \right) \ln \frac{a_1}{a_1-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a_1}{a_1-x}.$$

C'est de la formule (I) ou (II) que l'on doit calculer les résultats expérimentaux.

Donnons maintenant les résultats numériques pour justifier le choix de ces constantes.

30 octobre 1902 :

Durées	Proportions hydrolysées	$K_3 \cdot 10^4$
I. Salicine 0,14 normale.		
25 minutes	0,132	414
55 —	0,209	327
87 —	0,306	350
211 —	0,534	360
271 —	0,603	358
375 —	0,686	345
1 325 —	0,950	331

Moyenne : 355.

Durées	Proportions hydrolysées	K ₃ .10 ⁴
II. Salicine 0,07 normale.		
24 —	0,174	340
54 —	0,351	388
86 —	0,450	360
210 —	0,691	341
270 —	0,775	357
371 —	0,847	348
Moyenne : 356.		

8 octobre 1902 :

I. Salicine 0,14 normale.

31 minutes	0,110	281
123 —	0,305	248
211 —	0,447	263
276 —	0,516	256
343 —	0,583	260
Moyenne : 262.		

II. Salicine 0,07 normale.

122 —	0,476	279
209 —	0,651	288
275 —	0,691	260
342 —	0,767	275
Moyenne : 275.		

III. Salicine : 0,035 normale.

28 —	0,182	190
121 —	0,564	228
208 —	0,685	195
275 —	0,818	238
341 —	0,879	249
Moyenne : 220.		

10 octobre 1902 :

Durées	Proportions hydrolysées	$K_3 \cdot 10^4$
--------	-------------------------	------------------

I. Salicine 0,14 normale.

60 minutes	0,179	252
177 —	0,371	231
294 —	0,503	233
355 —	0,550	227
415 —	0,579	212

Moyenne : 231.

II. Salicine 0,105 normale.

60 minutes	0,216	248
176 —	0,462	239
293 —	0,606	257
357 —	0,636	235

Moyenne : 245.

III. Salicine 0,075 n. + (Saligen. + glucose) 0,035 norm.

57 minutes	0,157	252
172 —	0,400	275
291 —	6,539	257
355 —	0,597	253

Moyenne : 259.

IV. Salicine 0,105 n. + (Saligen. + glucose) 0,035 norm.

59 minutes	0,128	231
176 —	0,344	261
293 —	0,459	243
357 —	0,525	245

Moyenne : 245.

V. Salicine 0,07 n. + (Saligen. + glucose) 0,07 norm.

57 minutes	0,146	348
173 —	0,327	303
292 —	0,376	215
355 —	0,536	278

Moyenne : 286.

Durées	Proportions hydrolysées	$K_3 \cdot 10^4$
--------	-------------------------	------------------

VI. Salicine 0,07 norm.

58 minutes	0,221	191
172 —	0,524	233
291 —	0,688	243
355 —	0,612	313

Moyenne : 245.

VII. Salicine 0,035 n. + (Saligen. + glucose) 0,035 norm.

57 minutes	0,194	262
170 —	0,469	273
289 —	0,618	251

Moyenne : 262.

VIII. Salicine 0,035 norm.

56 minutes	0,394	269
170 —	0,685	240
288 —	0,880	297

Moyenne : 269.

Résumons les moyennes des huit séries du 10 octobre, nous obtenons les résultats suivants :

Salicine 0,14 norm.	231
— 0,105 —	245
— 0,105 — + (Saligen. + glucose) 0,035 n.	245
— 0,07 — + — + — 0,07 n.	286
— 0,07 — + — + — 0,035 n.	259
— 0,07 —	245
— 0,035 — + (Saligen. + glucose) 0,035 n.	262
— 0,035 —	269

On voit que les valeurs de l'expression K_3 calculée d'après la loi I ou II sont suffisamment constantes ; les écarts

sont dans les limites des erreurs d'expérience. Il est même très possible qu'en prenant pour m et n des valeurs un peu différentes de 40 et 120 on obtienne une meilleure constante de l'expression K_3 .

En résumé, nous voyons que les lois d'actions de l'émulsine sur la salicine sont les mêmes que celles que nous avons trouvées pour l'invertine, la même formule s'applique, la valeur seule des constantes est différente.

CHAPITRE V

ACTION DE L'AMYLASE SUR L'AMIDON

33. Méthode. Recherches de H. Brown et Glendinning. — L'étude des lois de l'action de l'amylase sur l'amidon a préoccupé plusieurs auteurs. On s'est surtout occupé de la question de l'influence de la concentration du ferment et de l'amidon, la limite d'hydrolyse qui pouvait être obtenue, de l'action de la température et de différentes substances chimiques. Pour ce qui concerne la loi suivant laquelle se produit la marche de l'hydrolyse, il existe très peu de recherches faites jusqu'ici. Signalons celles de Wroblewsky, mais les conditions n'étaient pas suffisamment précises pour que nous puissions en tirer des conclusions quelconques.

H. Brown et Glendinning ont publié, au mois d'avril 1902, un mémoire sur la loi de l'action de l'amylase du malt sur l'amidon soluble. Ils trouvent que la vitesse de formation du maltose suit une loi qui est en général plus rapide que la loi logarithmique des acides. L'expression $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$, dans laquelle a représente la quantité de maltose obtenue à la fin de la réaction et x celle que l'on

trouve au moment t , augmente en général depuis le début de l'hydrolyse jusqu'à la fin. Mais cette variation ne s'observe pas toujours, ainsi nous voyons que sur quatre séries publiées par les auteurs, dans deux cas l'augmentation est très nette et, au contraire, dans les deux autres séries il n'y a pas de variation aussi notable.

J'ai repris l'étude de la loi d'action de l'amylase sur l'amidon soluble en me servant de diastases diverses : 1° Amylase du malt prise chez Merck ; 2° Amylase du malt prise chez Grübler ; 3° Amylase contenue dans le suc pancréatique de chien obtenu par fistule temporaire après injection de secrétine ; ce suc pancréatique a été desséché et conservé pendant deux mois à l'état sec ; 4° Amylase du suc pancréatique de chien utilisé à l'état frais.

Ces expériences ont été faites au laboratoire du professeur Ostwald à Leipzig.

L'amidon soluble qui a servi à ces expériences donnait une solution stable contenant 30/0 d'amidon ; cet amidon réduisait un peu la liqueur de Fehling, ce pouvoir réducteur initial était déterminé avant chaque expérience.

Les mesures ont été faites avec la liqueur de Fehling. Toutes les expériences ont été faites à la température de 25°. Les précautions pour la préparation des solutions étaient les mêmes que celles que nous avons décrites à propos de l'invertine et de l'émulsine.

34. Loi de la marche de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase. — Il faut avant tout insister sur un point essentiel qui n'a pas été remarqué par plusieurs auteurs dans la discussion des lois d'action de l'amylase.

Dans la formule logarithmique $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ relative à l'action de l'acide sur le saccharose, a désigne la quantité de saccharose existant au début et x la quantité de saccharose transformé au moment t , cette dernière quantité est ici égale à la quantité de sucre interverti qui est dans la solution.

Si on voulait appliquer la même loi à l'hydrolyse de l'amidon, on devrait désigner par a la quantité d'amidon existant au début et par x la quantité d'amidon hydrolysé au moment t . Or, ce que l'on mesure c'est la quantité de maltose produit, et on sait qu'il existe dans la solution des corps intermédiaires entre le stade amidon et le stade maltose, de sorte que l'on ne mesure pas du tout la valeur de x . On se trouve donc dans l'impossibilité de pouvoir vérifier directement si la loi des acides est applicable à l'hydrolyse de l'amidon par la diastase. On est donc amené à étudier cette question par un chemin détourné.

Je ne m'arrêterai pas sur la discussion théorique du problème, elle est assez compliquée, même si l'on ne suppose l'existence que d'un seul corps intermédiaire entre l'amidon et le maltose. Cette discussion mathématique conduit à des formules assez compliquées contenant autant de constantes qu'il y a de stades intermédiaires. Or, comme nous ne connaissons pas leur nombre, nous ne pouvons pas nous servir des résultats qui seraient fournis par cette étude mathématique. Disons seulement que si l'on suppose l'existence d'un seul corps intermédiaire, d'une seule dextrine, et si l'on trouve que la vitesse d'apparition du maltose se produit suivant la loi logarithmique des acides, nécessairement la vitesse de transformation de l'amidon

en dextrine et de la dextrine en maltose se produit également suivant la loi logarithmique des acides.

L'étude des lois suivant lesquelles se produit l'hydrolyse de l'amidon ne peut donc pas être rattachée directement aux lois de la chimie générale, il faudrait faire des analyses chimiques très compliquées pour avoir les éléments nécessaires à ces discussions.

Aussi est-on conduit à étudier non pas la vitesse de transformation de l'amidon, mais la vitesse d'apparition du maltose, ce qui n'est pas la même chose, quoique cela ait été confondu par plusieurs auteurs. C'est donc de ce résultat pour ainsi dire empirique qu'il s'agira dans les expériences qui suivent.

Si l'on désigne par a la quantité de maltose obtenue lorsque l'hydrolyse est terminée, par x la quantité de maltose obtenue au moment t , on trouve que l'expression $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ reste constante depuis le début de la réaction jusqu'à la fin. Voici (p. 117) plusieurs exemples numériques qui montrent le degré de constance de cette valeur de K .

On voit que les nombres de la dernière colonne varient autour d'une certaine moyenne; la loi de formation du maltose est donc bien une loi logarithmique.

Je me trouve donc sur ce point en désaccord avec H. Brown et Glendinning; il est difficile de dire à quoi peut tenir cette divergence, peut-être est-elle due à la manière dont ces auteurs déterminaient la valeur limite de l'hydrolyse; ou bien y a-t-il une différence de ferment, ou enfin une différence de température.

11 septembre 1902.

Durées	Quantité de maltose obtenue	Valeur du rapport $\frac{\alpha}{a}$	K.10 ⁶
--------	--------------------------------	---	-------------------

I. Amidon soluble à 3 % + amylase du malt.

29 minutes	0,090	0,046	707
53 —	0,179	0,092	790
89 —	0,283	0,146	769
113 —	0,358	0,184	781
150 —	0,459	0,236	779
184 —	0,552	0,284	788
227 —	0,641	0,330	766
326 —	0,865	0,446	787
402 —	0,977	0,504	757
467 —	1,121	0,578	802

II. Amidon soluble 1,5 % + amylase du malt.

39 minutes	0,111	0,114	1 350
98 —	0,305	0,314	1 670
179 —	0,488	0,503	1 690
331 —	0,713	0,735	1 740
452 —	0,804	0,828	1 690

III. Amidon soluble 0,75 % + amylase du malt.

43 minutes	0,121	0,250	2 900
58 —	0,175	0,361	3 350
95 —	0,252	0,519	3 340
212 —	0,392	0,808	3 380
358 —	0,435	0,897	2 750

IV. Amidon soluble 0,38 % + amylase du malt.

48 minutes	0,098	0,454	5 480
102 —	0,165	0,764	6 150

17 septembre 1902.

Durées	Quantité de maltose	Rapport $\frac{x}{a}$	K.10 ^s
--------	---------------------	-----------------------	-------------------

I. Amidon 3 % + suc pancréatique sec.

24 minutes	0,079	0,041	76
50 —	0,158	0,082	74
90 —	0,264	0,137	71
122 —	0,351	0,182	71
150 —	0,429	0,223	73
265 —	0,718	0,373	76
346 —	0,850	0,447	71

II. Amidon 1,5 % + suc pancréatique.

29 —	0,101	0,105	166
85 —	0,250	0,260	154
128 —	0,342	0,355	148
269 —	0,558	0,580	140

II'. Amidon 0,75 % + suc pancréatique.

34 —	0,082	0,170	238
55 —	0,118	0,245	222
94 —	0,187	0,389	227
133 —	0,230	0,478	212
273 —	0,344	0,715	200

20 septembre 1902.

I. Amidon 1,5 % + suc pancréatique frais.

44 —	0,130	0,141	150
78 —	0,206	0,224	141
119 —	0,307	0,334	148
186 —	0,420	0,456	142
218 —	0,483	0,525	148
385 —	0,692	0,752	157
484 —	0,740	0,804	146

35. Action de la quantité d'amidon. Différence entre l'amylase du malt et l'amylase du suc pancréatique. — Relativement à l'influence de la quantité d'amidon, plusieurs auteurs ont trouvé qu'une certaine quantité d'amylase transformait pendant le même temps le même nombre de grammes d'amidon, quelle que soit la concentration de la solution en amidon.

Ce résultat doit être corrigé. Il s'applique à l'amylase du malt lorsque la concentration de la solution dépasse 0 gr. 75 d'amidon soluble pour 100 centimètres cubes d'eau; mais pour des solutions plus faibles la quantité d'amidon influe sur la vitesse d'hydrolyse.

Le résultat est différent pour l'amylase du suc pancréatique; dans ce cas la concentration d'amidon a une action très nette jusqu'à la concentration de 2 grammes 0/0, et la règle précédente s'applique seulement pour des concentrations plus fortes.

Cette différence entre l'action de l'amylase du malt et l'amylase du suc pancréatique montre nettement que ce sont deux ferments différents qui suivent des lois d'action différentes. Je donnerai quelques exemples numériques de ces résultats qui présentent un certain intérêt.

EXPÉRIENCES AVEC LE SUC PANCRÉATIQUE SEC

22 août 1902 :

	Amidon 2,5 ^o / _o	Amid. 1,25 ^o / _o	Amid. 0,5 ^o / _o
Quantité de maltose après			
180 minutes	0,64	0,44	0,18

6 septembre 1902 :

	Amidon 3 ‰	Amid. 1,5 ‰	Amid. 0,75 ‰
Maltose après 90 minutes.	0,78	0,75	0,53

17 septembre 1902. — Dans chaque série 2 cc. de solution de suc pancréatique sec

Maltose après 30 minutes.	0,095	0,101	0,073
---------------------------	-------	-------	-------

17 septembre 1902. — Dans chaque série 4 cc. de la solution du suc pancréatique sec

Maltose en 30 minutes.	0,257		0,116
------------------------	-------	--	-------

20 septembre 1902 :

	Amidon 3 ‰	Amid. 1,5 ‰	Amid. 0,75 ‰
Maltose en 30 minutes.	0,240	0,196	0,090

7 octobre 1902 :

	Am. 4 ‰	Am. 3 ‰	Am. 2 ‰	Am. 1 ‰	Am. 0,5 ‰
Malt après 40 m.	0,370	0,364	0,337	0,219	0,105

EXPÉRIENCES AVEC LE SUC PANCRÉATIQUE FRAIS

28 août 1902 :

	Amidon 3 ‰	Amid. 1,5 ‰	Amid. 0,75 ‰
Maltose après 140 minutes.	2,04	1,01	0,46

29 août 1902 :

Maltose après 60 minutes.	0,145	0,085	0,066
---------------------------	-------	-------	-------

1^{er} septembre 1902 :

Maltose après 140 minutes.	0,085	0,046	0,028
----------------------------	-------	-------	-------

3 septembre 1902 :

Maltose après 80 minutes.	0,078	0,053	0,038
---------------------------	-------	-------	-------

6 septembre 1902 :

Maltose après 75 minutes.	0,142	0,112	0,81
---------------------------	-------	-------	------

9 septembre 1902 :

Maltose après 60 minutes.	0,114	»	0,055
---------------------------	-------	---	-------

11 septembre 1902 :

Maltose après 45 minutes.	0,101	»	0,056
---------------------------	-------	---	-------

On voit que les résultats sont les mêmes pour le suc pancréatique frais et pour l'amylase du suc pancréatique desséché. L'action de la concentration en amidon ressemble ici beaucoup aux résultats que nous avons obtenus pour l'action de la concentration du saccharose dans le cas de l'invertine et de la salicine dans le cas de l'émulsine.

Voici enfin les résultats obtenus pour l'amylase du malt qui sont bien conformes aux résultats classiques des différents auteurs.

EXPÉRIENCES AVEC L'AMYLASE DU MALT

5 septembre 1902.

	Amidon 3 %	Amidon 1,5 %	Amidon 0,75 %
Maltose après 60 min.	0,192	0,174	0,145

6 septembre 1902.

Maltose après 40 min.	0,180	0,154	0,124
-----------------------	-------	-------	-------

11 septembre 1902.

	Amidon 3 %	Amidon 1,5 %	Amidon 0,75 %	Amidon 0,375 %
Malt. ap. 40 m.	0,130	0,114	0,112	0,082

20 septembre 1902.

	Amidon 3 %	Amidon 1,5 %	Amidon 0,75 %
Maltose après 30 min.	0,098	0,104	0,100

36. Théorie de la loi d'action de l'amylase. —

Cette analogie entre les résultats obtenus pour l'amylase et pour les deux ferments précédents, invertine et émulsine, nous permet de supposer que la loi d'action de l'amylase est la même que celle des deux autres ferments.

Nous supposons donc que l'amylase forme avec l'amidon et l'un ou plusieurs des produits de l'hydrolyse des combinaisons, de sorte que l'expression qui doit rester constante a pour forme

$$K_3 = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right] + \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x},$$

seulement dans le cas de l'amylase, puisque la courbe de formation du maltose est une logarithmique, on pourra supposer que les coefficients m et n sont égaux entre eux ; dans ce cas la formule devient plus simple et prend la forme

$$(I) \quad K_3 = \frac{1}{t} (1 + ma) \ln \frac{a}{a - x}.$$

Il resterait à déterminer le coefficient m , mais nous ne pouvons pas encore le faire par manque de données, ainsi que nous l'avons vu plus haut.

La formule (I) et encore mieux l'expression de la vitesse

$$(II) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a - x)}{1 + ma}$$

permet de faire une discussion qualitative sur la forme générale de la courbe et sur l'action exercée par la concentration en amidon. Cette discussion a été faite dans le paragraphe 25, nous ne nous y arrêtons donc pas ; rappelons seulement qu'elle donne bien pour l'influence de la quantité d'amidon sur la vitesse d'hydrolyse un résultat conforme aux données expérimentales que nous avons rapportées dans le paragraphe précédent.

37. Conclusion générale. — La conclusion générale qui résulte de l'ensemble des expériences qui ont été exposées dans le cours de ce travail est que l'on peut ramener les actions diastasiques aux lois de la chimie générale. Pour le faire, il faut supposer qu'il se forme des combinaisons intermédiaires d'une part entre la diastase et les corps à transformer, d'autre part entre la diastase et l'un ou plusieurs des produits de la réaction. Ces combinaisons sont considérées comme incomplètes et obéissent à la loi de l'action des masses de Berthollet, Guldberg et Waage.

L'hypothèse de la formation des combinaisons intermédiaires est justifiée par une série d'arguments différents que voici :

1° Les recherches de E. Fischer sur les diastases qui montrent qu'il existe une relation constante entre une diastase et la constitution chimique des corps qui sont transformés par cette diastase. 2° L'action retardatrice exercée par les produits de la réaction ; cette action retardatrice dépend non seulement de la quantité de ces produits, mais aussi de la quantité du corps à transformer qui se trouve dans la solution. 3° L'étude cinétique des réactions diastasiques montre que ces réactions font partie du groupe des réactions catalytiques, dans lesquelles il y a formation de combinaisons intermédiaires incomplètes qui se forment rapidement et se décomposent lentement. 4° La loi théorique de la vitesse d'une réaction diastasique, obtenue en écrivant les équations caractéristiques des états d'équilibres entre la diastase et les corps qui interviennent dans la réaction, donne comme

expression de cette vitesse

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a-x)}{1+m(a-x)+nx};$$

les expériences très nombreuses faites avec l'invertine et l'émulsine ont montré qu'il était possible de trouver pour m et n des valeurs telles que cette loi se trouvait vérifiée d'une manière très satisfaisante dans des limites de concentrations très larges.

La loi générale de l'action des diastases contient donc deux constantes m et n qui sont caractéristiques de la diastase et qui, pour une diastase donnée, pourront varier avec la nature du milieu et surtout avec la température.

C'est surtout cette variation de m et n avec la température qui sera intéressante à étudier; en effet, m et n sont les constantes d'équilibre entre le ferment et le corps à transformer ou les produits de la réaction. Or, nous savons, d'après les recherches de Van't Hoff, que dans un équilibre entre plusieurs corps $A + B \rightleftharpoons C + D$ qui est représenté par la relation suivante entre les quatre concentrations

$$c_1c_2 = Kc_3c_4,$$

la constante d'équilibre K varie avec la température, et cette variation est liée à la chaleur de la réaction chimique qui donne lieu à l'équilibre; on a, en effet, d'après Van't Hoff

$$\frac{d \log K}{dT} = \frac{q}{2T^2}$$

où q est la chaleur de la réaction et T la température absolue.

Par conséquent, si pour une variation déterminée de la température on mesure la variation de la constante K on peut en déduire par le calcul la valeur de q . Donc l'étude de l'action de la température sur la loi d'action des diastases pourra conduire à une connaissance plus précise de chacune de deux combinaisons supposées : 1° entre la diastase et le corps à transformer ; 2° entre les diastases et les produits de la réaction. C'est dans ce sens que nous comptons continuer ces recherches.



CONCLUSIONS

Introduction. — I. L'étude des actions catalytiques montre qu'il y a lieu de considérer toute une série de groupes différents de ces actions. La classification proposée dans le § 5 comprend cinq cas différents : 1° Catalyse pure par simple présence ; 2° Autocatalyse ; 3° Formation de combinaisons intermédiaires se produisant très rapidement ; ces combinaisons peuvent être complètes ou incomplètes ; 4° Combinaisons intermédiaires se produisant lentement ; 5° Action d'un catalysateur sur une série de réactions successives.

II. L'étude de la loi de la vitesse d'une réaction catalytique permet de décider quel est le groupe auquel appartient cette action catalytique.

Etudes sur l'invertine. — III. La vitesse d'inversion du saccharose produite par l'invertine est plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique des acides.

IV. Le ferment reste comparable à lui-même pendant toute la durée de la réaction, son activité ne dépend que de la composition du milieu dans lequel il se trouve.

V. Le sucre interverti ralentit la réaction produite par

l'invertine; ce ralentissement est d'autant plus fort que la quantité de sucre interverti est plus grande.

VI. Une même quantité de sucre interverti ralentit une inversion d'autant plus que la quantité de saccharose présente dans la solution est plus faible.

VII. L'action ralentissante des produits de la réaction est due presque uniquement au lévulose.

VIII. Lorsqu'on étudie la vitesse d'inversion pour des solutions de concentrations différentes en saccharose, on trouve que pour les solutions diluées (au-dessous de 0,1 normale) la vitesse augmente avec la concentration; pour les solutions moyennes (entre 0,1 et 0,5 normale) la vitesse est indépendante de la quantité de saccharose et pour les solutions concentrées la vitesse diminue à mesure que la concentration augmente.

IX. La vitesse d'inversion est proportionnelle à la quantité d'invertine.

X. Si l'on suppose que la diastase forme avec le saccharose et le sucre interverti deux combinaisons, donnant lieu à des équilibres, et que l'on applique la loi de l'action des masses à ces deux équilibres, on en déduit pour la loi de l'action de la diastase une formule qui satisfait complètement à toutes les expériences sur l'invertine. D'après cette loi la vitesse de l'action diastasique a pour expression

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K(a-x)}{1 + m(a-x) + nx}$$

Les constantes m et n sont caractéristiques de la diastase, de la température et du milieu.

Action de l'émulsine sur la salicine. — XI. La vitesse d'hydrolyse de la salicine par l'émulsine est plus lente que ne l'indique la loi logarithmique des acides.

XII. La relation entre la concentration en salicine et la vitesse d'hydrolyse est la même que dans le cas de l'inversion du saccharose par l'invertine.

XIII. L'émulsine reste comparable à elle-même pendant toute la durée de l'hydrolyse. Son activité ne dépend que de la composition du milieu.

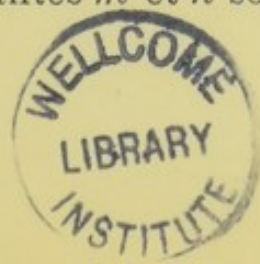
XIV. Les produits de l'hydrolyse ralentissent l'action de l'émulsine de la même manière que dans le cas de l'invertine.

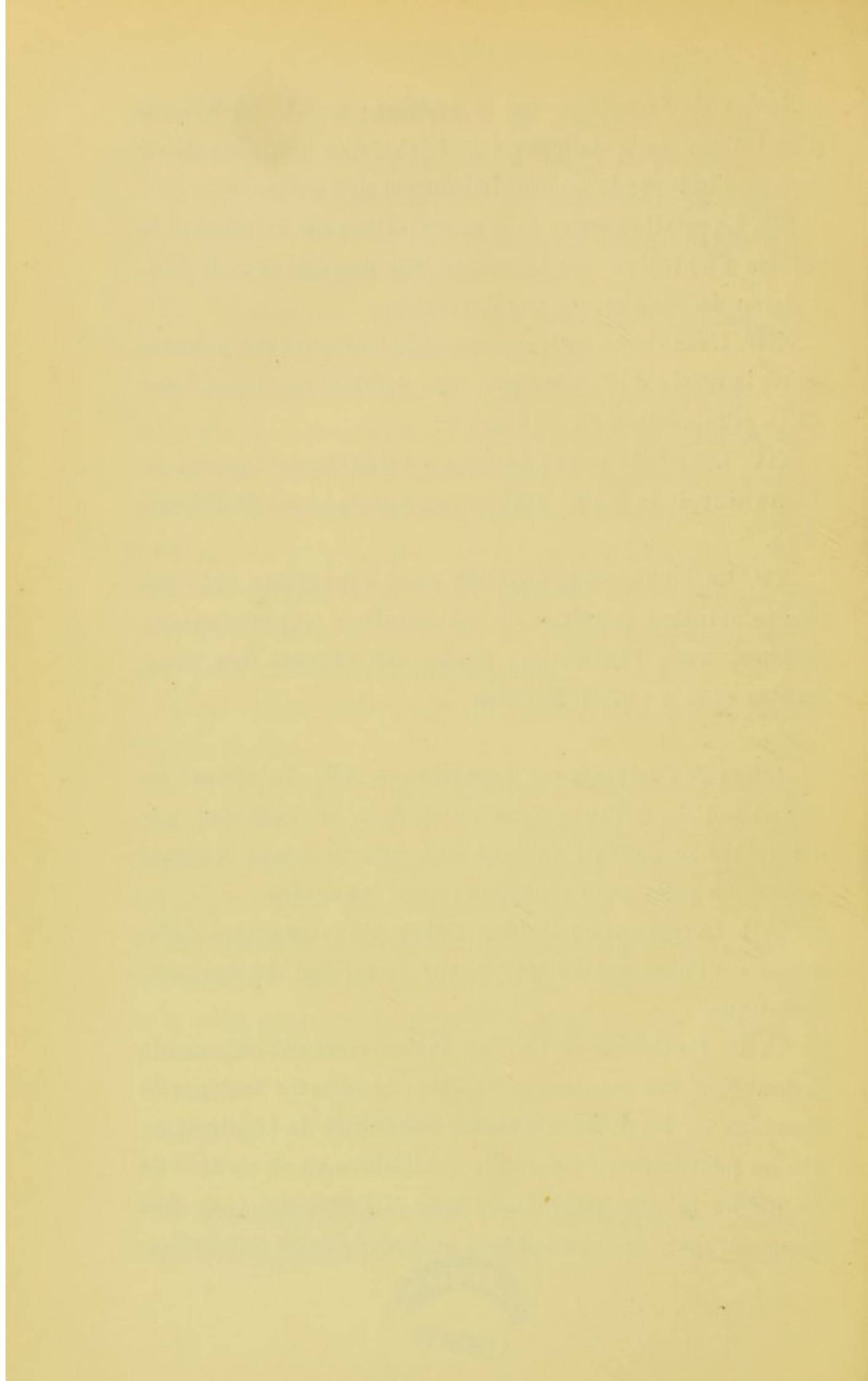
XV. La loi théorique établie pour l'invertine explique d'une manière satisfaisante les résultats expérimentaux obtenus avec l'émulsine ; seules les valeurs des constantes m et n sont différentes.

Action de l'amylase sur l'amidon. — XVI. La vitesse de formation du maltose dans l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase se produit suivant une courbe logarithmique pareille à celle que l'on obtient avec les acides.

XVII. La quantité d'amidon influe d'une manière différente sur l'amylase du malt et sur l'amylase du suc pancréatique.

XVIII. La théorie de l'action de l'amylase est impossible à donner d'une manière complète, par suite du manque de données sur les différents stades successifs de l'hydrolyse. On ne peut faire qu'une étude qualitative en se servant de la même loi que pour l'invertine et l'émulsine ; on doit supposer que les constantes m et n sont égales entre elles.





Saint-Amand (Cher). — Imprimerie BUSSIÈRE.

