

⁰ BIOCHEMICAL PROBLEMS OF LIPIDS

Proceedings of the Second International Conference held at the University of Ghent 27-30 July, 1955, organized with the collaboration of the 'Vlaamse Chemische Vereniging' of Belgium, under the presidency of Professor R. Ruysen

Editors

G. POPJÁK : E. LE BRETON

Editorial Board

S. Bergström	H. A. Boekenoogen
E. Le Breton	H. Dani
P. Ekwall	P. Favarger
A. C. Frazer	D. E. Green
G. Jacini	E. Klenk
F. Lynen	S. Ochoa
G. Popják (Secretary)	R. Ruysen

LONDON
BUTTERWORTHS SCIENTIFIC PUBLICATIONS
1956

INTRODUCTION

The papers in this volume are arranged in four sections as they were presented at the meeting: (I) physical and chemical properties, methods of separation, and structures of lipids; (II) metabolism and biosynthesis, enzyme systems; (III) phospholipids and transport; and (IV) miscellaneous problems.

We were reminded by the papers read in section I that many problems of the physiological aspects of lipid metabolism are intimately linked with the complex chemical constitution of lipids and with their behaviour as amphiphilic substances.

Our knowledge of the structure and composition of natural phospholipids and related substances in plant and animal cells has much improved in recent years; this can be attributed almost entirely to the development of new methods of separation. Countercurrent distribution, and chromatography together with spectrophotometry are at present the most precious tools of lipid research, chemical and biochemical. The new vapour-phase chromatography applied to the analysis of mixtures of natural fatty acids revealed that these are far more complex than was thought formerly: besides the normal fatty acids containing an even number of carbon atoms a large variety of odd-numbered and branched-chain fatty acids have now been recognized. Since the oxidative metabolism of these produces propionic acid, so the study of propionic acid metabolism gained an added interest and was discussed in section II.

Until recently the biological oxidation and synthesis of fatty acids have been studied either in whole animals, tissue slices, isolated cells or cell structures such as mitochondria. From these studies a general picture arose but we had to wait for the isolation of soluble enzyme systems before a more intimate knowledge of the mechanism of these processes could be gained. By the efforts of three or four groups of researchers—represented by their leading scientists at the conference—we are now in a position to describe precisely most of the reactions of the 'fatty acid cycle'. The enzyme systems of the 'fatty acid cycle' having been isolated, physiologists will be much interested to learn about their distribution in the organism and their relative activity.

The transport of fatty acids has been considered as being linked with the metabolism of phospholipids, with their degradation and synthesis. However, this hypothesis appeared strongly controversial and, in the light of the discussions held at the conference, it is clear now that the whole question has to be reconsidered. The mechanism of intestinal absorption of fats and lipids was the subject of vivid discussions in 1953,

during our first conference, and this problem was taken up again in section III with new contributions which provided more definitive conclusions.

Discussions of the biosynthesis of cholesterol from labelled acetate, the problem of absorption of cholesterol and of other sterols were subjects of very interesting communications.

Lipotropic factors, the role of choline in the transport and oxidation of fatty acids as well as other nutritional factors were discussed in lectures and papers of sections III and IV. Another subject, which proved of great interest, was the study of polyethenoid fatty acids, their chemistry, biosynthesis, their metabolism and function.

The recent rapid advances in the study of the 'fatty acid cycle' with purified enzymes led to a somewhat confused terminology of these enzymes: enzymes isolated in various laboratories, but catalysing the same or similar reactions, have been denoted by widely different names. Uniformity of nomenclature was highly desirable and to achieve this a meeting of the specialist scientists was called during the conference. After thorough discussion they came to an agreement and their recommendations, which are being submitted to the International Union of Biochemistry for official consideration, are published as the last paper in section II of this volume.

As is apparent from the titles of the papers the conference gave a broad review of the most important advances made during recent years in the biochemistry of lipids. The papers were the subject of lively and constructive discussions, and special efforts have been made for their inclusion in this publication.

R. RUYSEN

Ghent, August 1956

CONTENTS

PART I—PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES; METHODS OF SEPARATION, STRUCTURES

ELECTROCHIMIE DES ACIDES GRAS ET DES LIPIDES IONIQUES	PAGE 3
D. G. Dervichian <i>Institut Pasteur, Paris, France</i>	
NON-AQUEOUS TITRATION OF LIPIDS, WITH PARTICULAR REFERENCE TO PHOSPHATIDES AND RELATED COMPOUNDS	14
James E. Garvin and Manfred L. Karnovsky <i>Department of Biological Chemistry and the Biophysical Laboratory, Harvard University Medical School, Boston, Massachusetts, U.S.A.</i>	
INTERACTIONS ENTRE ACIDES GRAS ET TRIGLYCERIDES	17
L. de Bernard et D. G. Dervichian <i>Institut Pasteur, Paris, France</i>	
SURFACE CHEMISTRY OF SYNTHETIC LECITHIN	24
P. J. Anderson <i>Department of Pharmacology, The Medical School, Birmingham</i> <i>and</i> B. A. Pethica <i>Department of Colloid Science, University of Cambridge</i>	
APPLICATION OF COUNTERCURRENT DISTRIBUTION TO THE STUDY OF LIPIDS	30
Edward H. Ahrens, Jun. <i>Hospital of the Rockefeller Institute for Medical Research, New York, U.S.A.</i>	
SEPARATION AND IDENTIFICATION OF METHYL ESTERS OF SATURATED AND UNSATURATED FATTY ACIDS FROM <i>n</i> -PENTANOIC TO <i>n</i> -OCTA- DECANOIC ACIDS	42
A. T. James and A. J. P. Martin <i>National Institute for Medical Research, Mill Hill, London</i>	
QUANTITATIVE PAPER CHROMATOGRAPHY OF LIPID CONSTITUENTS	49
June Olley <i>Torry Research Station, Food Investigation Organization, Department of Scientific and Industrial Research, Aberdeen</i>	
STUDIES ON THE VITAMIN A COMPONENTS OF FISH LIVERS: DETERMINA- TION AND ORIGIN	56
G. Lambertsen and O. R. Brackkan <i>Governmental Vitamin Laboratory, Bergen, Norway</i>	
FRACTIONNEMENT DES PHOSPHOLIPIDES PLASMATIQUES	64
Jaques Polonovski et Louis Douste-Blazy <i>Laboratoires de Biochimie des Facultés de Médecine de Paris et Toulouse, France</i>	

	PAGE
CHROMATOGRAPHIC FRACTIONATION OF TISSUE (LYMPHOSARCOMA) PHOSPHOLIPIDS	69
Maurice M. Rapport and Nicholas Alonzo <i>Division of Laboratories and Research, New York State Department of Health, the Sloan-Kettering Institute, Division of Experimental Pathology, and the Sloan-Kettering Division, Cornell University Medical College, New York, U.S.A.</i>	
CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF GLYCEROPHOSPHOLIPIDS	73
D. N. Rhodes and C. H. Lea <i>Low Temperature Station for Research in Biochemistry and Biophysics, University of Cambridge and Department of Scientific and Industrial Research</i>	
SOME OBSERVATIONS ON THE PREPARATION AND PROPERTIES OF PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE	81
C. H. Lea <i>Low Temperature Station for Research in Biochemistry and Biophysics, University of Cambridge and Department of Scientific and Industrial Research</i>	
RECENT SYNTHETIC WORK IN THE PHOSPHOLIPID FIELD	91
R. L. Baylis, T. H. Bevan and T. Malkin <i>Chemistry Department, Bristol University</i>	
UNCERTAINTY IN LIPID STRUCTURES	95
J. A. Lovern <i>Torry Research Station, Food Investigation Organization, Department of Scientific and Industrial Research, Aberdeen</i>	
ETHANOL-INSOLUBLE PHOSPHATIDES OF OX LIVER	104
J. N. Hawthorne and J. Hawthorne <i>Pharmacology Department, University of Birmingham, England, and Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris, France</i>	
THE INTERACTION OF SERUM ALBUMIN WITH FATTY ACID MULTILAYERS	108
Harry Sobotka <i>Department of Chemistry, The Mount Sinai Hospital, New York, U.S.A.</i>	
CONFIGURATION OF CEREBROSIDES	115
Y. Fujino <i>Department of Biochemistry, Obihiro University, Obihiro, Hokkaido, Japan, and</i>	
H. E. Carter <i>Department of Chemistry and Chemical Engineering, University of Illinois, U.S.A.</i>	
SOLUBILIZATION OF LIPOPHILIC SUBSTANCES BY PROTEIN-ASSOCIATION COLLOID COMPLEXES	120
Per Ekwall <i>Institute of Physical Chemistry, Åbo Akademi, Åbo, Finland</i>	
RECENT IDEAS ON THE STRUCTURE OF MYELIN	127
J. B. Finean <i>Department of Pharmacology, University of Birmingham Medical School</i>	
 PART II—METABOLISM AND BIOSYNTHESIS, ENZYME SYSTEMS	
SYNTHESIS OF FATTY ACIDS BY SOLUBLE ENZYME PREPARATIONS	135
Priscilla Hele and G. Popják <i>M.R.C. Experimental Radiopathology Research Unit, Hammersmith Hospital, London</i>	

ZUR SPEZIFITÄT DER ENZYME DES FETTSÄURECYCLUS	PAGE 142
F. Lynen, K. Decker, O. Wieland und D. Reinwein <i>Institut für Zellchemie an der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie (Max-Planck-Institut) München und Chemisches Laboratorium der Universität München, Institut für Biochemie, Deutschland</i>	
DIE VERTEILUNG DER ENZYME DES FETTSÄURECYCLUS IM TIFRISCHEN UND MENSCHLICHEN ORGANISMUS	155
Otto Wieland, Dankwart Reinwein and Feodor Lynen <i>Aus dem Institut für Zellchemie an der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie München und Chemisches Laboratorium der Universität München, Institut für Biochemie, Deutschland</i>	
STUDIES ON ENZYMES OF FATTY ACID METABOLISM, CRYSTALLINE CROTONYL-HYDRASE (CROTONASE) AND PURIFIED HEART THIOLASE	162
Joseph R. Stern <i>Department of Pharmacology, School of Medicine, Western Reserve University, Cleveland, Ohio, U.S.A.,</i> and Severo Ochoa <i>Department of Biochemistry, New York University College of Medicine, New York, U.S.A.</i>	
RAPPORTS ENTRE L'ACTION ACTIVATRICE DÉVELOPPÉE SUR L'OKYDASE DES ACIDES GRAS PAR L'ATP ET CELLE DÉVELOPPÉE PAR QUELQUES ACIDES DU CYCLE DE KREBS	174
C. R. Rossi <i>Instituto Chimica Biologica, Università Padova, Padova, Italia</i>	
STUDIES ON PANCREATIC LIPASE	179
Bengt Borgström <i>Department of Physiological Chemistry, University of Lund, Sweden</i>	
ÜBER DIE BIOGENESE DER C ₂₀ - UND C ₂₂ -POLYENSÄUREN BEI DEN SÄUGETIEREN	187
E. Klenk <i>Physiologisch-chemisches Institut der Universität, Zölpicherstr. 47, Köln, Deutschland</i>	
SYNTHESIS AND METABOLISM OF METHYL-SUBSTITUTED OCTADECANOIC AND 2:2-DIMETHYLNONADECANOIC ACIDS	193
N. Tryding and G. Westöö <i>Department of Physiological Chemistry, University of Lund, Sweden</i>	
INFLUENCE OF LIVER FAT METABOLISM BY CERTAIN COMPOUNDS WITH BRANCHED METHYL GROUPS	200
Karl Bernhard and H. Wagner <i>Department of Physiological Chemistry, University of Basle, Switzerland</i>	
FETTSÄUREN MITTLERER KETTENLÄNGE IM STOFFWECHSEL	203
Günther Weitzel <i>Physiologisch-chemisches Institut der Justus Liebig-Hochschule, Friedrichstr. 24, Gießen, Deutschland</i>	
METABOLISM OF PROPIONIC ACID IN ANIMAL TISSUES	208
Martin Flavin, Priscilla J. Ortiz and Severo Ochoa <i>Department of Biochemistry, New York University College of Medicine, New York, U.S.A.</i>	
PROPIONATE AS A PRECURSOR OF MILK CONSTITUENTS IN THE PER-FUSED COW'S UDDER	213
M. Lauryssens, G. Peeters, R. Coussens and R. de Loose <i>Department of Physiology, Veterinary College, University of Ghent and Department of Physiological and Analytical Chemistry, Agricultural Institute, Ghent, Belgium</i>	

CONTENTS

	PAGE
FURTHER STUDIES ON THE BIOSYNTHESIS OF CHOLESTEROL AND SQUALENE J. W. Cornforth, G. Popják and Irene Youhotsky Gore <i>National Institute for Medical Research, Mill Hill, and M.R.C. Experimental Radio- pathology Research Unit, Hammersmith Hospital, London</i>	216
L'IMPORTANCE PRÉPONDÉRANTE DU TISSU ADIPEUX DANS LA LIPOGENESE PENDANT LA RECONSTITUTION DES RÉSERVES; AVEC UNE NOTE SUR LE RÔLE DES PHOSPHOLIPIDES P. Favarger et V. Handwerck <i>Université de Genève, Institut de Chimie Physiologique, École de Médecine, Genève, Suisse</i>	224
FATTY ACID OXIDATION AND SYNTHESIS IN A SYSTEM OF SOLUBLE ENZYMES David E. Green <i>Institute for Enzyme Research, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, U.S.A.</i>	233
NOMENCLATURE OF ENZYMES OF FATTY ACID METABOLISM	246
 PART III—PHOSPHOLIPIDS AND TRANSPORT	
ENZYMIC DEGRADATION OF OVOLECITHIN AND RELATED SUBSTANCES BY PHOSPHOLIPASES A AND D Flora M. Davidson, C. Long and I. F. Penny <i>Department of Biological Chemistry, University of Aberdeen</i>	253
HYDROLYSE DES PHOSPHOLIPIDES ET LÉCITHASE HEPATIQUE CHEZ LE RAT Marc Pascaud <i>Institut de Recherches sur le Cancer de l'Université de Paris et du C.N.R.S.; Département de Physiologie et Biochimie Cellulaires, Paris, France</i>	263
RECHERCHES SUR LA LECITHINASE C Giovanni Jacini et Anna Candela <i>Stazione sperimentale per le industrie degli olii e dei Grassi, Milano, Italia</i>	267
BIOCHEMISTRY OF THE LECITHINASES Donald J. Hanahan <i>Department of Biochemistry, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.</i>	274
BREAKDOWN OF PHOSPHOGLYCERIDES IN LIVER TISSUE R. M. C. Dawson <i>Biochemistry Department, Institute of Animal Physiology, Babraham Hall, Cambridge</i>	280
LA CHOLINE ET LES PHOSPHATIDES À CHOLINE DANS LE CATABOLISME DES ACIDES GRAS Marianne Levy <i>Laboratoire de Physiologie Générale de la Sorbonne, Paris, France</i>	285
LA VITESSE DE MÉTABOLISME DES ACIDES GRAS DANS LES GLYCERIDES, PHOSPHATIDES ET ACIDES PHOPHATIDIQUES R. Ruysen et P. De Moerloose <i>Laboratoire de Chimie Médicale et de Biochimie Physique, Université de Ghent, Belge</i>	291
METABOLISM OF GLYCERIDE-GLYCEROL L. I. Gidez <i>Medical Department Brookhaven National Laboratories, Long Island, New York, U.S.A.</i> and Manfred L. Karnovsky <i>Biophysical Laboratory, Harvard University Medical School, Boston, Massachusetts, U.S.A.</i>	301

	PAGE
ÉTUDE DU DEGRÉ DE DESATURATION DES ACIDES GRAS LIBÉRÉS AU COURS DE LA LIPOLYSE <i>IN VIVO</i> ET <i>IN VITRO</i> PAR LE SUC PANCRÉATIQUE DE RAT	306
G. Clément et J. Clément	
<i>Département de Physiologie et Biochimie Cellulaires, Institut de Recherches sur le Cancer de l'Université de Paris, France</i>	
FATTY ACID EXCHANGES DURING FAT DIGESTION IN THE HUMAN INTESTINE	315
E. H. Ahrens, Jun.	
<i>Hospital of the Rockefeller Institute for Medical Research, New York, U.S.A.</i>	
and	
Bengt Borgström	
<i>Department of Physiological Chemistry, University of Lund, Sweden</i>	
STUDIES ON THE INTESTINAL ABSORPTION OF FAT IN MAN WITH THE AID OF LABELLED OLEIC AND PALMITIC ACID	323
S. Bergström and R. Blomstrand	
<i>Department of Physiological Chemistry, University of Lund, Sweden</i>	
FURTHER OBSERVATIONS ON THE ABSORPTION OF FAT	331
A. C. Frazer, W. F. R. Pover, H. G. Sammons and R. Schneider	
<i>Department of Pharmacology, University of Birmingham</i>	
ABSORPTION AND DISTRIBUTION IN THE RAT OF LIPIDS UTILIZING LABELLED GLYCERIDES AND COMPONENTS	341
Margaret G. Morehouse, Wladimir P. Skipski, Ronald L. Searcy and Leonard Spolter	
<i>Department of Biochemistry, University of Southern California, Los Angeles, California, U.S.A.</i>	
ASSIMILATION OF FATTY ACIDS BY ADIPOSE TISSUE	347
B. Shapiro, I. Chowers and G. Rose	
<i>Department of Biochemistry, Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel</i>	
ABSORPTION AND METABOLISM OF DIHYDROCHOLESTEROL AND BETA-SITOSTEROL	353
R. Gordon Gould, L. V. Lotz and E. M. Lilly	
<i>Los Alamos Scientific Laboratory, University of California, Los Alamos, New Mexico, U.S.A.</i>	
STUDIES ON THE ABSORPTION AND METABOLISM OF STEROLS: MODE OF ABSORPTION	359
J. Glover and C. Green	
<i>Biochemistry Department, University of Liverpool</i>	
ESTERIFICATION DU CHOLESTEROL ET LIPOPROTÉINES SÉRIQUES	365
F. Tayeau	
<i>Centre de Recherches de Biologie préventive de la Sécurité Sociale de Bordeaux, France</i>	
et	
R. Nivet	
<i>Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté de Médecine, Bordeaux, France</i>	

PART IV—MISCELLANEOUS PROBLEMS

	PAGE
MEASUREMENT OF TOTAL BODY FAT IN MAN BY ABSORPTION OF CYCLOPROPANE	373
Gerson T. Lesser, Arnold G. Blumberg and J. Murray Steele <i>New York University, Goldwater Memorial Hospital, and Department of Medicine, New York University College of Medicine, New York, U.S.A.</i>	
LES LIPIDES HÉPATIQUES AU NIVEAU DES STRUCTURES CELLULAIRES	385
G. Clément, J. Clément et E. Le Breton <i>Institut de Recherches sur le Cancer Gustave Roussy, Département de Physiologie et Bio- chimie cellulaires, Paris, France</i>	
MINOR CONSTITUENTS OF UNSAPONIFIABLE FRACTIONS OF KIDNEY, LIVER AND OTHER TISSUES FROM VARIOUS SPECIES	395
R. A. Morton <i>Johnston Laboratories, Department of Biochemistry, University of Liverpool</i>	
THE EFFECT OF UNSATURATED FATTY ACIDS, OF VITAMIN D AND OTHER STEROLS ON GRAM-POSITIVE BACTERIA	401
E. Kodicek <i>Dunn Nutritional Laboratory, University of Cambridge and Medical Research Council</i>	
LIPOXIDASE CATALYSED OXIDATION OF POLY-UNSATURATED FATTY ACIDS	407
W. O. Lundberg <i>The Hormel Institute (University of Minnesota), Austin, Minnesota, U.S.A.</i>	
TROUBLES CELLULAIRES ET FONCTIONELS DUS À LA CARENCE EN CHOLINE. MÉCANISMES D'ACTION DE CETTE SUBSTANCE	412
Eliane Le Breton <i>Professeur à la Sorbonne, Sous-directeur de l'Institut de Recherches sur le Cancer de l'Université de Paris et du C.N.R.S., Paris, France</i>	
DIETARY FACTORS IN THE OXIDATION AND SYNTHESIS OF FATTY ACID BY TISSUE PREPARATIONS	430
Camillo Artom <i>Department of Biochemistry, Bowman Gray School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, U.S.A.</i>	
SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION LIPOTROPE DE LA CHOLINE; IN- FLUENCE DE LA CHOLINE ET DE LA BÉTAÏNE EN ABSENCE DE CHOLIN- OXYDASE	438
Carlo Stefano Rossi <i>Istituto Chimica Biologica, Università Padova, Padova, Italia</i>	
THE ACTION OF SOME LIPOTROPIC FACTORS ON CHOLINE OXYDASE	444
Antonio Pittoni <i>Institute of Biochemistry, University of Padova, Padova, Italy</i>	
RÔLE DE LA CHOLINE A L'ÉGARD DE LA TOXICITÉ DE CERTAINS MÉLANGES LIPIDES-CHOLESTÉROL	447
J. Raulin <i>Biochimie de la Nutrition, Centre National de la Recherche Scientifique, Bellevue, France</i>	

CONTENTS

THE BIOLOGICAL VALUE OF VARIOUS NATURAL OILS AND FATS	PAGE 452
H. J. Thomasson <i>Unilever Research Laboratorium, Zwijndrecht, Nederland</i>	
FUNCTION AND METABOLISM OF ESSENTIAL FATTY ACIDS	463
Ralph T. Holman <i>Hormel Institute and Department of Physiological Chemistry, University of Minnesota, Austin, Minnesota, U.S.A.</i>	
THE VITAMIN F ACTIVITY OF HIGHLY UNSATURATED FATTY ACIDS FROM HUMAN BRAIN GLYCERO-PHOSPHATIDES	472
H. de Jongh <i>Unilever Research Laboratorium, Zwijndrecht, Nederland</i>	
THE EFFECT OF DEFICIENCY OF ESSENTIAL FATTY ACIDS UPON THE SKIN	476
V. Basnayake and H. M. Sinclair <i>Laboratory of Human Nutrition, University of Oxford</i>	
ÉTUDE SUR L'ÉTAT PHYSIQUE DES LIPIDES DANS LE LAIT	485
J. Baudet et D. G. Dervichian <i>Institut Pasteur, Paris, France</i>	
ACTION DE L'HÉPARINE <i>IN VITRO</i> SUR LES LIPIDES ET LES PROTEINES DU SÉRUM SANGUIN	491
Colette Magis <i>Institut Pasteur, Paris, France</i>	
CO-CARCINOGENIC LIPIDS	496
Kai Setälä, Paul Holsti, Sinikka Lundbom and Heikki Setälä <i>Department of Pathology, University of Helsinki, Finland</i>	

INDEX

PART I
PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES;
METHODS OF SEPARATION, STRUCTURES

ELECTROCHIMIE DES ACIDES GRAS ET DES LIPIDES IONIQUES

D. G. DERVICHIAN

Le problème du titrage des phosphatides et celui de la fixation des ions par ces substances ont été étudiés par de nombreux auteurs. Tous sont d'accord pour admettre que des anions et des cations peuvent être fixés par les céphalines alors que la lécithine ne se combine pas avec les cations.

Afin de mieux pouvoir interpréter le comportement électrochimique des phosphatides, il est nécessaire d'examiner d'abord les particularités que présente le titrage électrométrique des acides gras en solution aqueuse. Il s'agit là d'un travail inédit effectué en collaboration avec J. Képès (1956) et dont je ne rapporte ici que les résultats essentiels. Lorsque l'on effectue le titrage d'une solution de laurate de potassium relativement diluée, la courbe de titrage a la forme habituelle que présentent les courbes relatives à la neutralisation d'un acide monobasique faible comme l'acide acétique par exemple. Mais, lorsque les concentrations en savon deviennent importantes et que dans la solution, l'association en micelles prend de l'importance, les courbes de titrage se déforment jusqu'à finir par présenter deux paliers de transition. Tout se passe comme s'il s'agissait du titrage d'un acide dibasique.

Titration des acides gras

La courbe de la *Figure 1* est relative à une solution de laurate de potassium 0,005 M. Jusqu'à cette concentration la courbe est bien régulière, avec palier vers pH 7,3. Avec les concentrations plus grandes en laurate, apparaît, sous forme d'une bosse de plus en plus importante, un début de deuxième palier. La *Figure 2* présente le cas limite obtenu avec une solution 0,2 M de laurate de potassium. Ici, la bosse s'est transformée en un deuxième palier et la courbe est tout à fait semblable à celle du titrage de deux acides faibles ayant deux pK différents. L'existence de ces deux paliers est due à la formation d'un savon acide. Le premier palier est à pH 9,4 et correspond à l'équilibre savon neutre-savon acide. Le deuxième palier à pH 6,3 correspond à la transformation savon acide-acide gras libre. On voit que le passage d'un des paliers à l'autre se produit à la demi neutralisation et correspond à la formation du composé $(R-COO)_2HK$. L'existence du sel acide d'un acide gras est incompréhensible du point de vue chimique si l'on envisage la solution formée de molécules dissoutes indépendantes. Mais ainsi que nous l'avons vu, la formation du savon acide est en relation directe avec l'existence des micelles. On peut dire d'une façon abrégée que tout se passe comme si, dans la micelle, il y avait association d'un

nombre égal de molécules de savon neutre et de molécules d'acide gras libre. D'un autre point de vue, en partant de l'acide gras libre, on pourrait dire que, sur des particules formées par l'association de plusieurs molécules d'acide gras, il y a d'abord fixation d'un nombre égal à un demi équivalent d'ions potassium, ce qui correspond à un premier équilibre, et ensuite

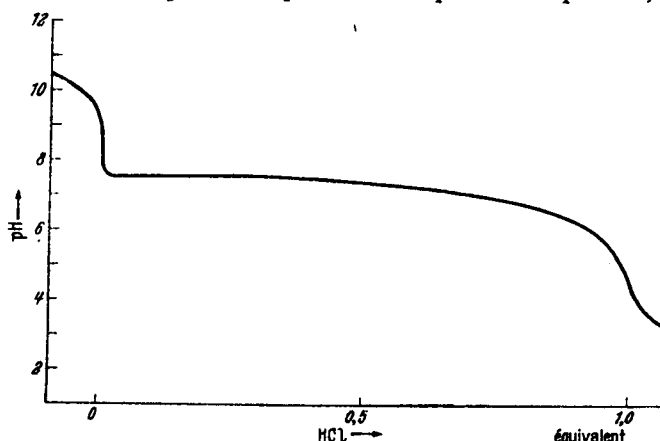


Figure 1. Titrage potentiométrique. Solution aqueuse de laurate de potassium 0,005 M.

fixation de la quantité équivalente totale d'ions potassium donnant lieu aux micelles de savon neutre.

Le comportement électrochimique des phosphatides en solution aqueuse peut également s'expliquer si l'on ne perd pas de vue que ces substances ne

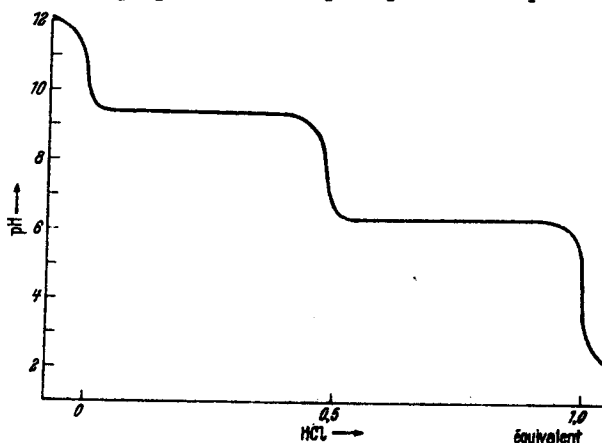


Figure 2. Titrage potentiométrique. Solution aqueuse de laurate de potassium 0,2 M.

sont pas dispersées en solution aqueuse à l'état de molécules libres mais au contraire en micelles et même le plus souvent en fragments de particules gonflées d'eau que l'on confond parfois avec des émulsions et qui ont été décrites ailleurs (Dervichian, 1946; Browaey et Dervichian, 1946).

Titration potentiométrique des phosphatides

Dans le présent travail nous avons repris les titrages potentiométriques et l'étude de la fixation des cations métalliques par les phosphatides en les effectuant de façon systématique sur les différentes fractions de céphaline extraites du cerveau de boeuf (en fait un mélange de 700 g. de cerveau de boeuf et 200 g. de cerveau de veau). Ce fractionnement a été opéré par la méthode décrite par Folch (1942) et en suivant exactement les indications de cet auteur. La lécithine a été isolée à partir de la solution alcoolique obtenue lors de l'extraction de l'ensemble des céphalines, lorsque l'on traite la préparation par de l'alcool éthylique après l'avoir extraite à deux reprises par de l'acétone. Cette solution alcoolique a été concentrée et la lécithine a été précipitée par addition d'acétone. Le précipité a été lavé

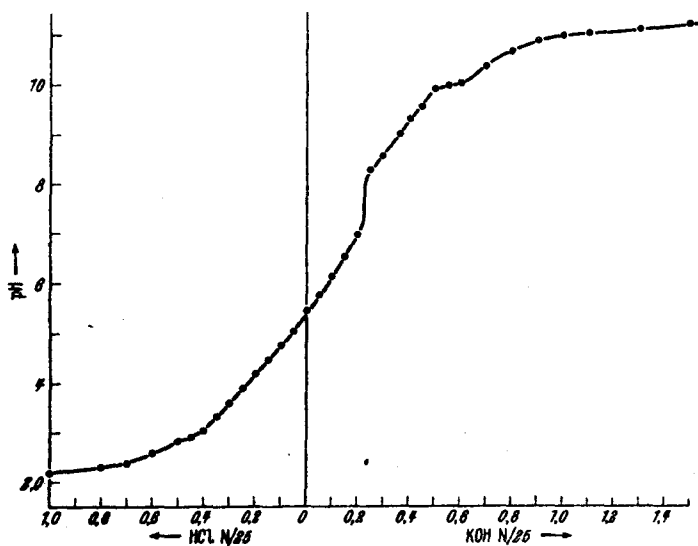


Figure 3. Titration potentiométrique. Fraction III (phosphatidyl-sérine). 3 cm.³ de solution à 0,95%.

plusieurs fois avec de l'acétone. La précipitation par un sel de cadmium a été évitée pour ne pas risquer d'introduire des ions métalliques.

Le pH a été mesuré au moyen d'une électrode de verre avec un appareil sensible à 0,01 unité de pH et permettant de mesurer facilement 0,05 unité.

Les solutions ont été faites dans de l'eau bidistillée et bouillie.

La Figure 3 reproduit la courbe de titrage potentiométrique de la fraction III de Folch constituée par la phosphatidyl-sérine. Du côté acide apparaît la fin du titrage après addition de 0,7-0,8 cm.³ de HCl N/25. A partir de ce point le pH ne descend plus que lentement du fait des nouvelles additions de ClH qui se trouvent diluées dans le volume total. Le calcul montre que cette quantité de 0,7 à 0,8 cm.³ est bien équivalente à la quantité nécessaire pour neutraliser une fonction basique monovalente dans chaque molécule de céphaline. On remarque toujours, du côté acide, un changement de pente pour 0,4 cm.³, correspondant à la moitié de la neutralisation. Cette

singularité est à rapprocher de celles qui seront signalées plus loin à propos de l'acidification par addition d'un sel neutre.

Du côté alcalin, la fin du titrage apparaît bien pour la quantité équivalente de $0,8 \text{ cm}^3$ de KOH N/25 et à pH 10. Après ce saut de titrage, le pH monte lentement du fait de l'addition progressive de KOH dans le système neutralisé. On remarquera le saut brusque qui apparaît sur la courbe du côté alcalin entre $0,2$ et $0,3 \text{ cm}^3$. Il ne s'agit certainement pas d'un accident fortuit, car cette discontinuité a été observée en répétant les mesures sur deux solutions différentes. Cette discontinuité peut être rapprochée de celle que l'on observe dans le titrage de solutions de savon, d'autant plus qu'elle s'estompe avec la dilution et est beaucoup moins apparente dans la courbe de titrage de la phosphatidyl-sérine à une concentration de $0,5 \%$. Cette discontinuité est en relation avec l'existence de la fonction carboxylique de la sérine entrant dans la constitution de ce phosphatide.

La courbe de titrage de la fraction II, qui suivant Folch est constituée par un mélange de la fraction I (Inositol-phosphatide) et de la fraction III (phosphatidyl-sérine) présente les mêmes particularités du côté acide: fin de la neutralisation par la quantité équivalente de HCl et changement de pente vers la demi équivalence. Du côté alcalin, également, le saut de titrage se produit, comme avec la fraction III, vers un pH légèrement supérieur à pH 10. Une discontinuité un peu plus estompée que sur la figure 1 apparaît aussi vers $0,2 \text{ cm}^3$ de KOH .

La courbe de titrage de la fraction V a une forme beaucoup plus régulière que celle de la fraction III. Elle ne présente pas la discontinuité du côté alcalin et la neutralisation du côté alcalin se produit également vers pH 10,5. Mais, le fait important est qu'avec cette fraction constituée par la phosphatidyl-éthanolamine, le pH initial de la solution est beaucoup plus acide que dans le cas des fractions II et III. Ici, la solution dans l'eau bidistillée bouillie a un pH de 3,5. Tout se passe comme si le pH de la solution avait été abaissé par la présence d'un sel. En effet, alors que la neutralisation du côté acide se produit pour $0,6 \text{ cm}^3$ de ClH N/25 , du côté alcalin, la neutralisation se produit pour $0,85 \text{ cm}^3$ de KOH N/25 . En prenant le milieu de la distance des abscisses de ces deux points de neutralisation, on tombe du côté alcalin de la courbe et en un point de celle-ci qui correspond à un pH de 5,5. Ce décalage correspondrait à la quantité équivalente de sel fixé.

La Figure 4 représente le côté alcalin de la courbe de titrage de la fraction V. On voit que la courbe de retour, obtenue par addition de HCl après neutralisation par KOH , est fortement décalée par rapport à la courbe d'aller (addition de KOH). Le décalage s'obtient dans tous les cas, même avec les fractions II et III et se comprend facilement à la lumière de ce qui sera dit plus loin à propos de l'abaissement du pH produit par l'addition d'un sel neutre à une solution de phosphatide. En effet, au fur et à mesure de l'addition de HCl , il se forme KCl avec la potasse primitivement fixée et tout se passe comme si on avait additionné un sel neutre et provoqué ainsi un abaissement du pH. Mais le point important est qu'ici, le décalage est beaucoup plus marqué avec cette fraction V. On retrouve donc un autre argument pour la présence de sels fixés dans la préparation initiale.