

(LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE MÉDICALE DE L'UNIVERSITÉ DE COPENHAGUE
DIRECTEUR M^r C.-J. SALOMONSEN)

SUR LA PRODUCTION D'ALDÉHYDE FORMIQUE
QUE DÉTERMINE LA LUMIÈRE DANS LES CORPS
ALBUMINOÏDES

PAR

AAGE-A. MEISLING

Dans un travail récemment publié¹ j'ai montré que certains colloïdes organiques sont sensibles à la lumière. Les recherches dont il s'agissait alors avaient été faites avec de la gélatine et de la gomme; elles ont donné les résultats suivants:

1° La lumière exerce une action précipitante et durcissante sur les corps en question, dont la puissance d'adsorption diminue avec l'intensité de l'action lumineuse.

2° L'addition des couleurs d'aniline a sur la gélatine et sur la gomme une influence photosensibilisatrice, grâce à laquelle les effets de la lumière se produisent plus vite et deviennent plus intenses. L'érythrosine, l'éosine et l'auramine ont été reconnues comme des sensibilisateurs très énergiques.

3° Des particules de charbon ou de pigment mêlées à la gélatine ou à la gomme se fixent, quand leur milieu est durci par la lumière.

¹ Recherches sur la sensibilité des colloïdes à la lumière; Bulletin de l'Académie Royale des Sciences et des Lettres du Danemark, 1908, p. 167.

Une série de recherches plus récentes ont eu pour but
 1° d'établir la cause de l'action précipitante et durcissante de la lumière;

2° de trouver des méthodes pour mesurer l'intensité de l'action lumineuse.

Dans mes expériences, l'exposition a eu lieu au soleil (d'été) toutes les fois que le lecteur n'est pas averti du contraire; elle n'a jamais duré moins de 2 heures.

Quand le soleil faisait défaut je me suis servi d'une lampe de Bang à électrodes de fer. J'en ai obtenu des effets semblables après 2 heures d'exposition.

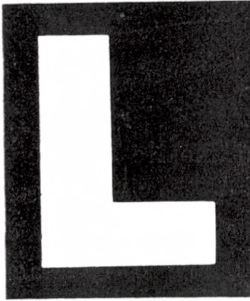


Fig. 1.

Comme négatif j'ai employé le plus souvent un papier opaque, noir, où avait été découpé un L (c.-à-d. lumière).

Les expériences ont été faites avec:

1° Une solution de gélatine à 10 0/0, figée sur du verre;

2° La même solution de gélatine figée sur du papier à filtrer non collé, insensible à la lumière;

3° Une solution de gélatine à 10 0/0, additionnée de 5 0/0 de glycérine;

4° Du papier gélatiné et satiné, préparé avec ce même mélange.

(Le papier employé dans 4 se vend sous le nom de: papier photolithographique Albert).

Ce papier, qui est d'un emploi très commode, est également celui qui a donné les plus beaux résultats¹. Les résultats obtenus par mes expériences ont été vérifiés dans la suite avec des plaques à gélatine, pour la préparation desquelles j'ai employé une gélatine très pure (gélatine Merck).

¹ Nous aurons plus loin l'occasion d'en rechercher les causes ainsi que les circonstances qui conditionnent les réactions en question et en déterminent l'intensité.

La gélatine pure donnant essentiellement les mêmes résultats que la gélatine additionnée de glycérine, l'avantage qu'on obtient par l'addition de la glycérine est surtout d'égaliser la puissance adsorptive de la gélatine en sorte qu'il devient plus facile d'en obtenir des images nettes.

Pour mesurer l'action lumineuse, je me suis servi d'un photomètre construit par moi d'après un système bien connu

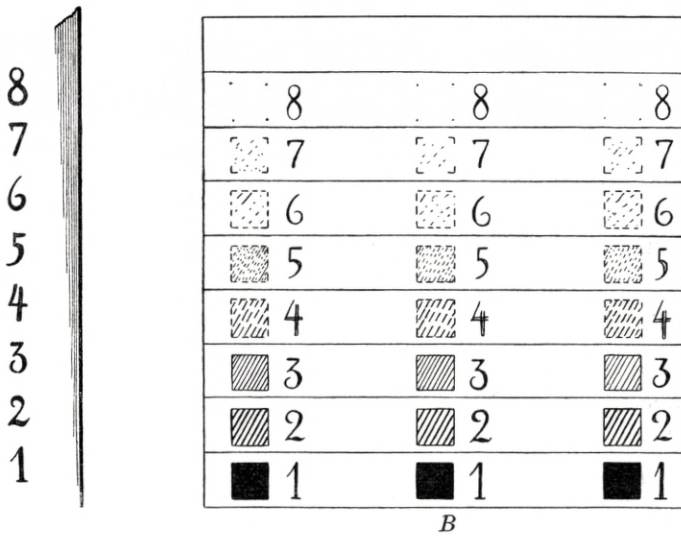


Fig. 2.

où l'effet obtenu est gradué moyennant filtration de la lumière au travers d'un nombre croissant de papiers de soie blancs (1—20 feuilles). Des chiffres imprimés non translucides excluent l'action lumineuse aux endroits couverts par eux. En vue des comparaisons à faire je me suis servi dans mon photomètre de 3 colonnes de chiffres placés à côté de carrés noirs, ce qui facilite la notation, les traits des chiffres étant trop fins pour fournir des mesures précises. Au cas où il s'agit de mesurer l'intensité de radiations colorées on pourra disposer des verres de différentes couleurs devant les trois colonnes de

chiffres. En choisissant les verres avec soin on obtient des couleurs assez pures.

En outre des préparations ci-dessous mentionnées j'ai employé dans mes recherches photométriques :

- 1° Du papier à filtrer insensible à la lumière.
- 2° Des films au charbon.

Le papier aussi bien que les films au charbon dont je vais parler, ont été sensibilisés avec des matières colorantes d'aniline.

Les films au charbon se composent essentiellement de mélanges gélatineux additionnés de fines particules de charbon et figés sur une feuille de celluloïd.

Par l'exposition qui a lieu à travers le celluloïd, les parties influencées sont fixées à la feuille et y demeurent attachées quand on développe à l'eau chaude.

Dans mes expériences je me suis servi de lumière blanche aussi bien que de lumière colorée, ce qui permet de constater l'action exercée par les diverses radiations.

Les phénomènes qui m'ont fourni des mesures de l'action lumineuse sont les suivants :

- 1° Les modifications provoquées par la lumière dans la puissance adsorptive des substances et dans la solubilité des mêmes substances dans l'eau chaude;
- 2° Les modifications de teintes et de nuances des couleurs d'aniline employées;
- 3° Les réactions chimiques que déterminent les corps formés par l'éclairement de la gélatine.

J'ai entrepris en outre quelques recherches comparées ayant trait à l'influence photosensibilisatrice qu'exerce l'érythrosine sur la gélatine; aux modifications de l'érythrosine déterminées par la lumière; et à la sensibilité lumineuse de la gélatine non colorée.

Pour ces recherches j'ai fait usage :

- 1° de papier à filtrer non collé, coloré par une solution aqueuse de la matière colorante en question;

2° de papier gelatiné coloré avec la même solution;

3° de papier gélatiné incolore.

La lecture des chiffres donne immédiatement le degré de décoloration déterminé par la lumière dans les matières colorantes du papier à filtrer et le changement de teinte de la gélatine colorée.

Quant à l'action exercée par la lumière sur la gélatine, incolore ou sensibilisée, elle se démontre à l'aide de la méthode du relief par le procédé suivant: Les papiers gélatinés employés sont plongés dans de l'eau à 30°. On les y laisse pendant 10 minutes, après quoi on les suspend pour faire écouler l'excès d'eau. A mesure que se dessèchent les papiers on verra s'accuser en relief les parties de la pellicule gélatineuse qui ont été protégées contre l'influence de la lumière par les carrés et les chiffres opaques et qui par conséquent ont gardé intact leur pouvoir d'adsorption. Les parties exposées adsorberont d'autant moins d'eau que l'action de la lumière aura été plus forte.

En transférant la gélatine sur du papier de transfert, on pourra fixer les résultats de la photométrie, les épaisseurs des pellicules gélatineuses transférées étant en rapport avec l'intensité de l'action exercée par la lumière¹.

Les qualités de lumière dont l'action s'est surtout montrée énergique sont les radiations bleues, violettes et ultra-violettes.

Pour ce qui est de la photosensibilité de la gélatine, les mesures obtenues démontrent que l'érythrosine l'augmente sensiblement.

Après ces remarques préliminaires, je vais exposer les résultats de mes recherches et les conclusions que nous en pouvons tirer.

1° Aux endroits exposés à la lumière, la gélatine pure ou additionnée de glycérine offre des réactions intenses montrant la *présence d'aldéhydes*.

¹ Les films au pigment sont d'un usage très commode pour la démonstration des résultats obtenus.

La formation de l'aldéhyde a été démontrée

A. Par la réaction avec une solution de fuchsine décolorée par l'acide sulfureux volatil.

B. Par la réduction d'une solution ammoniacale de nitrate d'argent.

Des recherches plus approfondies font voir que l'aldéhyde engendré est essentiellement un *aldéhyde formique*.

Voici les faits qui, en démontrant la formation de l'aldéhyde formique, nous fournissent une explication satisfaisante de l'action coagulante et durcissante qu'exerce la lumière sur la gélatine :

1° La réduction de sels de cuivre alcalins par l'aldéhyde formique: En répandant sur le papier gélatiné exposé la solution de Fehling (portée à 30° C) on verra les parties altérées par la lumière se colorer en brun rougeâtre par suite de la précipitation du cuivre.

2° Le pouvoir que possède l'aldéhyde formique de former les colorants de leurs composants moyennant une synthèse par *oxydation*. — Je me suis servi pour le démontrer de la formation de l'indophénol par synthèse de l' α -naphthol et de la paraphénylendiamine en présence de l'alcali. Qu'il s'agisse réellement d'une oxydation, c'est ce qui résulte d'essais faits avec une solution aqueuse d'hémotoxyline et avec une solution alcoolique de résine de gaïac qui prennent toutes les deux une coloration bleue aux endroits exposés à la lumière.

Les réactions ci-dessus mentionnées, aussi bien que celles dont il sera question dans la suite, se produisent vite dans les parties exposées de la gélatine et s'y manifestent par des changements très marqués. Les régions environnantes sont modifiées dans le même sens, mais lentement et d'une manière moins prononcée, phénomène dont je tâcherai plus loin de donner une explication. J'aurai en même temps l'occasion

de parler des relations qui existent entre les réactions ci-dessus considérées d'un côté et d'autre part les réactions provoquées par les enzymes oxydants dits oxydases.

En traitant la gélatine exposée à la lumière par des solutions diluées de divers colorants d'aniline comme aussi en éclairant la gélatine qu'on aura d'abord colorée au moyen des mêmes solutions colorantes, on obtient des résultats qui viennent s'ajouter à la série de démonstrations ci-dessus citées.

Comme point de départ on pourra se servir de l'action tinctoriale exercée par une solution aqueuse de fuchsine (au $1/5000^e$) sur du papier gélatiné exposé à la lumière. L'épreuve reproduite à la fig. 3 fait voir que les parties exposées prennent un ton plus foncé teinté de rouge violet après 1—2 heures de séjour. L'intérêt de ce phénomène est rehaussé par ce fait que la puissance adsorptive des parties éclairées diminue en même temps vis-à-vis de l'eau qui est employée comme dissolvant.

Le phénomène en question se produit également après traitement par diverses autres matières colorantes; pour ma part j'ai fait usage, en dehors de la fuchsine¹ qui détermine la coloration la plus intense, de la saffranine, du violet de méthyle, etc.

L'augmentation de l'adsorption des colorants que nous venons de constater dans la gélatine éclairée se retrouve chez les noyaux cellulaires et les microbes. L'épreuve reproduite ci-contre (fig. 4) a été obtenue en exposant à la radiation

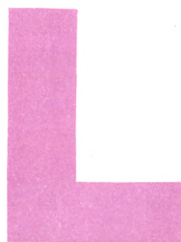


Fig. 3.
Épreuve obtenue avec le
négatif reproduit à la fig. 1.

¹ Un effet tout à fait contraire s'obtient avec le carmin qui teint la gélatine non exposée, en laissant les parties éclairées plus ou moins incolores.

solaire du papier gélatiné incolore¹ placé sous le négatif d'une photographie de microbes et en le colorant ensuite avec de la fuchsine². On peut se servir de ce procédé pour obtenir des reproductions polychromes.

Si nous examinons maintenant la manière dont se comportent les papiers colorés par l'érythrosine ou par la fuchsine lorsqu'ils sont exposés à la lumière, nous obtenons des résultats qui, tout en s'accordant pour l'essentiel avec ceux que je viens d'exposer, montrent pourtant que le phénomène



Fig. 4.

Épreuve obtenue avec le négatif d'une photographie de microbes.

considéré est plus compliqué qu'on ne le penserait à en juger d'après les expériences ci-dessus mentionnées. Après un éclaircissement pas trop prolongé d'une gélatine colorée par la fuchsine, les parties éclairées prennent un ton plus foncé nuancé de rouge violet. La même coloration s'obtient en ajoutant *quelques gouttes de formaline* à une solution *aqueuse étendue de fuchsine*. Si après avoir versé des quantités égales d'une telle solution dans deux tubes à essai de même diamètre

¹ Le papier fortement encollé donne également de belles reproductions positives de négatifs photographiques.

² Cf. la coloration du tissu collagène par la méthode de v. Gieson.

on ajoute de la formaline au contenu de l'un des deux tubes, le changement de couleur devient éclatant. La gélatine additionnée d'érythrosine prend également des tons foncés et bleuâtres aux endroits exposés à la lumière pendant un espace de temps pas trop prolongé. *Un éclairement intense et prolongé déterminera au contraire une décoloration* des parties impressionnées et il en est de même pour la gélatine à fuchsine. On pourra donc obtenir avec un négatif des copies positives aussi bien que négatives.

Par contre, le *papier à filtrer coloré par l'érythrosine* donnera d'emblée, aux endroits éclairés, une épreuve négative produite par une décoloration rapide.

La différence entre l'action exercée sur les colorants par la gélatine et l'effet déterminé par le papier se laisse démontrer avec évidence en éclairant un papier gélatiné dont la couche gélatineuse aussi bien que le papier lui-même auront été colorés avec de l'érythrosine. On devra se servir pour cette expérience d'un papier semi-transparent, qu'on éclairera du côté du papier. Par un éclairement suffisamment intense (radiation solaire) il se produira bientôt une *décoloration du papier* et en même temps *les parties correspondantes de la couche gélatineuse se coloreront d'un rouge plus foncé.*

La décoloration qui a lieu après un éclairement prolongé et intense de la gélatine et du papier teints par l'érythrosine ou par la fuchsine, doit certainement être attribuée à la production d'une substance qui décompose les colorants. Or, il a été démontré par différentes recherches que l'éclairement de la gélatine, et celui du papier, détermine la formation de *peroxyde d'hydrogène*. J'ai entrepris quelques recherches dans le but d'élucider cette question. La formation du peroxyde d'hydrogène dans le papier gélatiné éclairé se démontre aisément par la scission de l'iodure de potassium avec dégagement d'iode, qui bleuit la colle d'amidon (réaction de Schönbein). Ce procédé permet de mesurer au photomètre l'inten-

sité de l'action lumineuse. On peut aussi obtenir *avec des négatifs photographiques des copies positives nuancées et détaillées*. D'après les résultats qu'ont donnés mes expériences, la formation du peroxyde d'hydrogène *ne serait pas due à la gélatine* mais à des substances qui s'y trouvaient mêlées. Les substances résineuses dont on se sert pour la fabrication du papier sont probablement les agents les plus actifs à cet égard. Et pour ce qui est des cas où une solution de gélatine, figée dans des cuvettes ou sur des plaques de verre, offre la réaction du peroxyde d'hydrogène, ils s'expliquent par la présence de l'acide sulfurique dans la solution. M. C. Rasmussen, pharmacien gérant de la Pharmacie Gefion (Copenhague) a bien voulu déterminer le titre d'acide sulfurique contenu dans trois échantillons de gélatine qui, avec le chlorure de barium, offraient tous les trois la réaction de l'acide sulfurique. Voici les chiffres obtenus :

Gélatine Merck.....	1,01	pour cent
Deux autres échantillons de	} 1,47	" "
gélatine, respectivement ..		

On obtiendra d'ailleurs des résultats différents suivant le degré d'humidité de la gélatine employée, la gélatine humide, riche en acide sulfurique, présentant des réactions de peroxyde d'hydrogène beaucoup plus prononcées que la gélatine desséchée. C'est ce qui explique qu'en faisant usage d'une gélatine relativement pure, desséchée sur du verre, je n'aie *pas obtenu des réactions dénotant d'une façon certaine la présence du peroxyde d'hydrogène* et que même après une insolation prolongée, la réaction de Schœnbein n'ait donné que des résultats douteux. Comme contrôle on avait disposé du papier gélatiné sous les plaques à gélatine qu'on exposait à la lumière. Ces papiers gélatinés offraient des réactions intenses de peroxyde d'hydrogène. Nous voici donc en pré-

sence d'une source d'erreur dont on avait, je crois, négligé jusqu'ici l'importance :

Par son action plus oxydante, décomposante et décolorante le peroxyde d'hydrogène contraste avec le pouvoir que possède l'aldéhyde formique de provoquer la formation des colorants par la synthèse de leur composants et de durcir les albumines. La production du peroxyde d'hydrogène aussi bien que de l'aldéhyde formique nous fournit donc l'explication des résultats apparemment contradictoires qui sont dus aux effets des deux corps dont l'un pourra tantôt affaiblir tantôt renforcer l'action de l'autre. L'état de choses est rendu manifeste par les expériences effectuées avec de la gélatine colorée par l'érythrosine ou par la fuchsine : nous avons vu plus haut qu'elles donnaient des copies positives après les expositions de peu de durée sous un négatif et, au contraire des copies négatives après les expositions prolongées.

J'ai obtenu de même, par des expériences faites avec des films au charbon sensibilisés à l'aide d'une solution aqueuse d'érythrosine au $\frac{1}{1500}^e$ (voir plus haut), *des copies négatives avec des négatifs photographiques*. En sensibilisant les mêmes films par le bichromate de potasse on aura des épreuves positives des négatifs. Le phénomène est très compliqué à cause du plus grand nombre de substances qui composent les films en question dont la gélatine mêlée de pigment est collée sur la feuille de celluloid au moyen d'une couche résineuse. Cependant j'ai trouvé à l'aide d'expériences photométriques que nous avons affaire à des *effets de solarisation* analogues à ceux que présente la plaque photographique sensibilisée par des sels d'argent. En effet, les cases du photomètre qui représentaient les degrés inférieurs de l'échelle donnaient des copies négatives tandis qu'on obtenait avec les cases de degrés supérieurs des copies positives.

Il résulte de l'ensemble de ces expériences qu'en s'occupant des phénomènes de solarisation on devra compter avec

l'influence du peroxyde d'hydrogène dont les effets, semblables à ceux que détermine la solarisation, ont été démontrés par voie expérimentale (Eder, Photochemie p. 317).

Comme quelques-unes des réactions employées par moi sont justement celles dont on se sert ordinairement pour démontrer la présence des enzymes d'oxydation dits oxydases, je vais exposer en quoi les expériences ci-dessus décrites pourront nous renseigner sur la nature des enzymes.

A l'encontre de M. Spitzer¹ qui voit dans le fer organique des nucléoprotéïdes le principe actif et fondamental des oxydases, je trouve plus naturel de considérer ces corps comme composés d'un mélange d'aldéhyde formique et de peroxyde d'hydrogène liés à des corps colloïdes.

Sans entreprendre ici une étude approfondie des actions propres aux divers enzymes, je ferai remarquer qu'en admettant cette hypothèse nous entrevoyons la possibilité d'établir des relations plus simples entre les enzymes qui viennent se grouper autour des oxydases (peroxydases, catalases, réductases). Si, par exemple, les peroxydases ne deviennent actives qu'en présence du peroxyde d'hydrogène, ce fait s'explique, dans l'hypothèse considérée, par un dégagement d'oxygène qui demande pour atteindre l'intensité nécessaire le concours de l'aldéhyde formique et du peroxyde d'hydrogène. D'ailleurs cette hypothèse n'est pas incompatible avec la conception généralement admise qui envisage les peroxydases comme des enzymes mettant en liberté l'oxygène du peroxyde d'hydrogène. Nous verrons plus loin qu'elle se trouve corroborée par un procédé expérimental dont on peut se servir pour la production de l'indophénol. Les faits qui conditionnent l'épreuve au gaïac peuvent également être allégués en sa faveur.

L'action tantôt oxydante tantôt réductrice du peroxyde d'hydrogène et de l'aldéhyde formique nous permettra peut-être de considérer les réductases au même point de vue. Si les

¹ Archiv f. d. ges. Physiologie, t. 60, 67, 71 pp. 303, 675, 596.

noyaux cellulaires dont s'est servi M. Spitzer pour l'isolation des oxydases se comportent vis-à-vis de certaines matières colorantes et de leurs composants d'une manière analogue à celle de la gélatine exposée à la lumière, je me l'explique en supposant que la chromatine se compose essentiellement de nucléoprotéïdes oxydés riches en aldéhyde formique. Cette manière de voir n'exclut pas la possibilité d'une action mordante provoquée par la présence du fer et du phosphore; mais elle n'attribue à ces corps qu'une importance secondaire. Les propriétés connues de l'aldéhyde formique et du peroxyde d'hydrogène nous expliqueraient d'un côté l'oxydation constructive (synthèse par oxydation) et d'autre part l'oxydation décomposante. Ajoutons-y la possibilité d'une oxydation combinée, l'oxyde se dégageant dans les deux corps à la fois.

La façon de voir ci-dessus exposée se trouve confirmée par l'étude du rôle joué par l'aldéhyde formique et par le peroxyde d'hydrogène dans les réactions précédemment décrites ou mentionnées. On constate en effet que les phénomènes chimiques en question sont déterminés tantôt par l'aldéhyde formique tantôt par le peroxyde d'hydrogène et tantôt par les deux corps combinés. L'action exercée par l'aldéhyde formique et par le peroxyde d'hydrogène sur les colorants a été exposée en détail plus haut. Une circonstance qui mérite d'être mentionnée ici est ce fait que la formation de l'indophénol et l'épreuve au gaïac peuvent s'effectuer par les actions réunies de l'aldéhyde formique et du peroxyde d'hydrogène. C'est ce qui ressort des expériences suivantes.

A une solution alcalisée de paraphénylendiamine et d' α -naphthol on ajoute quelques gouttes d'aldéhyde formique qui la précipitent en blanc. Après addition de quelques gouttes d'une solution aqueuse de peroxyde d'hydrogène à 3 % le précipité prendra aussitôt une teinte bleu foncé. L'épreuve au gaïac s'effectue avec l'aldéhyde formique et le peroxyde d'hydrogène par le procédé que voici :

A 5^{er} d'une solution aqueuse d'aldéhyde formique on ajoute 4 gouttes d'une solution alcoolique de résine de gaïac. En chauffant ensuite on n'obtiendra une coloration en bleu intense qu'après l'addition de deux ou trois gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène à 3 0/0.

Ces expériences nous permettent de débrouiller les relations qui existent entre les réactions obtenues par l'éclairement du papier gélatiné et celles que donne la gélatine la plus pure possible figée sur du verre: abstraction faite des conditions plus favorables qu'offrent la couche gélatineuse plus égale et le substratum en papier au point de vue de la netteté des réactions colorées, on obtiendra une réaction plus intense toutes les fois qu'on l'aura provoquée par les actions réunies de la formaline et du peroxyde d'hydrogène¹, ce qui est le cas pour la réaction à l'indolphénol et pour l'épreuve au gaïac. Comme nous l'avons dit plus haut, la formation de l'aldéhyde formique par l'éclairement des albuminoïdes a été démontrée par une série de réactions après lesquelles les parties éclairées des substances traitées ne différaient des parties non éclairées que par le degré d'intensité de la réaction exercée. L'hypothèse émise par MM. Loew et Bokorny², d'après laquelle la molécule „vivante“ de l'albumine serait caractérisée par la présence de groupes aldéhydiques, ne s'accorde pas avec les résultats de mes expériences qui ont toutes été effectuées avec des colloïdes chimiquement aussi purs que possible. Quoi qu'il en soit, la présence de groupes aldéhydiques dans la molécule des albumines et la possibilité d'en augmenter le nombre me semblent présenter un intérêt considérable aux points de vue théorique et pratique. Au lieu de partir de l'hypothèse d'une „albumine vivante“, on pourrait considérer la molécule d'albumine riche en aldéhyde formique comme une forme moléculaire plus compliquée.

¹ Ces deux corps ont en commun leurs propriétés microbicides.

² Archiv f. d. ges. Physiologie t. 25—30.

Grâce à sa puissance adsorptive diminuée vis-à-vis de l'eau, et au manque de viscosité qui l'accompagne, manque qui contraste singulièrement avec son pouvoir fixatif vis-à-vis des matières colorantes, cette forme moléculaire est bien faite pour résister à certaines influences extérieures. Ajoutez à cela la présence d'une substance microbicide. La démonstration ci-dessus donnée de la production d'aldéhyde formique par éclairage nous fournit donc une contribution à la théorie de l'immunité. Elle pourra en outre enrichir nos connaissances relatives à l'assimilation de l'acide carbonique par les plantes¹. Je me bornerai ici à attirer l'attention sur le pouvoir que possèdent les colorants d'augmenter la formation d'aldéhyde formique dans la gélatine éclairée. Enfin nous obtenons avec la possibilité de mesurer les actions lumineuses ici considérées une base plus solide de l'exploitation des propriétés curatives de la lumière et, en général, des altérations chimiques qu'elle détermine.

¹ Cf. la possibilité démontrée par M. Loeb de produire l'aldéhyde formique de l'acide carbonique humide moyennant des effluves électriques (*Zeitschr. für Elektrochemie*, t. 12).