

RECHERCHES SUR DES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE OBTENUES PAR DIALYSE ET CONSERVÉES PENDANT LONG-TEMPS (*).

WERA DUCE

(Institut de Physiologie de la R. Université de Sassari
dirigé par le Prof. G. PUPILLI
et Institut de Physique de la R. Université de Cagliari
dirigé par le Prof. RITA BRUNETTI)

RÉSUMÉ DE L'A.

(Avec 4 figg. d. l. t.)

Introduction. - Les recherches de BOTTAZZI ont démontré que l'Hb résiste beaucoup à la dialyse; sous cet aspect l'Hb se comporte comme la séro-albumine, et non comme la séroglobuline et la myoprotéine. Tandis que ces deux dernières sont complètement précipitées après une dialyse de quelques semaines, l'Hb et la séro-albumine donnent des solutions limpides, même si elles sont dialysées pendant deux ou trois mois.

Les solutions ⁽¹⁾ que l'on obtient par dialyse prolongée sont peu stables. En effet, lorsqu'on les a retirées du dialyseur, on remarque en elles une précipitation continue qui semble spontanée mais qui «... en réalité est peut-être due à l'existence, dans les solutions susdites, de granulations visibles à l'ultra-microscope et qui, bien qu'en nombre limité, servent comme cause déterminante de l'ultérieur précipitation du colloïde...». L'instabilité de l'Hb, dialysée et rendue optiquement homogène par filtration, est aussi prouvée par l'abaissement de la température de coagulation ⁽²⁾.

(*) *Studi Ssassaresi*, XIII, 1, p. 15-38, 1935, avec 6 figg. d. l. t. - Pour la bibliographie voir la note complète.

⁽¹⁾ D'après BOTTAZZI, pour sol. de Hb on entend indiquer ici non la sol. d'O₂Hb réduite, mais le liquide que l'on obtient, par dialyse de la masse corpusculaire du sang, et qui, à la fin de l'opération, résulte être une sol. de O₂Hb et de mét-Hb.

⁽²⁾ BOTTAZZI a constaté que la sol. d'Hb, conservée pendant un mois sous toluol, a une température de coagulation nettement inférieure à celle de la même sol. examinée à la fin de la dialyse.

Ceux qui s'occupent de l'étude de l'Hb et suivent le processus de dialyse pour obtenir cette substance en solution aussi pure que possible, ont occasion de confirmer les observations faites par BOTTAZZI.

Ce que je viens d'exposer sert à expliquer comment mon attention a été attirée par le fait que des solutions de Hb, dialysées pendant longtemps et qui s'étaient stabilisées avec le temps, étaient devenues incoagulables à la chaleur. A la vérité cette constatation constitue une exception et pour cela j'ai cru intéressant la prendre en examen.

Matériel examiné. — Les solutions qui, peu à peu, se sont stabilisées avec le temps, ont été préparées, selon la méthode de BOTTAZZI, par dialyse prolongée de la masse corpusculaire du sang de cheval et de porc. A la fin de la dialyse, qui dura de trois mois à trois mois et demi, le contenu des dialyseurs a été filtré; la concentration des sol., à peine sorties du dialyseur, a été faite en base au résidu sec; les sol. originales ont été diluées avec de l'eau distillée, jusqu'à obtenir un contenu, en Hb, égal à 1:100 environ.

Puisqu'il faudra distinguer les diverses solutions, j'indique: avec le n° II la sol. de la masse corpusculaire du sang de cheval, obtenue par dialyse de la durée de trois mois; avec le n° III la sol. de la masse corpusculaire du même sang, obtenue par dialyse de la durée de trois mois et demi; avec le n° IV la sol. de la masse corpusculaire

La t° de coagulation de l'Hb a été établie par de nombreux expérimentateurs. L'O₂Hb cristallisée coagule entre 64° et 68° C selon GAMGEE et entre 62° et 67°,5 C selon HARTRIDGE. La t° de coagulation de mét-Hb résulte comprise, d'après les recherches de HARTRIDGE, entre 50° et 55°; C. PEYER et BOTTAZZI, par contre, ont trouvé que la mét-Hb coagule déjà à 46° C. On rappelle cela, quoique la t° de coagulation ne soit pas une constante pour une protéine donnée. On sait que beaucoup de facteurs — tels que la concentration de la sol., la rapidité du chauffage, sa durée, et la présence d'une quantité plus ou moins grande d'électrolytes — peuvent la faire varier dans des limites très larges.

On a longtemps débattu la question de la scission, ou non, de l'Hb dans ses composants, sous l'action de la chaleur. BARDACHZI a mis en évidence que la sol. alcaline de la CO-Hb coagulée présente le même spectre que la CO-Hb non soumise à l'action de la chaleur. BOTTAZZI a démontré que la sol. alcaline des caillots de mét-Hb, tout en ayant un spectre identique à celui de la mét-Hb avant coagulation thermique, a des caractères spectraux bien divers de ceux de l'hématine et de l'hémochromogène. Cet A. conclut que... "coagule... l'Hb *in toto*, et non la globine qui s'est séparée de l'hématine.

du sang de porc, obtenue par dialyse de la durée de trois mois ⁽¹⁾.

Les épreuves de précipitation des sol. susdites ont été faites à la fin de la dialyse, après les avoir conservées pendant longtemps dans une bouteille bouchée (en verre de Jéna), à l'obscurité et sous toluol; et précisément la solution II après 23 mois, la sol. III après 27 mois et la sol. IV après 14 mois ⁽²⁾.

L'examen ultramicroscopique ⁽³⁾ des sol., à la fin de la dialyse, a mis en évidence la présence d'un très grand nombre de granulations lumineuses, douées de mouvement brownien. Après un filtrage répété, le liquide, dans les trois cas, s'est révélé complètement homogène, à l'examen ultramicroscopique. Les sol. plus vieilles ne se sont pas présentées optiquement vides; on y a observé la présence d'un petit nombre de granulations grosses, brillantes et mobiles douées d'un mouvement beaucoup plus irrégulier que le mouvement BROWNIEN et qui suivaient des trajectoires très longues ⁽⁴⁾.

Pour une exacte évaluation des données que j'exposerai, je rappellerai les réactions de précipitation de sol. d'Hb, basées sur les expériences de BOTTAZZI.

La sol. d'Hb, dialysée pendant 3 mois et examinée à la fin de la dialyse, devient opalescente lorsqu'on la porte à ébullition; avant et après le chauffage, elle floccule par adjonction de quelques gouttes de sol. d'un sel neutre (NaCl). Elle ne floccule pas et ne devient pas trouble si, avant l'ébullition, on y ajoute quelques gouttes de la sol. 0,1 N de HCl ou de NaOH (dans ce cas la sol. prend seulement une couleur rouge plus foncée). Traitée avec 4 volumes d'alcool absolu, elle devient opalescente, floccule par adjonction de quelques gouttes de sol. d'un sel neutre.

On ne remarque aucune précipitation en présence des réactifs suivants: solution de sulfate de Cu, de nitrate d'Ag, d'acétate basique de Pb et de chlorure de Hg. Par contre, on a une abondante précipitation si

⁽¹⁾ Dans la partie qui concerne l'analyse spectrale on parle de la solution d'Hb n° I, qui a servi pour le contrôle.

⁽²⁾ On a déterminé quelques constantes des solutions conservées pendant longtemps: savoir: le poids spécifique; le pH; la conductivité électrique.

⁽³⁾ Avec le condensateur paraboloidal selon SIEDENTOPF.

⁽⁴⁾ Cette observation est analogue à celle que CAMIS a faite sur des sol. préparées avec des cristaux d'O₂Hb et soumises à dialyse de courte durée.

l'on ajoute de l'ac. nitrique, de l'ac. acétique, des solutions de nitrate acide de Hg et de ferrocyanure de K.

La même sol. d'Hb, conservée à l'obscurité sous toluol pendant un mois, floccule, si on la porte à une t° relativement basse. Elle ne floccule pas et ne devient pas opalescente, pas même légèrement, par l'adjonction de petites quantités d'acides ou d'alcalis, même si on la porte à la t° d'ébullition. Pour ce qui concerne les autres réactions, leur comportement est identique à celui de la sol. qu'on obtient à la fin de la dialyse.

Le liquide transparent que l'on obtient en faisant dissoudre, moyennant des acides ou des alcalis, la suspension microgranulaire d'Hb, précipitée par dialyse, ne coagule pas à la t° d'ébullition.

A. - Réactions des sol. à la fin de la dialyse. - Si on les porte à ébullition, elles deviennent opalescentes. Elles flocculent si, avant ou après l'ébullition, on y ajoute quelques gouttes de la sol. 2 N de NaCl. A la t° d'ébullition, après l'adjonction de sol. 0,1 N de HCl ou de NaOH, elles prennent une couleur rouge plus intense, mais elles ne flocculent pas et ne deviennent pas troubles..

Traitées avec 4 volumes d'alcool absolu, elles deviennent opalescentes; elles flocculent par adjonction de quelques gouttes de la sol. 2 N de NaCl, faite avant ou après le traitement avec alcool.

On n'a aucune précipitation avec les réactifs suivants: sol. de sulfate de Cu, de sulfate de Ni, de nitrate d'Ag, d'acétate basique de Pb et de chlorure de Hg.

On a une immédiate précipitation avec l'acide nitrique concentré, l'acide acétique, les sol. de nitrate de Hg et de ferrocyanure de K.

B. - Réactions des sol. conservées pendant longtemps. - Si l'on porte à ébullition ces sol., elles ne deviennent nullement opalescentes. De même, si, avant ou après l'ébullition, on ajoute quelques gouttes de la sol. 2 N de NaCl, on ne remarque aucune opalescence (ni immédiatement, ni après 12 hh.). Portées à la t° d'ébullition, après l'adjonction de sol. 0,1 N d'HCl ou de NaOH, ces sol. prennent une couleur brune, mais elles ne flocculent pas et ne deviennent pas troubles.

Traitées avec 4 volumes d'alcool absolu, elles ne deviennent nullement opalescentes, ni immédiatement ni après 12 hh. L'adjonction de quelques gouttes de la sol. 2 N de NaCl, après le traitement avec alcool, rend les solutions nettement opalescentes; après 15-20 minutes la protéine floccule.

On a formation immédiate du précipité avec les réactifs suivants: sol. de sulfate de Cu, de sulfate de Ni, de nitrate d'Ag, d'acétate blanc de Pb, de chlorure de Hg, de nitrate acide de Hg, d'acide nitrique concentré et d'acide acétique. Si l'on traite ces sol. avec du ferrocyanure de K, on ne remarque aucune précipitation ni immédiate ni après 12 hh.

C - Réactions des sol. conservées pendant longtemps et puis soumises à une ultérieure dialyse. - Les sol. d'Hb, obtenues par dialyse et conservées pendant le temps indiqué, ont été de nouveau dialysées ⁽¹⁾. La 2^{de} période de dialyse a été prolongée pour plus de 2 mois. Les sol. se sont toujours maintenues limpides et, vérifiées de temps en temps, elles ont démontré un comportement identique à celui des solutions indiquées à la lettre B.

Résumant: Les sol. examinées présentent le comportement suivant: à la fin de la dialyse elles coagulent à la chaleur et précipitent par adjonction d'alcool absolu; après conservation pendant plusieurs mois, elles ne coagulent pas à la chaleur (pas même en présence de sels neutres) et ne précipitent, par adjonction d'alcool absolu, qu'en présence de sels neutres. En outre, les sol. de nitrate d'Ag, de sulfate de Cu, de sulfate de Ni, d'acétate basique de Pb et de chlorure de Hg, ajoutées aux sol. préparées récemment, n'occasionnent aucune précipitation. Si l'on ajoute les réactifs susdits aux sol. conservées pendant longtemps, on a une précipitation abondante. Enfin, le cyanure de K précipite, des solutions à peine retirées du dialyseur, la substance dissoute et ne la précipite pas des sol. de vieille date. Le comportement des sol., conservées pendant plusieurs mois, ne s'est pas modifié après des dialyses ultérieures.

Analyse spectrale. - J'ai étudié les caractéristiques spectrales et le quotient d'absorption des sol. conservées pendant longtemps, qui avaient démontré un comportement anomal sous l'action de la chaleur ⁽²⁾

⁽¹⁾ On a voulu vérifier si, à la suite d'une ultérieure dialyse, se vérifiait la précipitation du colloïde, et, en outre, éloigner les substances dialysables qui pouvaient éventuellement s'être formées par décomposition partielle de l'Hb pendant la longue période de conservation et qui auraient pu inhiber le processus de coagulation thermique.

⁽²⁾ Je rappelle ici que pour un liquide constamment coagulable à la chaleur, comme le sérum de sang, on a décrit la possibilité - tout à fait exceptionnelle - de présenter incoagulabilité thermique. LECOMTE du NOUY et AYNAUD ont constaté un

et de divers réactifs. Comme solution de contrôle (sol. I) on a employé une sol. de Hb de bœuf, à peine retirée du dialyseur, après une dialyse de 3 mois ⁽¹⁾.

Tandis que la sol. fraîche permet de relever, même à œil nu, la structure spectrale, bien connue, des mélanges de O_2Hb et de mét-Hb, les sol. de vieille date se prêtent mal à un examen précis, parce que, à parité d'épaisseur, elles présentent des bandes moins prononcées.

J'ai donc procédé à l'enregistrement photographique du spectre d'absorption des deux types de solution. De quelques uns de ces enregistrements on a aussi déduit les données photométriques pour mesurer le quotient d'absorption.

A - Dispositions expérimentales. - Disposition spectrophotographique.

- Le spectroscopie employé (de FUESS, avec prisme à déviation constante) a une dispersion de $\mu\mu$ 8,0 p. mm entre $\lambda = 546,1$ et $\lambda = 578,0$; de $\mu\mu$ 12,6 p. mm entre $\lambda = \mu\mu$ 578,0 et $\lambda = \mu\mu$ 670,8. La sol. était contenue dans une cuvette à faces planes et parallèles de l'épaisseur de mm 9 environ. Comme source lumineuse on a employé une lampe à incandescence de 500 watt; l'intensité de la lumière pouvait être réglée moyennant un rhéostat.

Les photogrammes ont été faits avec des plaques pour diapositives GEVAERT; ce type a une sensibilité relativement uniforme dans la région vert-orange qui était celle qui nous intéressait le plus. Les autres types de plaques qu'on a essayés présentent, dans la région qui nous intéresse, des bandes d'absorption sélective et, par conséquent, des différences de sensibilité - même entre des fréquences voisines - à cause des substances sensibilisatrices dont elles sont imbibées.

Sur les plaques on a enregistré (au-dessus, ou bien à côté des spec-

cas d'incoagulabilité du sérum dans une brebis. La courbe du spectre d'absorption de ce sérum, dans l'ultraviolet, se présente remarquablement aplatie par rapport à celle des sérums qui coagulent normalement.

⁽¹⁾ Pour des motifs évidents on a dû se servir de la sol. dont on pouvait disposer au moment de l'expérience. Il est notoire que, pour les O_2Hb des divers animaux, on a mis en évidence quelque différence spectrale, et précisément dans la position du maximum de la bande dans le vert (bande α). En tout cas, il faut avoir présent que le maximum de cette bande: 1) présente pour les O_2Hb d'un grand nombre d'animaux, des différences dans les limites $= \mu\mu$ 0,7 sur la valeur moyenne de $\mu\mu$ 576,4 (ANSON, BARCROFT, MIRSKY et OINUMA). 2) Qu'il coïncide pour l' O_2Hb de cheval (ANSON, BARCROFT, MIRSKY) et pour l' O_2Hb de bœuf selon moi).

tres d'absorption) les lignes principales du spectre d'arc dans le vide à mercure, pour avoir des points de repère. Comme spectre de comparaison on a employé un spectre d'arc entre charbons, percés et remplis de sel de Na, de Ba et de Li. La longueur d'onde, correspondant aux maximum des bandes, était calculée sur leur distance des lignes de repère du spectre de comparaison.

L'examen a été fait sur plusieurs plaques, pour chaque solution. La détermination a été faite deux ou trois fois pour chaque plaque.

Disposition spectrophotométrique. — Dans ce cas on a employé des cuvettes doubles; l'une avait une épaisseur de mm 3,5-4,5 et l'autre de mm 0,9. Dans la cuvette moins épaisse le liquide n'arrivait qu'à à moitié hauteur. La disposition optique permettait de mettre à feu, sur la fente du spectroscope, le niveau du liquide de la seconde cuvette et d'obtenir ainsi, sur la plaque, nettement séparés, les deux spectres obtenus avec une épaisseur diverse.

Pour les mesures photométriques on a employé une pile MOLL et BURGER, avec fenêtre de fluorine, unie à un galvanomètre HARTMANN et BRAUN.

Les microphotométries nécessaires pour le calcul du quotient d'absorption ont été faites sur des plaques obtenues de la même solution. Sur chaque plaque la mesure photométrique a été répétée au moins deux fois pour chaque spectre. Le quotient d'absorption a été calculé avec la formule

$$\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = \frac{\log I'_1 - \log I_1}{\log I'_2 - \log I_2},$$

dans laquelle α_1 et α_2 représentent les coefficients d'absorption et les I les intensités de la lumière transmise par la plaque. (Les index se rapportent respectivement aux régions spectrales à comparer).

B - Résultats de l'analyse. — Les résultats des lectures de longueur d'onde des maximum des bandes de la sol. I (à la fin de la dialyse) sont rapportés dans le Tableau I.

Puisqu'il semble que les sol. II, III et IV se trouvent dans des conditions comparables, on établit une moyenne de longueur d'onde totale, calculée sur les moyennes particulières (voir Tableau II). Cette valeur est ensuite comparée avec la moyenne des lectures faites sur les plaques de la solution I. Dans le Tableau II sont aussi rapportés

TABLEAU I.

Plaque	1 ^{ère} bande	2 ^{ème} bande	3 ^{ème} bande	4 ^{ème} bande	
	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
Solution I					
8	520,9	—	578,0	626,6	641,8
9	520,0	—	576,0	624,0	641,1
10	519,9	537,3	578,0	624,2	643,0
31	516,3	534,8	576,5	624,6	651,9
33	516,8	535,9	575,6	624,3	650,6
34	512,2	534,7	574,8	620,3	637,4
Moyenne	517,7	535,7	576,5	624,0	644,3
Solution II					
4	abs. contin.	533,7	562,1	643,8	658,2
14	abs. contin.	530,7	563,0	644,3	660,0
15	abs. contin.	534,2	560,8	645,8	659,4
24	abs. contin.	533,0	561,0	644,8	659,4
Moyenne		532,9	561,7	644,6	659,2
Solution III					
19	abs. contin.	532,4	562,8	—	—
20	abs. contin.	532,5	566,6	640,5	656,0
21	abs. contin.	532,0	561,7	639,8	655,2
22	abs. contin.	532,4	564,7	639,2	654,3
Moyenne		532,3	563,9	639,8	655,1
Solution IV					
16	abs. contin.	533,7	562,1	639,2	657,5
17	abs. contin.	531,4	564,7	—	—
18	abs. contin.	532,4	565,8	639,3	657,6
Moyenne		532,5	564,2	639,2	657,5

les déplacements des bandes, exprimés soit en longueur d'onde, soit en fréquence.

Des données expérimentales obtenues (voir aussi les courbes photométriques de la figure 3) on arrive aux conclusions suivantes.

TABLEAU II.

Bande	a) Sol. II	b) Sol. III	c) Sol. IV	d) Moyenne des va- leurs de a, b, c	e) Sol. I	$\Delta\lambda$ en $\mu\mu$ entre d) et e)	$\Delta\nu$ en cm entre d) et e)
1 ^{ère} bande	abs. cont.	abs. cont.	abs. cont.	abs. cont.	$\mu\mu$ 517,7	—	—
2 ^{ème} „	$\mu\mu$ 532,9	$\mu\mu$ 532,3	$\mu\mu$ 532,5	$\mu\mu$ 632,6	„ 535,7	— 3,1	+ 108
3 ^{ème} „	„ 561,7	„ 563,9	„ 564,2	„ 563,3	„ 576,5	— 13,2	+ 397
4 ^{ème} „	„ 644,6	„ 639,8	„ 639,2	„ 541,2	„ 624,0	+ 17,2	— 442
	„ 659,2	„ 655,1	„ 657,5	„ 657,3	„ 644,3	+ 13,0	— 371,4

Dans les solutions de vieille date on observe une absorption continue en correspondance de la longueur d'onde, à laquelle la sol. préparée récemment présente la première bande (dans le vert: $\lambda = \mu\mu$ 517,7); dans la sol. à peine retirée du dialyseur l'absorption continue commence pour une longueur d'onde plus basse.

Tandis que, dans la sol. préparée depuis peu, la 2^{ème} et la 3^{ème} bande dans le vert ont respectivement leur maximum en correspondance de $\lambda = \mu\mu$ 535,7 et $\lambda = \mu\mu$ 576,5, dans les sol., conservées pendant longtemps, la 2^{ème} bande a subi un léger déplacement vers le violet ($\mu\mu$ 3,1) et la 3^{ème} s'est déplacée, toujours vers le violet, de $\mu\mu$ 13,2). Tant dans les sol. fraîches que dans celles de vieille date, la bande dans le rouge est composée de deux éléments. Dans ces dernières les deux éléments se sont déplacés vers l'extrémité rouge du spectre de $\mu\mu$ 17,2 et $\mu\mu$ 13,0. Si l'on considère, pour la bande dans le rouge, le déplacement moyen exprimé en fréquences ($\Delta\nu$ en $\text{cm}^{-1} = -406$) et on le compare avec le déplacement de la 3^{ème} bande dans le vert ($\Delta\nu$ en $\text{cm}^{-1} = +397$), on voit que celle-ci s'est déplacée vers le violet d'autant que l'autre s'est déplacée vers le rouge extrême. En

outre, de l'examen des courbes (fig. 1) il résulte évident que, dans la sol. examinée à la fin de la dialyse, la bande 2 dans le rouge est atténuée: en effet, on la relève avec peine à œil nu.

De ces observations il résulte que les sol. vieilles ne contiennent plus les mêmes éléments que la sol. fraîche; il faut remarquer surtout que dans les premières il manque la zone de transparence au-dessous de $\lambda = \mu\mu\ 517,7$, et qu'en correspondance de cette longueur d'onde commence, au contraire, l'absorption continue. La fréquence qui, dans le mélange de O_2Hb et de mét- Hb , produit l'excitation dans la molécule, produit dissociation dans la substance contenue dans les sol. vieilles. Les altérations spectrales qu'on a observées se reflètent sur les valeurs du quotient d'absorption.

Dans le tableau III on a rapporté ces valeurs, obtenues des 4 sol. alcalinisées avec NaOH. Pour la sol. fraîche, j'ai calculé le rapport pour $\lambda = \mu\mu\ 536$ et $\lambda = \mu\mu\ 562$, c'est-à-dire la plus forte absorption de la 2^{de} bande et la moindre entre les deux bandes dans le vert; pour les sol. vieilles, à cause du déplacement des bandes, on a choisi les deux régions spectrales $\lambda = \mu\mu\ 533$ et $\lambda_2 = \mu\mu\ 557$. Les longueurs d'onde choisies rentrent, dans le deux cas, dans les limites établies par HÜFNER. Dans les figg. 2, 3 et 4 on a rapporté quelques exemples des courbes photométriques, respectivement pour les sol. II, III et IV; de ces courbes on a tiré les données pour le calcul du quotient d'absorption.

En nous référant aux valeurs du Tableau III, nous relevons ce qui suit: à la valeur 1,38 du quotient d'absorption de la sol. fraîche correspond un contenu de 50,40% de mét- Hb et de 49,60% de O_2Hb , selon les tableaux de HÜFNER; les valeurs de 0,92-0,91-0,95 des quotients d'absorption des sol. conservées longtemps indiquent la présence d'une nouvelle substance simple ou complexe (attendu qu'on peut exclure, en se basant sur l'analyse spectrale, que ces valeurs dépendent d' O_2Hb réduite, contenue dans les sol. respectives).

On a voulu chercher si les caractéristiques spectrales de cette nouvelle substance étaient modifiées par l'adjonction d'acides ou d'alcalis à la solution. Les résultats obtenus sur la sol. III (pH de la sol. originale = 7,06) par observation directe au spectroscopie, sont réunis dans le Tableaux IV.

On peut dire que le spectre de la solution n'a varié ni à la suite de l'acidification avec HCl, ni après son alcalisation avec NaOH.

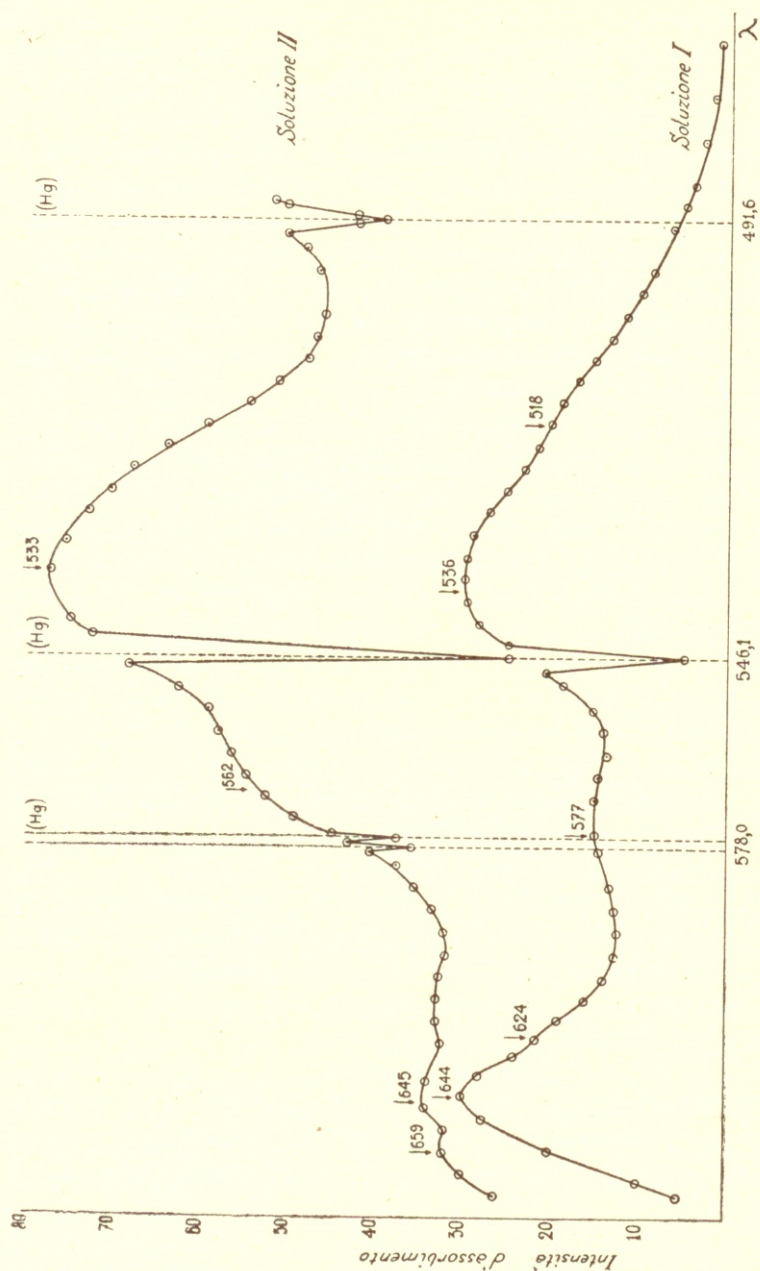


Fig. 1. — Courbes de sol. de Hb. Solution I est la sol. à la fin de la dialyse. — Sol. II est la sol. après 23 mois de conservation. Avec les flèches on indique le maximum des bandes, avec λ_{Hg} les lignes du Hg. L'intensité d'absorption est exprimée par les déviations du galvanomètre; longueur d'onde en $\mu\mu$.

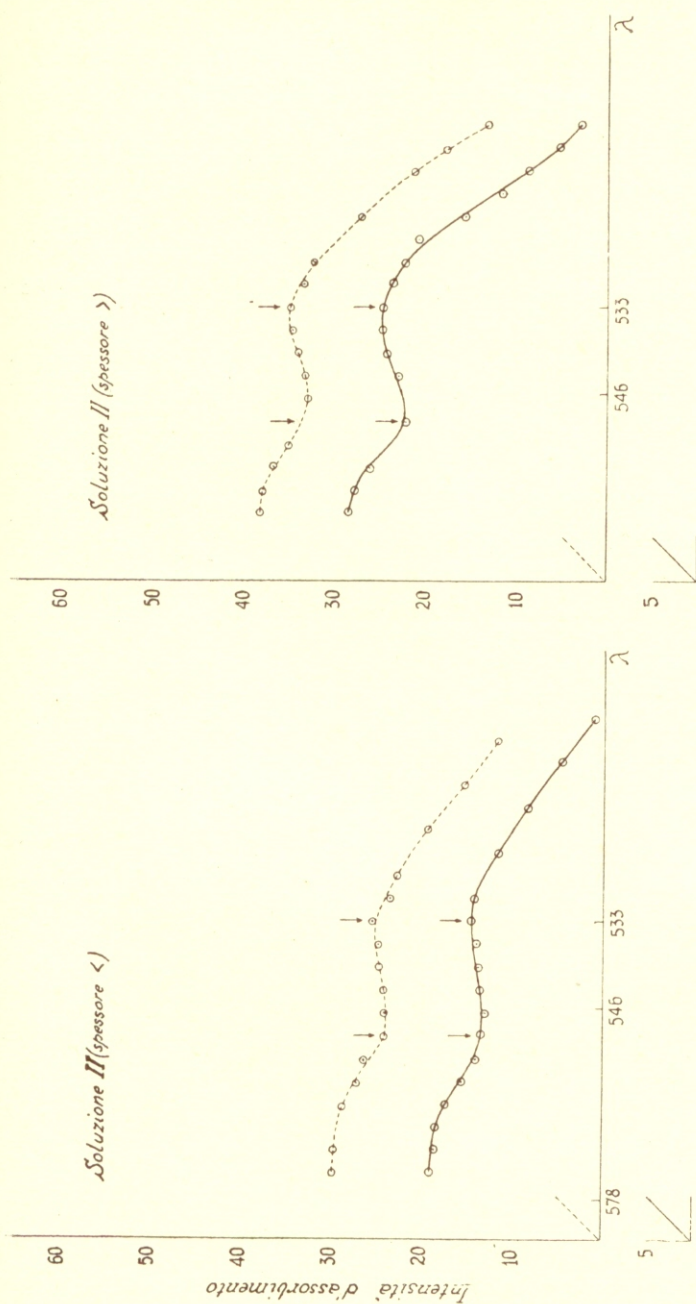


Fig. 2. - Courbes d'absorption de la sol. II (après conservation pendant 23 mois), limitées à la zone spectrale nécessaire pour calculer le quotient d'absorption. Avec les flèches on indique les régions spectrales choisies pour le calcul. L'intensité d'absorption est exprimée par les variations du galvanomètre; longueur d'onde en μ .

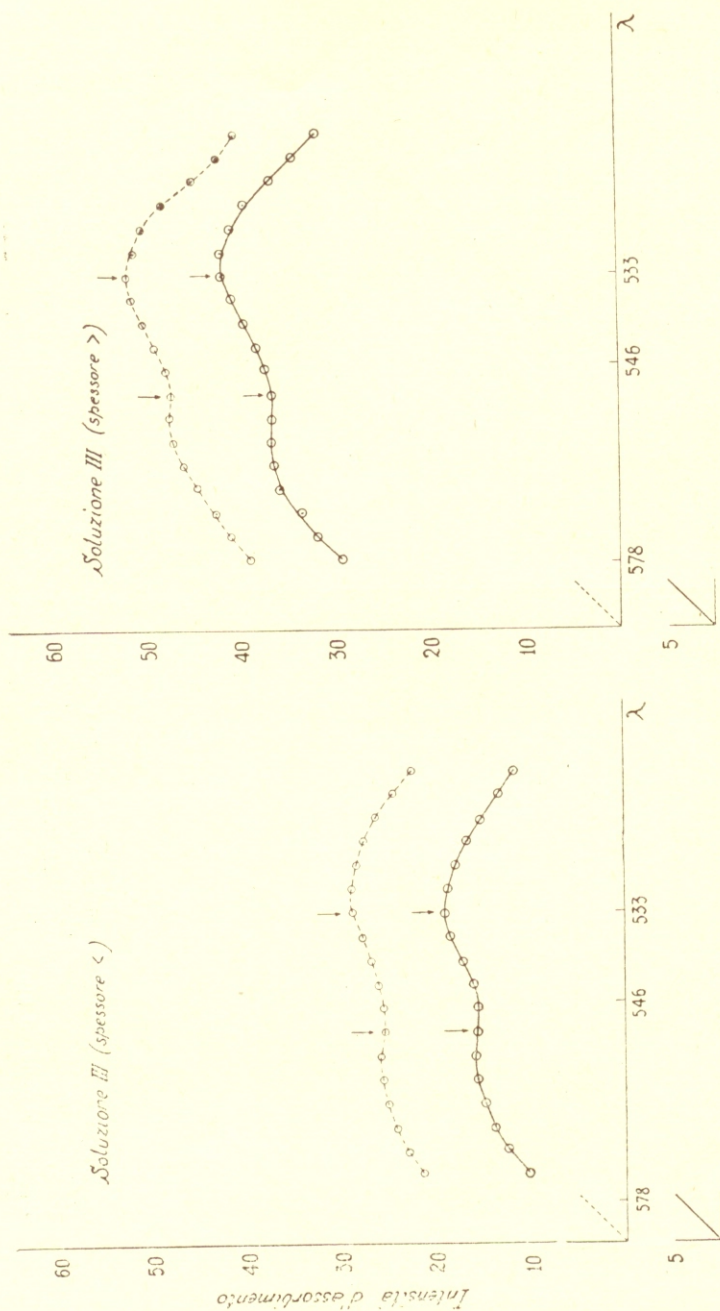


Fig. 3. - Courbes d'absorption de la sol. III (après conservation pendant 27 mois), limitées à la zone spectrale nécessaire pour le calcul du quotient d'absorption. Avec les flèches on indique les régions spectrales qu'on a choisies pour le calcul. L'intensité d'absorption est exprimée par les variations du galvanomètre; longueur d'onde en $\mu\mu$.

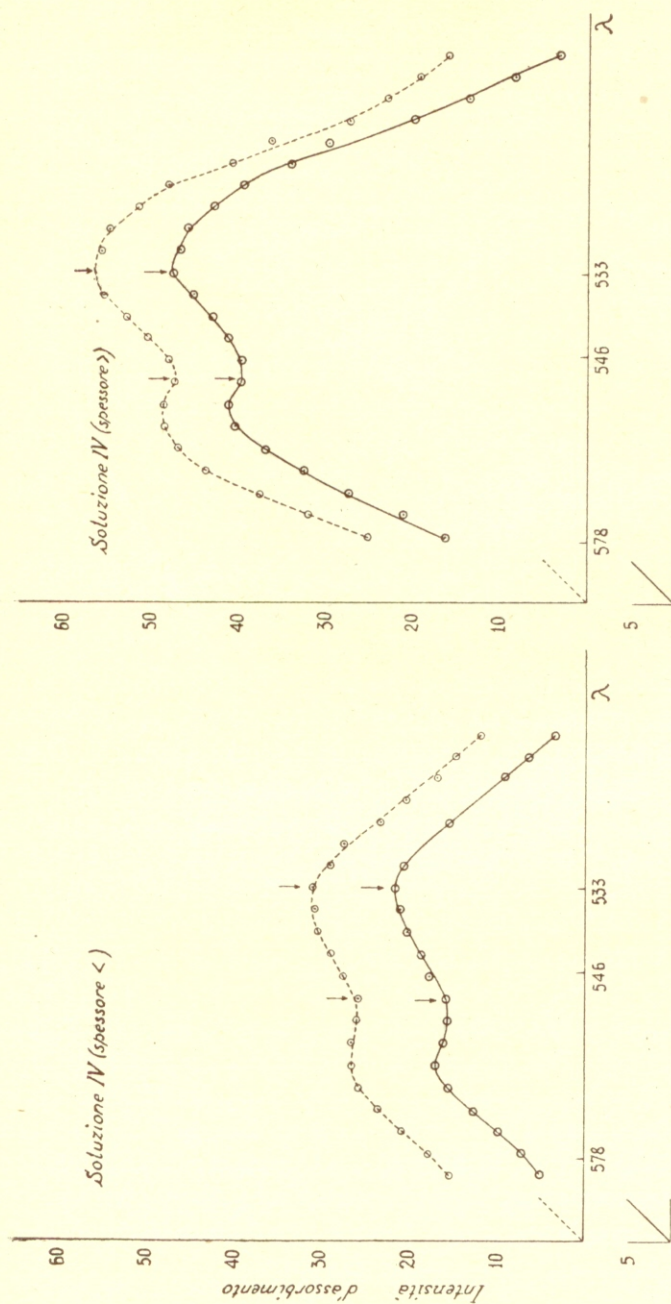


Fig. 4. - Courbes d'absorption de la sol. IV (conservée pendant 14 mois), limitées à la zone spectrale nécessaire pour le calcul du quotient d'absorption. Avec les flèches on indique les régions spectrales choisies pour le calcul. L'intensité d'absorption est exprimée par les déviations du galvanomètre; longueur d'onde en $\mu\mu$.

TABLEAU III. - Quotient d'absorption

Solution I	Solution II	Solution III	Solution IV
plaque 29 1,39	plaque 11 0,92	plaque 23 0,89	plaque 26 0,95
plaque 30 9,44	plaque 16 0,96	plaque 30 0,92	plaque 27 0,91
plaque 35 1,32	plaque 25 0,89	plaque 32 0,93	plaque 28 0,99
Moyenne 1,38	Moyenne 0,92	Moyenne 0,91	Moyenne 0,95

TABLEAU IV. - Position des bandes de la sol. III à divers pH (*)

		à pH 6,35	à pH 7,06	à pH 8,47	à pH 9,96
1 ^{ère} bande	de	{ $\mu\mu$ 510,2	{ $\mu\mu$ 509,7	{ $\mu\mu$ 510,7	{ $\mu\mu$ 509,2
	à	{ „ 539,1	{ „ 532,9	{ „ 538,3	{ „ 539,5
2 ^{ème} bande	de	{ „ 561,4	{ „ 559,1	{ „ 557,9	{ „ 560,6
	à	{ „ 578,7	{ „ 564,2	{ „ 579,2	{ „ 579,7
3 ^{ème} bande	de	{ „ 655,5	{ „ 655,0	{ „ 656,0	{ „ 655,8
	à	{ „ 655,5	{ „ 655,0	{ „ 656,0	{ „ 655,8

En conclusion: les trois sol. de Hb conservées longtemps, présentent: a) absorption continue qui commence déjà pour $\lambda = \mu\mu$ 517,7; b) deux bandes dans le vert, qui ont leur maximum en correspondance de $\lambda = \mu\mu$ 532,6 et $\lambda = \mu\mu$ 563,3; c) une bande, dans le rouge, composée de deux éléments, le maximum desquels se trouve, à $\lambda = \mu\mu$ 641,2 et $\lambda = \mu\mu$ 657,3.

Le quotient d'absorption de ces sol. est exprimé par les valeurs 0,91 - 0,92 - 0,95. Les caractères spectraux d'une sol. de contrôle (sol. d'O₂Hb et de mét-Hb, obtenue par dialyse et examinée à la fin de la dialyse même) sont différents des caractères des sol. de vieille date que j'ai étudiées.

Il faut remarquer le déplacement vers le rouge de la région d'absorption continue que l'on observe dans les sol. conservées longtemps. Il faut admettre que la substance nouvelle est incapable d'atteindre, sans dissociation, les énergies qu'on peut trouver dans la substance originale. C'est à ce fait qu'il faut, peut-être, attribuer la stabilité du système présent dans les sol. de vieille date, dans l'hypothèse que cette énergie soit nécessaire pour que les réactions caractéristiques des sol. de O₂Hb et de mét-Hb puissent se vérifier.