

K. BIALASZEWICZ

19

L'ULTRAFILTRATION

appliquée aux recherches sur la répartition
des électrolytes dans le cytoplasme

*(Institut Nencki de Biologie expérimental à Varsovie et Station
Zoologique de Naples.)*



EXTRAIT DES
ANNALES DE PHYSIOLOGIE
et de
PHYSICOCHIMIE BIOLOGIQUE

N° 2, 1928, p. 190-217

Gaston DOIN & C^{ie}
EDITEURS A PARIS

L'ultrafiltration appliquée aux recherches sur la répartition des électrolytes dans le cytoplasme

par K. BIALASZEWICZ

(*Institut Nencki de Biologie expérimentale à Varsovie et Station
Zoologique de Naples.*)

Les recherches entreprises dans le courant des dernières années, en appliquant la méthode d'ultrafiltration et de dialyse avec compensation, ont contribué dans une large mesure à éclaircir la question relative aux rapports entre les électrolytes et les colloïdes dans les liquides de l'organisme. Les travaux concernant ce sujet ⁽¹⁾, nous ont appris que par suite de l'union des sels inorganiques et des colloïdes, seulement une partie de ceux-ci circule dans le sang sous forme de solution aqueuse ordinaire. Cette constatation est d'une grande importance, lorsqu'il s'agit d'interpréter des phénomènes d'échange de matière, se produisant entre le plasma sanguin et les éléments cellulaires d'une part, et le milieu ambiant de l'organisme, d'une autre.

Si nous pouvons considérer comme relativement satisfaisant l'état actuel de nos connaissances sur la répartition des électrolytes dans les liquides du corps, nos renseignements sur les rapports entre les composés inorganiques et la phase colloïdale dans les cellules et les tissus de l'organisme, sont en revanche absolument insuffisants ⁽²⁾. Tout ce que nous savons

⁽¹⁾ On trouvera dans la communication d'AUSBERGER (1925) la bibliographie en rapport avec ce problème.

⁽²⁾ Comp. l'article d'ARON et de GRALKA (1924).

sur les composants minéraux du cytoplasme se réduit presque exclusivement aux analyses des cendres, produits de la destruction complète que subit la phase colloïdale de la cellule.

La question relative à la distribution des composants des cendres entre le liquide intermicellaire et les particules colloïdales de la cellule, est, cependant, d'une grande importance pour une série de problèmes physiologiques, parmi lesquels il faut, sans contredit, nommer en premier lieu les processus d'échange des électrolytes avec le milieu ambiant. Le mécanisme de ce phénomène ne saurait être expliqué sans la connaissance exacte de la composition chimique du liquide intermicellaire dans les deux systèmes colloïdaux, c'est-à-dire non seulement dans le plasma sanguin, mais aussi dans le cytoplasme.

Une des raisons principales de l'insuffisance de nos connaissances sur la cellule est certainement la conséquence des difficultés qu'offre la séparation mécanique des particules colloïdales des liquides qui les contiennent. Dans les recherches résumées dans le présent travail, nous avons tâché de vaincre indirectement ces difficultés, en étudiant la façon de se comporter des électrolytes dans des mélanges de cytoplasme dilué, qui passent facilement à travers les membranes employées à l'ultrafiltration. L'analyse de ces mélanges et des liquides filtrés nous permet de tirer des conclusions relatives à la répartition des électrolytes dans le matériel qui avait servi de point de départ à nos recherches, en d'autres termes, dans le cytoplasme même.

Nous décrirons dans la suite les expériences dont le but était de déterminer le volume de « l'espace dissolvant » du cytoplasme et de connaître la répartition, ainsi que la concentration des électrolytes dans les deux phases qu'on distingue dans la cellule.

MATÉRIEL D'ÉTUDES, PROCÉDÉS TECHNIQUES ET MÉTHODES MICROANALYTIQUES

Lorsqu'on se propose de faire des recherches sur la répartition des électrolytes dans la cellule, on doit attacher tout

autant d'importance au choix d'un objet d'étude approprié qu'au choix d'une méthode convenable. L'objet en question doit surtout permettre de se procurer des quantités suffisantes de matériel d'étude, comme il doit avoir certaines propriétés grâce auxquelles il est possible d'obtenir le cytoplasme à l'état absolument pur, libre de toutes substances étrangères. Cette dernière circonstance ne peut que restreindre très sensiblement les possibilités du choix entre les différents tissus de l'organisme animal, qui sont d'habitude abondamment vascularisés. Nous savons, en effet, par les recherches de FAHR (1908), d'URANO (1908) et d'autres auteurs, que nous nous heurtons à de très sérieuses difficultés, lorsque nous voulons écarter complètement le sang des capillaires, ainsi que la lymphe qui remplit les espaces intercellulaires.

Tenant compte de ces difficultés, nous avons fixé notre attention sur les cellules-œufs, qui nous parurent le matériel le plus approprié. Les cellules appartenant à ce type histologique peuvent, en effet, être facilement débarrassées de différentes substances étrangères (telles que les restes de liquides intercellulaires, les traces de blanc d'œuf ou d'eau marine adhérant à la surface des œufs) et il est possible de s'en procurer de grandes quantités. Dans nos expériences nous avons employé des œufs provenant des espèces suivantes : *Gallus domesticus* L., *Salmo fontinalis* L., *Labrax lupus* Cuv. et *Torpedo ocellata* Raf.

Dans le présent chapitre, nous indiquons les procédés appliqués au cours de nos expériences ; ils intéressent la façon de préparer le matériel, la détermination du volume de l'ooplasme, la manière de le diluer et d'ultrafiltrer les mélanges, la méthode d'incinération, enfin le dosage de certains composants des cendres et de liquides filtrés.

Pour nous procurer du matériel pur, nous avons à plusieurs reprises rincé les œufs avec de petites quantités de solutions isosmotiques de nitrate de lithium, en ayant soin d'enlever d'abord avec une pipette, puis avec du papier buvard, les restes de liquide adhérant à leur surface.

Les œufs, libres de toute substance étrangère, étaient ensuite broyés dans un mortier, débarrassés de leurs membranes et répartis en portions qui étaient pesées.

Une des portions de l'ooplasme servait à mesurer le volume spécifique qu'on déterminait à l'aide du pycnomètre. La masse et le volume spécifique permettaient de calculer le volume des autres portions d'ooplasme destinées à préparer des mélanges.

Pour diluer la substance écrasée, nous nous sommes servis tantôt d'eau distillée (dans les expériences sur des œufs de *Torpedo* et de *Labrax*), tantôt, comme c'était le cas dans la plupart des épreuves, nous avons employé des solutions aqueuses (neutre vis-à-vis le tournesol) de Li_2SO_4 , de LiNO_3 et de NaNO_3 , solutions dont la concentration était isosmotique par rapport aux œufs étudiés. Comme nous l'apprîmes par les expériences, c'était la solution de nitrate de lithium qui se prêtait le mieux à cet usage. Nous avons préparé des mélanges d'une concentration définie, en ajoutant à une quantité donnée d'ooplasme des volumes strictement déterminés de solutions. Après avoir bien mélangé ces liquides, nous procédions immédiatement à la filtration.

Pour obtenir des liquides ultrafiltrés, nous nous sommes servis de l'ensemble des appareils recommandés par ZSIGMONDY (1918) et nous avons employé des entonnoirs de bronze (W B) ou de porcelaine (P A) de 9 centimètres de diamètre, ainsi que des membranes à ultrafiltration de DE HAEN, de mêmes dimensions. Nous avons déterminé le degré de perméabilité des membranes, en faisant passer d'abord une solution de rouge de Congo, puis une solution diluée de blanc d'œuf de Poule et enfin une émulsion de jaune. Le liquide filtré était examiné pour se rendre compte s'il ne contenait pas de substances protéiques; pour procéder aux expériences, on ne se servait que de filtres qui laissaient passer des liquides ne donnant pas la réaction de biuret et ne formant pas de précipité lorsqu'ils étaient traités par le réactif de JOHANNISIAN.

La filtration avait lieu sous une pression augmentée, qui toutefois ne dépassait pas celle d'une atmosphère (v. BURIAN, 1909, 1910). Pour activer ce processus, très lent lorsqu'il s'agit de cytoplasme faiblement dilué (on ne voyait que 3-5 cc. de liquide traverser la membrane dans une heure), nous ne cessions de mélanger la liqueur sur le filtre et nous

abrégions ainsi plusieurs fois la durée de la filtration. Pour diminuer autant que possible ce qu'on a appelé « l'erreur du filtre », s'expliquant par la présence d'eau dans la membrane et par ses propriétés d'absorption, on la séchait avec du papier buvard avant de s'en servir et l'on écartait la première portion de liquide filtré (3-6 cc.). Nous avons obtenu de cette façon une série de liquides filtrés, absolument clarifiés, ne contenant pas de substances protéiques. Avant de s'en servir, ces liquides étaient étendus d'eau distillée, jusqu'à ce que les composants, qu'on déterminait par des méthodes microanalytiques, eussent atteint à peu près la même concentration.

En procédant à l'incinération du résidu stable des mélanges, j'ai exactement appliqué la méthode décrite dans mes travaux précédents (1926, 1928) sur les composants minéraux des cellules-œufs.

Dans les solutions des cendres, ainsi que dans les liquides filtrés, nous avons dosé le K, le Na, le Ca, le Mg, le P et le Cl. Pour exécuter ces dosages, nous avons appliqué les méthodes, en suivant les indications dont j'ai parlé dans mon travail mentionné ci-dessus. Il s'agissait des méthodes microanalytiques de : KRAMER et TISDALL (1921) pour le potassium ; KRAMER-TISDALL (1921) et BALINT (1924) pour le sodium ; HECHT (1923) et DE WAARD (1919) pour le calcium ; KRAMER et TISDALL (1921), BELL et DOISY (1920), ainsi que BRIGGS (1922) pour le magnésium ; BRIGGS (1922) pour le phosphore, et WHITEHORN (1920) pour le chlore.

« ESPACE DISSOLVANT » DU CYTOPLASME

C'est à FREDERICQ (1901,1902) que nous devons d'avoir observé la première fois, sur un matériel biologique, l'influence qu'exerce la phase colloïdale sur la concentration des électrolytes dans des solutions hétérogènes. Cet auteur s'est aperçu que, chez certains animaux marins, la concentration des sels du sang est nettement au-dessous de leur concentration dans l'eau de mer, par rapport à laquelle ces animaux sont isototiques. S'appuyant sur les résultats de recherches entreprises sur ce sujet, FREDERICQ a montré que cette diffé-

rence s'explique par le fait que le volume de l'eau dans laquelle les sels sont dissous est en réalité inférieur au volume du sang, la différence étant compensée par les colloïdes qui occupent une partie considérable de leur volume.

Dans leurs travaux ultérieurs, les auteurs qui se sont occupés du rapport entre les électrolytes et les colloïdes dans les liquides nourriciers de l'organisme ont tenu compte de cette observation importante. Citons parmi ces travaux ceux de HAMBURGER (1902), de RONA (1910), de RONA et GYÖRGY (1913), de SÖRENSEN (1915), de FREDERICIA (1920), de COLLIP (1920), de POLANYI (1920), d'EGE (1920-1921), de WARBURG (1922), d'AUSBERGER (1925), de VAN SLYKE (1922-1923), de WLADIMIROFF (1926), de LUNDSGARD et HOLLBÖLL (1926). Ce sont surtout les publications de POLANYI et d'AUSBERGER qui méritent de retenir l'attention, vu que nous y trouvons fondés en théorie les principes sur lesquels nous nous appuyons pour déterminer ce qu'on a appelé « l'espace dissolvant » dans les solutions de substances dispersées.

Des deux procédés servant à mesurer le volume de cet espace, c'est-à-dire de la méthode de concentration des cristalloïdes dans le milieu de dispersion des solutions hétérogènes (FREDERICQ, 1902) et de celle de leur dilution dans celui-ci (POLANYI, 1920), nous avons dans nos recherches choisi la dernière, car non seulement elle permet de tirer des conclusions relatives aux rapports réciproques entre les deux phases, mais nous donne également le moyen de juger des changements se produisant dans la répartition des électrolytes sous l'influence de la dilution.

Nous avons évalué de deux façons différentes la concentration de la phase aqueuse dans les mélanges étudiés : nous avons soit déterminé l'abaissement de leur point de congélation, soit dosé les sels minéraux dans les liquides ultrafiltrés. Ces déterminations nous ont permis de calculer le volume du liquide intermicellaire (« l'espace dissolvant ») dans notre matériel d'études, c'est-à-dire dans le cytoplasme.

En faisant ces calculs, nous avons supposé provisoirement que la quantité absolue des substances étudiées, en solution dans le liquide intermicellaire du cytoplasme, ne variait

pas sous l'influence de la dilution. Nous pouvons traduire cette supposition par la série d'équations :

$$(I) \quad u_0 d_0 = u_1 d_1 n_1 \dots = u_x d_x n_x,$$

dans lesquelles les symboles $d_0, d_1 \dots d_x$ indiquent le volume du liquide intermicellaire dans 1 centimètre cube de cytoplasme ou de mélanges, caractérisés par un degré croissant de dilution, tandis que $u_0, u_1 \dots u_x$ expriment la quantité d'une substance donnée dans 1 centimètre cube du liquide intermicellaire du cytoplasme et des mélanges, enfin $n_1 \dots n_x$ correspondent au degré de dilution du cytoplasme dans un mélange donné, en d'autres termes au rapport entre le volume de celui-ci ($v_1 \dots v_x$) et le volume du cytoplasme ($p_1 \dots p_x$) qu'il contient, soit :

$$\frac{n_1 = v_1}{p_1} \quad \frac{n_x = v_x}{p_x}.$$

Il résulte de ces équations que nous pouvons calculer la valeur d_0 qui nous intéresse pour le moment, lorsque nous connaissons la concentration du liquide intermicellaire pour au moins deux mélanges, ainsi que le degré de leur dilution et les valeurs numériques correspondant au volume du liquide intermicellaire dans 1 centimètre cube des mélanges ($d_1 \dots d_x$). La relation entre ces dernières valeurs d'une part, et le volume du liquide intermicellaire du cytoplasme non dilué (d_0), ainsi que le degré de dilution de celui-ci ($n_1 \dots n_x$) de l'autre, peut s'exprimer par les équations :

$$(II) \quad d_1 = \frac{d_0 + n_1 - 1}{n_1},$$

$$(III) \quad d_x = \frac{d_0 + n_x - 1}{n_x}.$$

Si nous substituons les valeurs correspondant à d_1 et d_x dans deux des produits de la série d'équations (I), nous résoudrons celles-ci par rapport à d_0 .

Lorsque la détermination de u_0 n'offre pas de difficultés particulières, nous calculons le volume du liquide intermicel-

laire dans 1 centimètre cube de cytoplasme, d'après la formule :

$$(IV) \quad d_o = \frac{(n_1 - 1) u_1}{u_o - u_1},$$

dans laquelle u_o et u_1 indiquent la concentration du liquide intermicellaire dans le cytoplasme et dans n'importe quelle solution de celui-ci, tandis que n_1 exprime le degré de dilution.

Par la suite des difficultés qu'il fallait surmonter pendant la filtration, nous nous sommes cependant bornés dans la majorité des expériences à ne déterminer la concentration du liquide intermicellaire que dans les mélanges ($u_1 \dots u_x$). Prenant comme point de départ l'équation :

$$u_1 d_1 n_1 = u_x d_x n_x,$$

nous aboutissons alors à la formule :

$$(V) \quad d_o = \frac{(n_x - 1) u_x - (n_1 - 1) u_1}{u_1 - u_x},$$

que nous avons surtout appliquée dans le présent travail. Cette équation nous permet de calculer le volume du liquide intermicellaire dans le cytoplasme, lorsque nous connaissons la concentration de la substance étudiée dans les liquides ultrafiltrés, obtenus de deux mélanges (u_1, u_x), ainsi que la dilution de ceux-ci (n_1, n_x).

Il appert de ce qui précède que les formules (IV) et (V) ne sauraient être appliquées que lorsque les équations (I), (II) et (III) sont exactes, autrement dit, lorsque la quantité absolue des substances dissoutes dans le liquide intermicellaire du cytoplasme, ainsi que le volume de la phase dispersée, ne changent pas sous l'influence de la dilution. On ne peut toutefois exclure d'avance la possibilité que les propriétés changées du milieu de dispersion, attribuables au fait d'avoir introduit du liquide servant à le diluer, ne produisent de variations de volume de la phase dispersée et ne modifient les propriétés d'adsorption de celle-ci. Ces changements peuvent dépendre évidemment aussi bien des propriétés du liquide employé à la dilution que de celles des substances dont nous déterminons la concentration.

En ce qui concerne l'eau distillée, employée comme liquide de dilution, des expériences appropriées nous ont appris qu'on ne peut s'en servir que lorsque les œufs ne contiennent pas de plus grandes quantités de substances protéiques qu'on voit précipitées après avoir ajouté de l'eau. Parmi les œufs qui supportent l'application d'eau distillée, il faut nommer ceux des Sélaciens (*Scyllium*, *Torpedo*), ceux des Céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*), ainsi que les œufs d'Oursins (*Arbacia*, *Paracentrotus*), dans lesquels, même après avoir été fortement diluée, l'ooplasme ne manifeste pas de traces appréciables de coagulation.

Dans nos expériences, nous avons surtout eu affaire à un matériel riche en substances protéiques, très sensibles à la composition chimique du liquide additionné et au degré de concentration des sels qu'il contenait (*Salmo*, *Gallus*). Pour éviter les changements se produisant par suite de la précipitation des globulines, nous avons eu recours dans ce cas-là à l'emploi de solutions faibles de sels neutres.

Une série d'épreuves nous a appris que des solutions de sels de lithium, isosmotiques avec l'ooplasme, en premier lieu des solutions de sulfate et de nitrate de ce métal, se prêtent le mieux au but que nous nous proposons d'atteindre. En nous servant de solutions de ces sels et en dosant dans les liquides ultrafiltrés le chlore, qui s'était montré un des composants les moins variables du liquide intermicellaire, nous avons pu déterminer avec une précision suffisante le volume du liquide intermicellaire de l'ooplasme.

Ainsi, dans une des expériences dont nous parlerons avec détails dans la suite (v. tableau III), nous avons employé comme matériel du jaune d'œuf de Poule (vol. spécifique = 0,9) et l'avons dilué avec une solution de Li_2SO_4 à 0,7 p. 100. Cinq mélanges de jaune dont le degré de dilution variait entre $n_1 = 2,08$ et $n_x = 10,4$ servirent à préparer autant de liquides ultrafiltrés, dans lesquels nous dosâmes le chlore par la méthode volumétrique de WHITEHORN (1921). Il résulte des analyses concernant le chlore (v. tableau I) que la concentration de cet anion diminue plus fortement dans les liquides filtrés qu'on aurait pu le supposer à en juger par le degré de dilution.

TABLEAU I

Détermination du volume du liquide intermicellaire dans le jaune d'œuf de Gallus domesticus L.

Volume spécifique du jaune d'œufs = 0,9.

N° du mélange	VOLUME			Degré de dilution du jaune d'œuf $n = \frac{v}{p}$	Concentration du chlore dans 1 cm ³ de liquide ultrafiltré u mgr.	Volume calculé du liquide intermicellaire dans 1 cm ³ de jaune d'œuf $d_0 =$ $(n_x - 1)u_x - (n_1 - 1)u_1$
	du jaune d'œuf p cm ³	de la solution de Li ₂ SO ₄ à 0,7% $v - p$ cm ³	du liquide après la dilution v cm ³			$u_1 - u_x$ cm ³
1	4,8	5,2	10	2,08	1,080	—
2	4,8	15,2	20	4,17	0,472	0,541
3	4,8	25,2	30	6,25	0,306	0,569
4	4,8	35,2	40	8,33	0,222	0,537
5	4,8	45,2	50	10,4	0,195	(0,754)

Comme nous le savons déjà, cette différence nous permet de calculer le volume du liquide intermicellaire du cytoplasme. Après avoir calculé ce volume d'après la formule (V), nous obtenons des chiffres (v. tableau I, dernière colonne), qui ne dénotent pas de dépendance manifeste par rapport à n , c'est-à-dire par rapport au degré de dilution et qui, en dehors du dernier, sont plutôt concordants. Nous apprenons du tableau I que le volume du liquide intermicellaire dans 1 centimètre cube de jaune d'œuf de poule, s'élève à peine à 0 cc. 549 dans le cas étudié, autrement dit, que près de 45 p. 100 du volume de l'ooplasmе sont occupés par des substances colloïdales et par des grains deutoplasmiques en suspension.

Cette expérience, qu'il faut ranger parmi beaucoup d'autres analogues, nous apprend que la dilution de l'ooplasmе avec une solution aqueuse d'un sel neutre (Li₂SO₄), ne produit aucun changement dans la répartition du chlore. En effet, s'il

en avait été autrement, les valeurs calculées pour d_o auraient changé parallèlement avec la quantité de solution introduite. Les changements en question n'ont lieu que lorsque l'ooplasm est plus fortement dilué, ou bien quand on emploie des solutions moins concentrées, respectivement plus concentrées, de sels de lithium.

TABLEAU II

Détermination du volume du liquide intermicellaire dans le jaune d'œufs de *Torpedo ocellata* Raf.

Volume spécifique du jaune = 0,898.

N° du mé- lange	VOLUME		Degré de dilution du jaune $n = \frac{v}{p}$	Abaissement du point de congélation des mélanges u °C	Volume du liquide intermicellaire dans 1 cm ³ de jaune $d_o \equiv \frac{(n_1-1) u_1}{u_o - u_1}$ cm ³
	du jaune d'œuf p cm ³	de l'eau distillée ajoutée $v-p$ cm ³			
1	8,00	0	1,00	2,204°	—
2	8,23	4,58	1,56	0,987°	0,453
3	8,22	9,16	2,11	0,657°	0,471
4	7,92	13,24	2,67	0,473°	0,456
5	7,90	22,02	3,79	0,346°	0,519
6	5,97	33,25	6,57	0,185°	0,510

Les expériences ultérieures ont montré de plus que les différents ions des sels de lithium mentionnés (Li , $\text{SO}_4^{''}$, NO_3'), n'agissent pas d'une façon appréciable sur le volume calculé du liquide intermicellaire. Les expériences au cours desquelles, pour procéder à la dilution, nous avons employé des solutions de quelques sels neutres, en fournissent la preuve. Dans une de ces épreuves avec des œufs mûrs de Truite (*Salmo fontinalis*, v. tableau V), nous avons dilué l'ooplasm dans la proportion de 1 : 4 avec des solutions à 0,7 p. 100 de Li_2SO_4 , de LiNO_3 et de NaNO_3 ; or, l'analyse des

liquides ultrafiltrés a révélé presque la même concentration du chlore, dont la quantité s'élevait à 0,619, à 0,608, respectivement à 0,619 milligrammes dans 1 centimètre cube de liquide.

Lorsqu'on pouvait employer de l'eau distillée pour procéder à la dilution, on calculait le volume du liquide intermicellaire d'après l'abaissement du point de congélation de l'ooplasmе et de ses mélanges. Nous avons réuni dans le tableau II les résultats d'une série de déterminations pareilles, concernant les œufs de *Torpedo ocellata*.

Comme c'était le cas, les expériences dont nous avons parlé précédemment au cours desquelles la concentration des liquides filtrés avait été déterminée d'après le contenu de chlore, de même ici nous observons les valeurs de Δ , qui sont en disproportion avec la dilution du jaune d'œuf et qui témoignent de sa forte teneur en substances colloïdales. En effet, le volume du liquide intermicellaire calculé d'après la formule (IV) s'élève en moyenne à peine à 0,482 centimètres cubes de jaune et varie dans les différents cas entre 0,453 et 0,519 centimètres cubes. On n'observe d'écarts plus sensibles que lorsque le degré de dilution est plus fort (à partir de la proportion 1 : 3). C'est alors que commence probablement à se manifester l'influence de la dissociation des électrolytes.

LA RÉPARTITION DES ÉLECTROLYTES DANS L'OOPLASME

Il résulte des travaux d'AUSBERGER (1925) et d'autres, que le volume du liquide intermicellaire joue un rôle fondamental dans l'analyse de la répartition des corps diffusibles dans les solutions hétérogènes. En effet, la détermination du volume de ce liquide nous permet d'établir la valeur numérique de la répartition de ces substances entre deux phases, lorsque nous connaissons leur concentration dans le mélange et dans le liquide ultrafiltré.

Si, comme mesure de la répartition d'une substance étudiée dans la solution colloïdale, nous admettons le rapport entre la quantité de celle-ci se trouvant dans le liquide intermicellaire, c'est-à-dire à l'état de solution vraie (*ud*) et la quantité

globale de cette substance dans le mélange hétérogène nous pouvons exprimer ce rapport par :

$$(VI) \quad \hat{z} = \frac{ud}{c}$$

Dans cette équation, c indique (en mgr. pour 1 cc.) la concentration totale de la substance étudiée dans le mélange et dosée dans les cendres, u exprime (également en mgr. pour 1 cc. de liquide) la concentration de celle-ci dans le liquide ultrafiltré, tandis que d correspond au volume du liquide intermicellaire (en cc.) dans 1 centimètre cube de mélange; quant à \hat{z} , nous l'appellerons quotient de répartition.

L'équation (VI) détermine entièrement la répartition de la substance étudiée dans un mélange donné, vu qu'elle permet de définir aussi bien la distribution de celle-ci entre le milieu de dispersion $\left[\frac{ud}{c}\right]$ et la phase dispersée $\left[\frac{c - ud}{c}\right]$, que la concentration vraie de cette substance dans les deux phases du mélange nous obtenons d'une façon analogue :

$$\left[\frac{c\hat{z}}{d}\right] \quad \text{et} \quad \left[\frac{c(1 - \hat{z})}{(1 - d)}\right].$$

On comprend aisément que l'application de la formule (VI) était limitée dans nos expériences à l'ooplasme dilué, traversant facilement les filtres. Cette circonstance a posé au premier plan la nécessité d'éclaircir l'influence qu'exerce la dilution sur la distribution des électrolytes dans l'ooplasme. En effet, la façon de se comporter du chlore, dont nous avons parlé dans le chapitre précédent, ne saurait exclure d'avance la possibilité de déplacement pour d'autres ions, qui peuvent tout aussi bien passer de la liaison colloïdale dans la phase aqueuse que prendre la direction inverse. Comme résultat final de ces changements, on peut voir le rapport quantitatif réciproque entre les différents corps dissous dans le liquide intermicellaire du cytoplasme subir des modifications importantes, lorsque celui-ci a été dilué.

Dans les recherches qui font le sujet du présent chapitre, nous avons admis que l'étude de la direction et de la grandeur

de ces changements nous permettra de connaître la composition minérale des substances qui constituent les deux phases du cytoplasme. C'est pourquoi nous avons considéré comme notre tâche la plus proche d'établir le rapport numérique entre le degré de dilution du cytoplasme (n) et les valeurs du quotient ξ , trouvées pour les différents ions.

Les expériences entreprises dans ce but ont porté sur les œufs d'une série d'espèces animales, toutefois les résultats que nous discuterons ci-après n'intéressent que trois espèces, notamment : *Gallus domesticus* (tabl. III et IV), *Salmo fontinalis* (tabl. V) et *Labrax lupus*. Au cours de ces expériences, nous avons étudié la façon dont se comportent les six composants minéraux suivant de l'ooplasmе : le potassium, le sodium, le calcium, le magnésium, le phosphore et le chlore. Dans nos dosages, nous avons appliqué les méthodes microanalytiques précédemment énumérées.

Pour exécuter ces expériences, nous avons préparé une série de mélanges d'ooplasmе de différentes concentrations, auxquels, comme c'était le cas lorsqu'il s'agissait de déterminer le volume du liquide intermicellaire, nous avons ajouté des solutions des trois sels neutres suivants : Li_2SO_4 (expérience XII, v. tableau III et expérience XIV, v. tableau V), LiNO_3 : (expérience XIII, v. tableau IV et expérience XIV, v. tableau V) ou NaNO_3 (expérience XIV, v. tableau V). Nous prélevions ensuite deux portions sur le mélange le moins dilué (d'habitude dans la proportion de 1:2) : l'une devait servir à doser le chlore total, tandis que l'autre était soumise à l'incinération par voie humide, en présence de HNO_3 concentré (cette portion était employée à la détermination des autres composants minéraux). Ces analyses servaient à évaluer la concentration totale des composants dans le mélange étudié (c_1) et dans les mélanges plus fortement dilués ($c_2, c_3 \dots c_x$) ⁽¹⁾. Immédiatement après avoir prélevé ces portions, nous préparions un certain nombre de liquides filtrés en quantité suffisante, et nous y dosions les mêmes composants que dans les cendres. Nous obtenions ainsi les

(1) Ces dernières valeurs sont indiquées entre parenthèses dans les tableaux.

TABLEAU III

Influence exercée par la dilution sur la répartition des électrolytes dans le jaune d'œufs de Gallus domesticus L.

Expérience n° XII. Liquide employé à la dilution : solution de Li_2SO_4 à 0,7 p. 100. Volume spécifique du jaune d'œufs = 0,9.

N° du mélange	1	2	3	4	5
p (cm ³)	61,8	4,8	4,8	4,8	4,8
v (cm ³)	128,8	20,0	30,0	40,0	50,0
$n = \frac{p}{v}$	2,08	4,17	6,25	8,33	10,41
$d = 1 - \frac{1-d_0}{n}$	0,783	0,892	0,928	0,946	0,957
K.	$\begin{cases} c & 1,080 \\ u & 0,869 \\ \delta & 0,629 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,540) \\ 0,356 \\ 0,588 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,360) \\ 0,235 \\ 0,606 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,270) \\ 0,180 \\ 0,631 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,216) \\ 0,134 \\ 0,593 \end{cases}$
Na.	$\begin{cases} c & 0,120 \\ u & 0,146 \\ \delta & 0,953 \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$
Ca.	$\begin{cases} c & 0,645 \\ u & 0,144 \\ \delta & 0,174 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,322) \\ 0,088 \\ 0,244 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,215) \\ 0,088 \\ 0,379 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,161) \\ 0,069 \\ 0,405 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,129) \\ 0,068 \\ 0,504 \end{cases}$
Mg.	$\begin{cases} c & 0,102 \\ u & 0,070 \\ \delta & 0,537 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,051) \\ 0,028 \\ 0,493 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,034) \\ 0,026 \\ 0,709 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,025) \\ 0,019 \\ 0,719 \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$
P.	$\begin{cases} c & 2,058 \\ u & 0,079 \\ \delta & 0,030 \end{cases}$	$\begin{cases} (1,029) \\ 0,044 \\ 0,038 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,686) \\ 0,032 \\ 0,043 \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} (0,413) \\ 0,017 \\ 0,039 \end{cases}$
Cl.	$\begin{cases} c & - \\ u & 1,080 \\ \delta & - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ 0,472 \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ 0,306 \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ 0,222 \\ - \end{cases}$	$\begin{cases} - \\ - \\ - \end{cases}$

valeurs relatives à la concentration de composants dans le liquide intermicellaire de ces mélanges ($u_1, u_2 \dots u_x$). Les analyses concernant le chlore dans les liquides filtrés nous permirent enfin de calculer d'après l'équation (V), le volume du liquide intermicellaire dans l'ooplasmе (d_0), respectivement dans une série de mélanges étudiés ($d_1, d_2 \dots d_x$).

Nous avons réuni dans les tableaux III, IV et V les résultats que donnèrent trois expériences de ce genre. Dans ces tableaux les colonnes verticales indiquent les données concernant les différents mélanges ; nous y trouvons avant tout les valeurs relatives au volume de l'ooplasmе, employé à préparer les mélanges (p), ainsi que celles qui expriment leur volume après la dilution (v) ; nous y voyons calculé le degré de dilution du mélange (n) et le volume du liquide intermicellaire (d). Dans les rangées inférieures, nous avons indiqué pour chacun de six composants analysés leur concentration dans le mélange (c) et dans le liquide filtré (u), comme nous avons donné les valeurs du quotient \varkappa , calculées d'après la formule (VI).

Lorsque nous comparons entre elles les valeurs de ce quotient, celles que nous avons notées dans les rangées horizontales de nos tableaux, nous pouvons constater que le degré de dilution n'est pas sans exercer de l'influence sur la composition chimique du liquide intermicellaire des mélanges. En effet, nos expériences ont montré, sans que le moindre doute soit permis à cet égard, que la dilution entraînait des changements dans la répartition de certains électrolytes, changements s'exprimant soit par une diminution, soit par une augmentation de la valeur du quotient \varkappa .

Parmi les composants de la première catégorie, il ne nous faut ranger que le potassium, qui dans certains cas (voir les tableaux III et IV concernant le jaune d'œufs de Poule), manifestent une tendance légère, mais cependant appréciable, à se lier aux colloïdes. Tous les autres cations passent, en revanche, de la combinaison colloïdale à la phase aqueuse, sous l'influence de la dilution de l'ooplasmе. Cette influence n'est cependant pas la même par rapport aux différents ions.

Nous nous apercevons de plus que le potassium, ainsi que le chlore, comptent parmi les composants qui manifestent les moindres changements à cet égard. Cette conclusion

TABLEAU IV

Influence exercée par la dilution sur la répartition des électrolytes dans le jaune d'œufs de Gallus domesticus L.

Expérience n° XIII. — Liquide employé à la dilution : solution de LiNO_3 à 0,7 p. 100. Volume spécifique de jaune d'œufs = 0,9.

N° du mélange	1	2	3	4
p (cm ³)	5	5	5	5
v (cm ³)	10	20	30	50
$n = \frac{p}{v}$	2	4	6	10
$d = 1 - \frac{1 - d_0}{n}$	0,645	0,822	0,882	0,929
K $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	0,790 0,870 0,710	(0,395) 0,327 0,680	(0,263) 0,201 0,674	— — —
Na $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	0,100 0,146 0,942	— — —	— — —	— — —
Ca. $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	0,861 0,152 0,114	(0,430) 0,088 0,168	(0,287) 0,061 0,187	(0,172) 0,048 0,259
Mg $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	0,108 0,058 0,346	(0,054) 0,029 0,442	(0,036) 0,023 0,563	— — —
P. $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	1,885 0,078 0,027	(0,942) 0,034 0,030	(0,628) 0,023 0,032	(0,377) 0,013 0,032
Cl $\left\{ \begin{array}{l} c \\ u \\ \delta \end{array} \right.$	1,422 1,225 0,556	(0,711) 0,493 0,570	(0,477) 0,296 0,543	(0,284) 0,165 0,539

résulte des trois expériences concordantes sous ce rapport, où les valeurs de ε pour le potassium varient entre les limites : 0,631-0,588 (tableau III), 0,710-0,674 (tableau IV) et 0,896-0,921 (tableau V). Ces chiffres sont, en outre une preuve, que a majeure partie du potassium se trouve à l'état filtrable dans l'ooplasmе de ces animaux.

Deux autres cations, notamment le calcium et le magnésium, de même que le phosphore inorganique, se comportent d'une façon différente à cet égard. Ils diffèrent du potassium, non seulement en ce qui concerne leur union avec les substances de la phase dispersée, avec lesquelles ils forment des composés colloïdaux en bien plus grandes quantités, mais aussi sous le rapport de la grandeur et du sens des changements que subit le quotient ε sous l'influence de la dilution.

En effet, à mesure qu'on ajoute du liquide qui sert à la dilution, des quantités de plus en plus fortes de ces corps passent de la phase dispersée dans le liquide intermicellaire ; le degré de dissociation des composés colloïdaux du calcium et du magnésium est très élevé lorsque la dilution est plus forte. Nous avons pu observer un accroissement notable de la concentration de ces métaux dans la phase aqueuse, au cours de toutes nos expériences, sans excepter celles que nous avons entreprises sur l'ooplasmе d'autres animaux. Nos tableaux nous apprennent que lorsque la dilution varie de $n = 2$ à $n = 8$, le rapport entre le calcium diffusible et le calcium total augmente : la valeur de ε pour le jaune d'œuf de Poule, passe de 0,174 à 0,405 (tableau III) ou augmente deux-trois fois, comme on la voit passer de 0,114 à 0,223 (tableau IV), soit augmentée 1,9 fois. Pour les œufs de truite, cette valeur passe de 0,309 à 0,515 (tableau V), en d'autres termes, elle augmente 1,7 fois. Le magnésium se comporte d'une façon analogue et l'on voit ici le ε augmenter 1,3, 1,9, resp. 1,3 fois pour les mêmes dilutions. Pour le phosphore, nous obtenons les chiffres correspondants suivants : 1,4, 1,2 et 1,2.

En ce qui concerne l'influence exercée par les différents sels dissous dans les liquides employés à la dilution, sur le degré de dissociation des composés colloïdaux des deux métaux bivalents, il nous faut observer que c'est le sulfate de lithium

TABLEAU V

*Influence exercée par la dilution avec des solutions de Li_2SO_4 , de LiNO_3 et de NaNO_3 sur la répartition des électrolytes dans le cytoplasme d'œufs de *Salmo fontinalis* L.*

Expérience n° XIV. — Volume spécifique d'ooplasmе = 0,921.

N° du mélange	1	2	3	4	5
Solut. employée à la dilution (0,7 p. 100)	LiNO_3	Li_2SO_4	LiNO_3	NaNO_3	LiNO_3
$n = \frac{v}{p}$	2	4	4	4	8
$d = 1 - \frac{1-d_0}{n}$	0,896	(0,948)	0,948	(0,948)	0,974
K.	$\begin{cases} c & 1,424 \\ u & 1,436 \\ \delta & 0,896 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,712) \\ 0,692 \\ 0,921 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,712) \\ 0,686 \\ 0,913 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,712) \\ 0,680 \\ 0,905 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,356) \\ 0,333 \\ 0,911 \end{cases}$
Na.	$\begin{cases} c & 0,345 \\ u & 0,196 \\ \delta & 0,509 \end{cases}$	$\begin{cases} — \\ — \\ — \end{cases}$	$\begin{cases} — \\ — \\ — \end{cases}$	$\begin{cases} — \\ — \\ — \end{cases}$	$\begin{cases} — \\ — \\ — \end{cases}$
Ca.	$\begin{cases} c & 0,275 \\ u & 0,095 \\ \delta & 0,309 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,137) \\ 0,070 \\ 0,484 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,137) \\ 0,055 \\ 0,381 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,137) \\ 0,053 \\ 0,367 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,068) \\ 0,036 \\ 0,515 \end{cases}$
Mg.	$\begin{cases} c & 0,390 \\ u & 0,142 \\ \delta & 0,326 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,195) \\ 0,089 \\ 0,433 \end{cases}$	$\begin{cases} — \\ — \\ — \end{cases}$	$\begin{cases} (0,195) \\ 0,079 \\ 0,384 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,097) \\ 0,042 \\ 0,422 \end{cases}$
P.	$\begin{cases} c & 1,674 \\ u & 0,194 \\ \delta & 0,104 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,837) \\ 0,111 \\ 0,125 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,837) \\ 0,098 \\ 0,111 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,837) \\ 0,107 \\ 0,121 \end{cases}$	$\begin{cases} (0,418) \\ 0,052 \\ 0,121 \end{cases}$
Cl.	$\begin{cases} c & 1,136 \\ u & 1,290 \\ \delta & (1,02) \end{cases}$	$\begin{cases} (0,568) \\ 0,619 \\ (1,03) \end{cases}$	$\begin{cases} (0,568) \\ 0,608 \\ (1,01) \end{cases}$	$\begin{cases} (0,568) \\ 0,619 \\ (1,03) \end{cases}$	$\begin{cases} (0,284) \\ 0,298 \\ (1,02) \end{cases}$

qui agit le plus énergiquement dans ce sens. Comme on s'en aperçoit en comparant les expériences XII et XIII sur du jaune d'œuf de Poule, cette influence est surtout manifeste pour le calcium. Dans la première de ces expériences, nous nous sommes servis d'une solution de Li_2SO_4 pour procéder à la dilution, tandis que dans la seconde nous avons employé

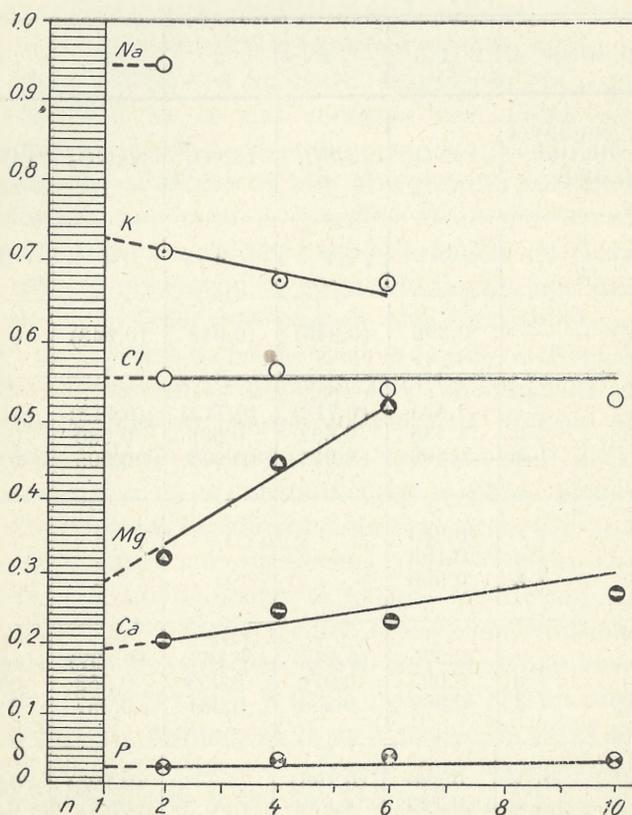


Diagramme représentant le rapport entre le degré de dilution (n) du jaune d'œuf de *Gallus domesticus* L et le quotient de répartition (δ) du potassium, du sodium, du calcium, du magnésium, du phosphore et du chlore, dans les mélanges d'ooplasmé. D'après les données de l'expérience XIII.

une solution de LiNO_3 . Par contre, ainsi que le montrent les expériences sur des œufs de truite (tableau V), nous n'avons réussi à découvrir aucune différence notable entre l'action de LiNO_3 et celle de NaNO_3 .

L'analyse plus approfondie de ces phénomènes nous apprend

qu'entre le degré de dilution (n) et la valeur du quotient de répartition (δ), on observe en général un rapport régulier. Le diagramme ci-dessus, qui représente les résultats de l'expérience XIII (tableau IV) exécutée sur du jaune d'œuf de poule, en employant à la dilution une solution de nitrate de lithium, illustre ce rapport. Dans ce diagramme, l'axe des abscisses correspond aux valeurs de n , tandis que sur l'axe des ordonnées nous avons porté les valeurs numériques de δ .

En effet, notre diagramme nous apprend que les valeurs de δ , trouvées pour le potassium, le calcium, le magnésium et le phosphore, représentent une fonction du degré de dilution essentiellement rectiligne. En supposant que le même rapport soit également valable pour les dilutions faibles ⁽¹⁾ se rapprochant de l'unité, nous pouvons considérer les valeurs initiales des quotients δ comme points d'intersection des courbes avec l'axe des abscisses, lorsque $n = 1$.

Nous avons procédé à l'extrapolation de ces valeurs initiales qui caractérisent la répartition des électrolytes dans le cytoplasme, soit par la méthode graphique, soit en calculant δ_0 d'après l'équation de la ligne droite :

$$\frac{n_1 - 1}{\delta_1 - \delta_0} = \frac{n_x - n_1}{\delta_x - \delta_1}$$

En faisant subir à cette équation les transformations nécessaires, nous obtenons :

(1) Ce n'est qu'une seule fois que nous pûmes préparer des liquides ultrafiltrés avec de l'ooplasmе non diluée. Nous avons exécuté cette expérience avec des œufs de *Labrax lupus* Cuv. (un Téléostéen marin), pendant les premiers stades de segmentation de ceux-ci. Les valeurs mentionnées de δ , pour le calcium et le magnésium dans l'ooplasmе ($n_1 = 1$) et dans un mélange de celui-ci, dilué dans la proportion de 1 : 2 ($n_1 = 2$) :

$n_0 = 1$	$n_1 = 2$
δ_0	δ_1
Ca 0,169.	0,216
Mg 0,380.	0,422

sont la preuve qu'également dans les mélanges peu dilués d'ooplasmе le caractère des changements observés dans la répartition des électrolytes est le même.

$$(VII) \quad \hat{z}_0 = \frac{(n_x - 1) \hat{z}_1 - (n_1 - 1) \hat{z}_x}{n_x - n_1}$$

Cette formule nous permet de calculer les valeurs \hat{z}_0 (le cas échéant comme moyenne d'une série de mélanges), autrement dit, de trouver le rapport numérique entre la quantité dissoute du corps cherché et la teneur globale du cytoplasme en celui-ci, du moment que nous connaissons les valeurs $\hat{z}_1, \hat{z}_2 \dots \hat{z}_x$ et $n_1, n_2 \dots n_x$.

Dans l'expérience XIII (v. le tableau IV et le diagramme), exécutée sur du jaune d'œuf de poule, les valeurs de \hat{z}_0 calculées d'après la formule (7) pour six composants analysés, étaient les suivantes :

K.....	0,722	Mg.....	0,295
Na.....	0,942	Cl.....	0,555
Ca.....	0,093	P.....	0,025

Ces valeurs indiquent que les corps en question se combinent à différents degrés avec les substances qui constituent la phase colloïdale du cytoplasme.

LA CONCENTRATION DES ÉLECTROLYTES DANS LES DEUX PHASES DU CYTOPLASME

Dans les chapitres qui précèdent, nous avons établi la façon de procéder en vue de déterminer deux valeurs importantes qui caractérisent l'état de répartition des électrolytes dans le cytoplasme. Il s'agissait en effet d'évaluer le volume du liquide intermicellaire (d_0), ainsi que de trouver la valeur du quotient de répartition (\hat{z}_0). Par le fait de connaître ces deux valeurs, nous pouvons établir la concentration des substances étudiées dans l'une et l'autre phase, si nous connaissons en plus leur concentration totale dans le cytoplasme (c_0), d'après les analyses des cendres ($c_0 = c_x n_x$).

Nous déduisons alors la concentration des corps étudiés dans le liquide intermicellaire du cytoplasme (u_0) d'après la formule :

$$(VIII) \quad u_0 = \frac{c_0 \hat{z}_0}{d_0}$$

et nous calculons la concentration de mêmes corps dans la phase colloïdale (k_o) d'après l'équation :

$$(IX) \quad k_o = \frac{c_o(1 - \delta_o)}{1 - d_o}$$

en exprimant u_o , k_o , c_o en milligrammes pour 1 centimètre cube, et d_o en fractions de centimètre cube.

TABLEAU VI

Concentration des composants minéraux dans le liquide intermicellaire du jaune d'œufs de Gallus domesticus L.

c_o — concentration des composants dans l'ooplasmе (mgr./1 cc.) ;
 δ_o — quotient de leur répartition ; u_o — concentration des composants dans le liquide intermicellaire de l'ooplasmе (mgr./1 cc.).

N° de l'ex- périence	XII			XIII		
	0,549 cm ³			0,289 cm ³		
d_o	c_o	δ_o	u_o	c_o	δ_o	u_o
Compo- sants :	mgr.		mgr.	mgr.		mgr.
K	2,246	0,637	2,61	1,580	0,722	3,95
Na	0,249	0,953	0,43	0,200	0,942	0,65
Ca	1,342	0,131	0,32	1,722	0,093	0,55
Mg	0,212	0,519	0,20	0,216	0,295	0,22
Cl	—	—	—	2,844	0,555	5,46
P	4,281	0,027	0,21	3,770	0,025	0,33

Le tableau VI illustre le degré de concordance des déterminations u_o , que nous avons trouvées en appliquant cette formule ; nous y avons réuni les résultats des deux expériences que nous avons exécutées sur du jaune d'œuf de poule.

On trouve, dans ce tableau, les nombres relatifs à la concentration du potassium, du sodium, du magnésium, du chlore et du phosphore dans le liquide intermicellaire des œufs (u_o).

Les données numériques correspondant à chacun de ces composants fournissent la preuve que les résultats des deux séries ne diffèrent qu'en ce qui concerne la concentration des électrolytes ; celle-ci est, en effet, supérieure d'à peu près

50 p. 100 dans le liquide intermicellaire des œufs étudiés dans l'expérience XIII, phénomène probablement en rapport avec la valeur plus petite de d_0 qui, dans cette épreuve, ne s'élève qu'à 0,289 centimètres cubes. En revanche, quoique dans les deux séries les analyses chimiques aient révélé de très fortes différences en ce qui concerne la composition des cendres de l'ooplasmе (c_0), ainsi que le degré dans lequel les différents électrolytes s'unissent aux colloïdes, la composition minérale du liquide intermicellaire n'en est pas moins très rapprochée dans les deux cas étudiés.

C'est ce qui résulte de la comparaison des deux séries suivantes de chiffres :

	<u>K</u>	<u>Na</u>	<u>Ca</u>	<u>Mg</u>	<u>P</u>
XII.	100	16	12	8	8
XIII.	100	17	14	6	8

Ces chiffres expriment les quantités relatives, calculées par rapport aux 100 grammes de potassium, des cinq composants dissous dans le liquide intermicellaire du jaune d'œuf. Nous voyons que la concordance de ces chiffres est suffisante.

RÉSUMÉ

Ce sont les difficultés qu'on doit surmonter lorsqu'on se propose de séparer la phase aqueuse du cytoplasme de la phase dispersée de celui-ci, qui ont été le point de départ de nos présentes recherches. Les fortes quantités de substances colloïdales que contient le cytoplasme nous permettent de comprendre pourquoi la méthode d'ultrafiltration ne mène pas toujours au but. En effet, ce procédé ne donne des résultats satisfaisants qu'après avoir dilué le cytoplasme avec de l'eau ou des solutions aqueuses de sels neutres. La méthode de dialyse à compensation n'aboutit également à des résultats exacts que pour le cytoplasme dilué.

Cette difficulté, ainsi que le désir d'élucider la question relative à la répartition des électrolytes dans le cytoplasme, nous firent entreprendre des recherches sur l'influence qu'exerçait la dilution sur le rapport des électrolytes envers

les deux phases de la cellule. En nous livrant à ces investigations, nous avons supposé qu'après avoir constaté une relation régulière entre la dilution du cytoplasme et l'adsorption des électrolytes par la phase dispersée, nous pourrions fixer la composition minérale du liquide intermicellaire et de la phase dispersée dans notre matériel d'étude.

A cet effet, nous avons entrepris une série d'expériences, au cours desquelles nous avons déterminé la concentration de certains composants minéraux (K, Na, Ca, Mg, Cl, P) dans les liquides ultrafiltrés et dans les cendres des mélanges, que nous avons préparés, en diluant le cytoplasme de cellules ovulaires de quelques espèces d'animaux avec des solutions isosmotiques de sels neutres (LiNO_3 , Li_2SO_4 , NaNO_3).

Les premières expériences suffirent à nous apprendre que le chlore représentait le composant de l'ooplasmе, dont la fraction dialysable était presque indépendante du degré de dilution. Nous nous sommes appuyés sur cette constatation pour calculer le volume du liquide intermicellaire dans l'ooplasmе (équation V).

Les ions de potassium se comportent d'une façon analogue à celle qui caractérise le chlore. Par contre, les cations bivalents, le calcium et le magnésium, ainsi que les anions des phosphates, se comportent d'une manière différente : formant avec les colloïdes de la cellule des composés moins stables et facilement dissociables, ils passent de la phase colloïdale dans le liquide intermicellaire des mélanges. L'analyse quantitative appliquée à ces phénomènes a permis de constater qu'entre le degré de dilution de l'ooplasmе et les variations observées dans la répartition des substances étudiées il existait un rapport proportionnel. Cette constatation donne le moyen de trouver, par voie d'extrapolation, les valeurs initiales, caractéristiques pour la répartition des électrolytes dans le cytoplasme (équation VI) et de connaître leur concentration dans le liquide intermicellaire de la cellule (équation VIII).

BIBLIOGRAPHIE

- ARON (H.) UND GRALKA (R.). — Die anorganische Bestandteile des Tierkörpers. *Handb. d. Bioch. d. Menschen u. d. Tiere*, 1924, Bd. I, p. 1.
- AUSBERGER (A.). — Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Ein Beitrag zur Frage der Ionenbindung in Blutserum. *Erg. d. Physiol.*, 1925, Bd. XXIV, p. 618.
- BIALASZEWICZ (K.). — Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibienembryonen. *Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie*, 1908, p. 783.
- BIALASZEWICZ (K.). — Ueber das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen. *Arch. f. Entw. Mech.* 1912, Bd. XXXIV, p. 489.
- BIALASZEWICZ (K.). — L'influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons. *Trav. Instit. Nencki (Varsovie)*, 1921, vol. I, p. 1.
- BIALASZEWICZ (K.). — Sur la composition minérale des œufs. *Trad. Instit. Nencki (Varsovie)*, 1926, vol. III, n° 52.
- BIALASZEWICZ (K.). — O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów. *Trav. Instit. Nencki (Varsovie)*, 1927, vol. IV, pp. 1-26.
- BIALASZEWICZ (K.). — Contributions à l'étude de la composition minérale des cellules-œufs. *Publicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*, 1928.
- BALINT (M.). — Jodometrische Mikrobestimmung des Natriums. *Bioch. Zeitschr.*, 1924, Bd. CL, p. 424.
- BELL (R.) AND DOISY (E. A.). — Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1920, vol. XXIV, p. 55.
- BRIGGS (A. P.) — A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. of biol. Chem.*, 1922, vol. LIII, p. 13.
- BURIAN (R.). — Ueber Ultrafiltration von Eiweiss-salz-Gemischen. *Arch. di Fisiol.*, 1909, vol. VII, p. 421.
- BURIAN (R.). — Function der Nierenglomeruli und Ultrafiltration. *Arch. f. ges. Physiol.*, 1910, Bd. CXXXVI, p. 741.
- COLLIP (J.-B.). — Effect of dilution on the osmotic pressure and the electrical conductivity of whole blood, blood serum and corpuscles. *Journ. of biol. Chem.*, 1920, XLII, p. 213.
- EGE (R.). — Die Verteilung der Glucose zwischen Plasma und roten Blutkörperchen. *Bioch. Zeitschr.*, 1920, Bd. CXI, p. 189.
- EGE (R.). — Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den vollen Blutkörperchen und der äusseren Flüssigkeit zu erklären? *Bioch. Zeitschr.*, 1921, Bd. CXIV, p. 88.
- EGE (R.). — Untersuchungen über das Volumen der Blutkörperchen

- in gegenseitig osmotischen Lösungen. *Bioch. Zeitschr.*, 1921, Bd. CXV, p. 109.
- EGE (R.). — Der osmotische Druck in Blutkörperchen und Plasma. *Bioch. Zeitschr.*, 1921, Bd. CXV, p. 175.
- FAHR (G.). — Ueber den Natriumgehalt der Skelettmuskeln des Frosches. *Zeitschr. f. Biol.*, 1908, Bd. LII, p. 72.
- FREDERICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.*, 1901, p. 428.
- FREDERICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine et des sels. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.*, 1902, p. 437.
- FRIDERICIA (L. S.). — Exchange of chloride ions and carbon dioxide between blood corpuscles and blood plasma. *Journ. of biol. Chem.*, 1920, vol. XLII, p. 245.
- HAMBURGER (H. J.). — Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. I. Wiesbaden, 1902.
- HECHT (G.). — Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. *Bioch. Zeitschr.*, 1923, Bd. CXLIII, p. 342.
- JOFFE (J.) and POULTON (E. P.). — The partition of CO₂ between plasma and corpuscles in oxygenated and reduced blood. *Journ. of Physiol.*, 1920, vol. LIV, p. 129.
- KRAMER (B.) and TISDALL (F. F.). — A simple method for the determination of sodium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol. XLVI, p. 467.
- KRAMER (B.) and TISDALL (F. F.). — A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol. XLVI, p. 339.
- KRAMER (B.) and TISDALL (F. F.). — The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol. XLVIII, p. 223.
- KRAMER (B.) and TISDALL (F. F.). — A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol. XLVII, p. 475.
- LUNDGARD (Ch.) and HOLBÖLL (S. A.). — Untersuchungen über die Verteilung einiger Nicht-Elektrolyte auf Blutkörperchen und Plasma des Menschenblutes. *Bioch. Zeitschr.*, 1926, vol. CLXXIII, p. 269.
- POLANYI (M.). — Studien über Leitfähigkeitserniedrigung und Adsorption durch hyophile Kolloide. *Bioch. Zeitschr.*, 1920, Bd. CIV, p. 237.
- RONA (P.). — Ueber das Verhalten des Chlors im Serum. *Bioch. Zeitschr.*, 1910, Bd. XXIX, p. 501.
- RONA (P.) und GYÖRGY (P.). — Ueber das Natrium- und Carbonation im Serum V. Beitrag zur Frage des « nichtdiffusiblen Alkalis » im Serum. *Bioch. Zeitschr.*, Bd. XLVIII, p. 278.

- VAN SLYKE (D. D.), HASTINGS (A. B.), HEIDELBERGER (M.) and NEILL (J.). — Studies of gas and electrolyte equilibria in the blood. III. The alkali-binding values of oxyhemoglobine and reduced hemoglobine. *Journ. of biol. Chem.*, 1922, vol. LIV, p. 481.
- VAN SLYKE (D. D.), HASTINGS (A. B.) and NEILL (J.). — IV. The effect of oxygenation and reduction on the bicarbonate content and buffer value of blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1922, vol. LIV, p. 507.
- VAN SLYKE (D. D.), WU (H.) and MC. LEAN (F. C.). — V. Factors controlling the electrolyte and water distribution in the blood. *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVI, p. 765.
- SÖRENSEN (S. P. L.). — Studies on proteins. *Compt. Rend. Labor. Carlsberg*, 1915-1917, vol. XII.
- TISDALL (F. F.) and KRAMER (B.). — Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol. XLVIII, p. 1.
- URANO (F.). — Neue Versuche über die Salze des Muskels. *Zeitschr. f. Biol.*, 1908, vol. L, p. 212.
- DE WAARD (D. J.). — Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. *Bioch. Zeitschr.*, 1919, Bd. XCVII, p. 176.
- WARBURG (E.). — Theory of the Henderson-Hasselbalch-Equation. *Bioch. Journ.*, 1922, vol. XVI, p. 153.
- WHITEHORN (J. C.). — A system of blood analysis. Supplement II. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. *Journ. of biol. Chem.*, 1921, vol XLV, p. 449.
- WLADIMIROFF (G. E.). — Einige physikalisch-chemische Veränderungen des Eiereiweisses der sich entwickelnder Hühnereier. *Bioch. Zeitschr.*, 1926, vol. CLXXVII, p. 280.
- ZSIGMONDY (R.) und BACHMANN (W.). — Ueber neue Filter. *Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem.*, 1918, vol. CIII, p. 1.

