

Partie 2 : Réactifs pour la macrochimie et réactifs mixtes.

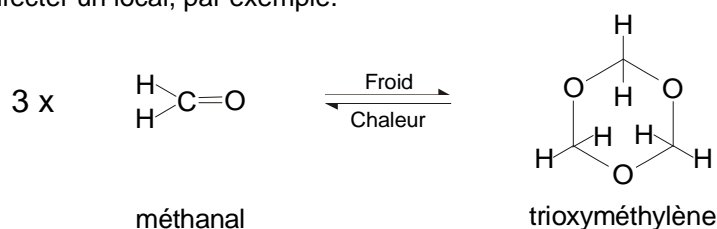
Didier Baar¹

La description de chaque réactif est structurée selon quatre rubriques. D'abord, les caractéristiques les plus remarquables du produit (c'est essentiellement ici que des notions de chimie sont les bienvenues) sont exposées dans l'introduction. Celle-ci est suivie d'un point important, consacré aux utilisations mycologiques qui sont faites du réactif. La troisième rubrique met en exergue les dangers que présentent le réactif ou ses composants, tandis que dans la quatrième, des conseils relatifs à la conservation sont prodigués.

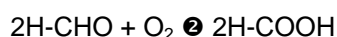
3. Réactifs pour la macrochimie.

3.1. Formol pur.

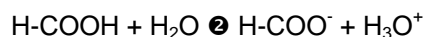
Ce que l'on appelle communément « formol » est en réalité une solution concentrée d'un gaz : le méthanal, ou aldéhyde formique, ou encore formaldéhyde. Le méthanal (H-CHO) est le plus simple aldéhyde (fonction -CHO) possible, car il ne possède qu'un seul atome de carbone. Il a une odeur peu marquée, mais fortement irritante et a tendance, en solution aqueuse, à polymériser², ce qui se traduit par l'apparition de fines lamelles blanches au fond des vieilles solutions. Ces cristaux sont en grande partie constitués de trioxyméthylène - (CH₂O)₃ -, qui résulte de l'assemblage de trois molécules de méthanal en un cycle dont les angles, au nombre de six, sont alternativement occupés par un atome d'oxygène et un atome de carbone. Il est à noter que le trioxyméthylène se décompose en méthanal à la chaleur ; c'était anciennement le moyen employé dans les hôpitaux pour obtenir du méthanal gazeux afin de désinfecter un local, par exemple.



La solution commerciale contient généralement 35-40% de méthanal et est habituellement stabilisée par 10-15% de méthanol (CH₃OH). Le méthanal, au fil du temps, a tendance à s'oxyder en acide formique, ou méthanoïque :



L'acide formique (H-COOH) formé se dissocie suivant l'équilibre :



On voit que des ions hydronium (H₃O⁺), responsables du caractère acide, sont libérés. Le pK_a (constante d'acidité) du couple H-COOH/H-COO⁻ est de 3,8 ; l'acide formique est un acide faible, mais suffisant cependant pour donner à la solution de méthanal un caractère sensiblement acide.

• UTILISATION :

Le formol est utilisé dans plusieurs groupes de champignons, et notamment dans la détermination des espèces au sein du genre *Leccinum*. Il provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration rougeâtre sur la chair de *Leccinum scabrum* (d'après BATAILLE, 1969). D'autre part, le formol entre dans la composition de différents réactifs, et, entre autres, du sulfoformol (voir paragraphe 3.6), qui est un réactif sulfoaldéhydique qu'on peut utiliser non seulement en macrochimie, mais aussi en microscopie, quoi que cette dernière application du sulfoformol soit tombée en désuétude depuis un certain nombre d'années.

¹ Didier Baar, décédé accidentellement le 14 octobre 2001, à l'âge de 23 ans.

² La polymérisation est une classe de réactions chimiques qui, d'une manière générale, conduisent à la formation de molécules immenses (les polymères) à partir d'un grand nombre (souvent des milliers) de petites molécules (les monomères), le plus souvent toutes semblables, ou alors de deux types différents. Il existe toutefois de petits polymères, que l'on appelle des oligomères s'ils résultent de l'association de moins d'une dizaine de monomères. Le trioxyméthylène, qui provient de trois molécules de méthanal seulement, est un oligomère.

- DANGERS :

Le méthanal est un gaz fortement irritant, non seulement pour les voies respiratoires, mais également pour les yeux. D'autre part, il est toxique et même corrosif. Il convient donc d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux et, surtout, d'éviter de respirer les vapeurs.

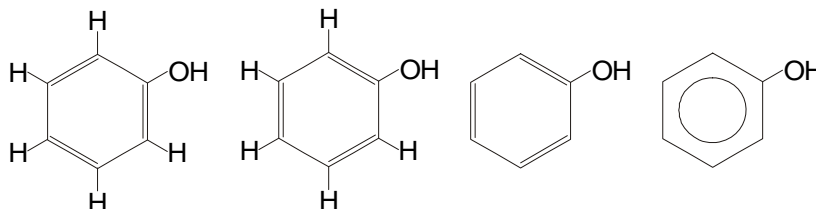
- CONSERVATION :

Le méthanal, cela a déjà été dit, polymérise à la longue en trioxyméthylène. Cette polymérisation est accélérée par le froid et, dès lors, il faut conserver le formol à température ordinaire, et non pas au réfrigérateur, comme il serait préférable de le faire pour de nombreux autres produits³. Pour éviter au méthanal, qui est un gaz, de s'échapper de la solution (dont la concentration diminuerait si cela arrivait), il est important de garder le formol dans un flacon hermétiquement fermé. Cette précaution permet, de plus, de limiter l'oxydation du méthanal en acide formique par l'oxygène atmosphérique.

3.2. Phénol à 3% dans l'eau bidistillée.

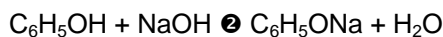
Le phénol (C₆H₅OH) est un des premiers termes de la grande famille des composés aromatiques, qui sont des molécules organiques (c'est-à-dire contenant du carbone), cycliques, et dont l'odeur est souvent assez remarquable, d'où leur nom. Sa structure de base est en effet un cycle à six atomes de carbone liés entre eux alternativement par une liaison simple et par une liaison double : le phénol dérive du benzène. Chacun des atomes de carbone supporte, de plus, un atome d'hydrogène. Dans le phénol, l'atome d'hydrogène d'un des six carbones du cycle benzénique a été substitué par un groupement hydroxyle (-OH). Ce groupement caractérise, en chimie aliphatique (chimie des composés organiques linéaires), les alcools. Les phénols sont donc les pendants aromatiques des alcools ; ils ont des propriétés communes, mais différent néanmoins par de nombreux caractères physico-chimiques.

Le phénol se présente sous forme de petits cristaux blancs, ou légèrement roses s'il est quelque peu impur (même très peu) ; son odeur est forte, caractéristique. Il est assez soluble dans l'eau (à peu près 6%), et est hygroscopique, c'est-à-dire qu'il a tendance à absorber la vapeur d'eau de l'atmosphère.



Différentes manières de représenter le phénol.

Anciennement, on désignait le phénol sous le nom d'acide phénique, parce que, mis en présence d'une base forte, il a un comportement semblable à celui des acides (les phénols ont un caractère acide plus marqué que les alcools). Il est en effet, dans ces conditions, capable de former des sels, que l'on appelle des phénolates (ou phénates). Par exemple, avec la soude (NaOH), qui est une base forte, le phénol donne du phénolate de sodium (C₆H₅ONa) :



Le pKa du couple C₆H₅OH/C₆H₅O⁻ est de 9,9 : le phénol est un acide très faible.

- UTILISATION :

En solution aqueuse simple, le phénol n'est utilisé qu'en macrochimie. Il provoque en général, sur la chair des champignons, des réactions brunâtres et lentes. L'absence de réaction est, avec le phénol, au moins aussi intéressante que la réaction elle-même, qui est trop banale. Le phénol provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration rouge vineux sur le pied d'*Amanita crocea*

³ Il est préférable, dans pratiquement tous les cas, de conserver les produits chimiques dans des flacons en verre brun, qui les protègent des rayons ultraviolets. Ces derniers ont en effet la propriété de détruire les molécules organiques, et particulièrement celles qui comptent beaucoup de liaisons doubles (comme les colorants, par exemple). Le verre est l'un des matériaux les plus résistants qui soient au point de vue chimique. Les flacons seront, à quelques exceptions près, conservés à l'abri de la lumière, et dans un endroit frais.

(d'après Roland HANON, communication orale). Par ailleurs, le phénol entre dans la composition de plusieurs autres réactifs macrochimiques, tels que la phénolaniline. En microscopie, on utilise le phénol en association avec d'autres produits (acide lactique, hydrate de chloral, glycérine, etc.), et parfois avec des colorants, comme ingrédient dans de nombreux milieux de montage de grande qualité (lactophénol, chloral-lactophénol, chloral-phénol, bleu coton au lactophénol, etc.).

- DANGERS :

Le phénol est corrosif et toxique. Pur, c'est un produit dangereux dont il faut se méfier. En solution à 3%, les dangers sont plus réduits, mais il est cependant préférable d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux, et d'éviter de respirer les vapeurs.

- CONSERVATION :

La conservation du phénol, en solution ou non, exige certaines précautions. En effet, la présence de trois liaisons doubles dans la molécule de phénol la rend sensible aux radiations ultraviolettes. Il convient donc de conserver le phénol à l'abri de la lumière. D'autre part, l'exposition à l'air doit être évitée pour deux raisons : d'abord le phénol est hygroscopique (mais cela n'est vrai que pour les cristaux), et ensuite l'oxygène de l'air le détruit. Aussi, veiller à ce que le flacon soit bien fermé.

3.3. Résine de gaïac à 10% dans l'alcool à 80°.

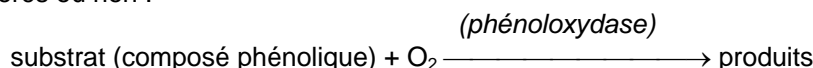
La base de ce réactif est une résine extraite d'arbres d'origine américaine : le *Guajacum officinale* et le *Guajacum sanctum*. Ces deux espèces font partie de la famille des *Zygophyllaceae*. La résine est un mélange complexe contenant principalement (à raison d'environ 70%) les acides α - et β -guaïaconique, mais aussi de l'acide guaïacinique, de la vanilline, etc. On utilisait autrefois la solution de résine de gaïac dans différents tests biochimiques permettant de déceler la présence de sang dans les fèces.

La résine de gaïac du commerce peut être plus ou moins pure et se présenter sous différentes formes : poudre brune homogène, masses vitreuses rouge-noires ou blocs brunâtres. Elle contient même souvent des restes de bois (fibres, morceaux d'écorce, etc.), qui ne nuisent en rien à la qualité du réactif. Il est d'ailleurs possible d'utiliser le bois de gaïac lui-même, mais l'inconvénient est alors relatif au dosage. La nomenclature pharmaceutique voudrait qu'on appelle soluté le réactif obtenu à partir de la résine pure, et teinture celui qu'on obtient par macération du bois dans l'alcool.

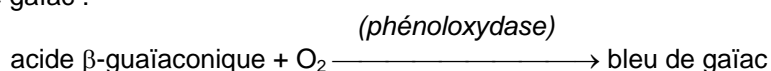
- UTILISATION :

La solution alcoolique de résine de gaïac est l'un des réactifs macrochimiques les plus utilisés. C'est sans doute celui qui donne les réactions les plus spectaculaires. D'une manière générale, la teinte obtenue est bleue ou turquoise, mais ce qui importe ici est la vitesse et l'intensité de la réaction. Il arrive qu'elle n'ait pas lieu du tout, ou qu'elle donne une coloration jaunâtre. La résine de gaïac à 10% dans l'alcool à 80° provoque, par exemple, l'apparition rapide d'une coloration bleue intense sur le stipe de *Russula ochroleuca*.

D'un point de vue biochimique, la résine de gaïac met en évidence les phénoloxydases. Celles-ci sont des enzymes qui ont la propriété d'oxyder les composés phénoliques grâce à l'oxygène de l'air (O_2). Si on soumet à l'action d'une phénoloxydase (d'origine fongique) un composé phénolique (dit substrat vis-à-vis de l'enzyme) qui lui est adapté, alors on obtient toujours des produits, qui peuvent être colorés ou non :



Si les produits de la réaction sont colorés, alors la substance phénolique est susceptible d'être utilisée comme réactif macrochimique, puisque son application sur la chair d'un champignon qui possède une phénoloxydase adaptée provoquera l'apparition d'une coloration (qui est donc celle des produits de l'oxydation). Dans la résine de gaïac, le composé phénolique responsable de la réaction est l'acide β -guaïaconique, qui, sous l'action des phénoloxydases fongiques, donne un produit coloré en bleu, le bleu de gaïac :



Il existe de nombreux autres réactifs des phénoloxydases, qui donnent des produits diversement colorés : amidopyrine, gaïacol, α -naphtol, etc.

- DANGERS :

L'alcool que contient le réactif est inflammable, mais c'est là le seul danger que présente le soluté de résine de gaïac.

- CONSERVATION :

Il est une précaution à prendre pour que la teinture de gaïac garde son efficacité le plus longtemps possible, c'est de la conserver dans un flacon hermétiquement fermé. En effet, si la réaction d'oxydation de l'acide β -guaïaconique se fait très rapidement grâce à la catalyse par les phénoloxydases des champignons, elle se fait aussi, quoique beaucoup plus lentement, sous l'action directe de l'oxygène de l'air, sans aucune catalyse. D'autre part, l'alcool est volatil.

L'efficacité du réactif peut être évaluée en l'essayant sur *Russula ochroleuca* : la réaction bleue doit être immédiate et très intense. Roland HANON (communication orale), conseille de plus un essai sur *Russula fellea* qui, au contraire, doit donner une réaction faible et très lente. Ce dernier test, très précieux, permet de s'assurer que la concentration du réactif en résine de gaïac n'est pas trop élevée. Dans tous les cas, il est préférable de renouveler la solution tous les ans.

3.4. Soude à 10% dans l'eau bidistillée.

« Soude » est le terme courant pour désigner l'hydroxyde de sodium (NaOH), qui se présente sous forme de pastilles blanches. La soude, tout comme la potasse d'ailleurs, est fortement hygroscopique. Exposées à l'air, les pastilles de soude, après un certain temps, deviennent liquides tant elles ont capté de vapeur d'eau.

En solution aqueuse, l'hydroxyde de sodium se dissocie selon l'équilibre suivant :



On voit que des ions hydroxyde (OH^-), responsables du caractère basique, sont libérés. Le pKa du couple $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ est de 15,7 : la soude est une base forte.

- UTILISATION :

La soude (NaOH) à 10% et la potasse (KOH) à 10% (voir paragraphe 4.3) sont des réactifs très proches, et les réactions qu'ils provoquent sont souvent assez similaires. Il est néanmoins des cas où l'une doit être utilisée et pas l'autre. La soude est employée dans plusieurs genres de champignons, mais c'est sans doute lors de la détermination des impénétrables cortinaires qu'on y a le plus souvent recours. La soude provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration noire sur le stipe de *Cortinarius semisanguineus* (d'après BATAILLE, 1969). Certains auteurs conseillent d'employer la soude à une concentration de 40% plutôt que de 10%. C'est pourtant la solution à 10% qui donne les résultats les plus nets, car la solution à 40%, lors des réactions, digère autant la chair des champignons qu'elle ne la colore. Enfin, la soude est utilisée à différentes concentrations (généralement 10%, 5% ou 2%) en microscopie, en tant que succédané de la potasse. C'est un assez bon milieu de montage.

- DANGERS :

Les propriétés basiques de la soude la rendent corrosive, malgré la dilution importante. Il convient donc d'éviter tout contact avec la peau, et surtout avec les yeux.

- CONSERVATION :

La seule règle à observer pour que la soude reste efficace le plus longtemps possible est de la conserver dans un flacon bien fermé, qu'on ouvre le moins souvent et le moins longtemps possible. En effet, le CO_2 atmosphérique réagit avec la soude pour donner du carbonate de sodium (Na_2CO_3), qui précipite au pH alcalin de la solution, ce qui se traduit par l'apparition de cristaux brillants.

3.5. Sulfate de fer, cristal.

Il existe deux « variétés » de sulfate de fer : le sulfate ferreux, ou sulfate de fer (II), dont la formule est FeSO_4 , et le sulfate de fer (III), ou sulfate ferrique, qui répond à la formule $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. C'est l'état d'oxydation⁴ de l'atome de fer qui est responsable des différentes variétés. Dans le FeSO_4 , le fer

⁴ L'état (ou étage, ou nombre) d'oxydation d'un atome correspond, *grosso modo*, au nombre d'électrons qu'il a perdus ou gagnés lors de sa transformation (réversible !) en ion. L'atome neutre a toujours un état d'oxydation égal à zéro.

est à l'état +2 (Fe^{2+} ; ion ferreux), c'est-à-dire qu'il a perdu deux électrons, tandis que dans le $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, il en a perdu trois ; le fer est alors à l'état +3 (Fe^{3+} ; ion ferrique).

C'est le sulfate ferreux que l'on utilise en mycologie. Celui-ci peut être soit anhydre (libre de toute molécule d'eau), soit hydraté. C'est la forme hydratée, que l'on appelle aussi cristallisée, qui est la plus employée. En effet chaque molécule de sulfate de fer (II), en cristallisant, capture sept molécules d'eau : on parle de sulfate ferreux heptahydraté ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Ce corps est susceptible, avec le temps, de perdre ses molécules d'eau, et donc de se déshydrater : c'est l'efflorescence des cristaux.

Le sulfate ferreux se présente sous forme de petits cristaux verts à l'état hydraté, et d'une poudre blanchâtre à l'état anhydre. Le sulfate ferrique, quant à lui, a une couleur rouille. Le sulfate ferreux s'ionise en solution aqueuse selon l'équilibre suivant :



Et le Fe^{2+} (ion ferreux) s'oxyde très facilement en ion ferrique :



C'est pour cela que les solutions de sulfate ferreux vivent en quelques temps du vert à rouille. C'est pour cela également que l'on préfère utiliser le cristal de sulfate ferreux, qui s'oxyde beaucoup moins rapidement que la solution.

- UTILISATION :

Pour l'utilisation, il suffit de frotter le cristal sur la partie du champignon à tester. Certains auteurs conseillent l'utilisation de la solution à 10% de sulfate de fer. Les réactions que provoque cette solution sont généralement beaucoup plus rapides et plus vives que celles que provoque le cristal, mais la solution ne se conserve que peu de temps ; c'est pourquoi, d'une manière générale, le cristal lui est préféré. Le sulfate de fer est surtout employé lors de la détermination des russules, chez lesquelles il provoque des réactions variées ; par exemple chez *Russula nigricans*, dont la chair vire au vert sombre suite à l'application du sulfate de fer (réaction assez lente).

- DANGERS :

Le cristal de sulfate de fer est vraiment un réactif peu dangereux. Eviter toutefois un contact prolongé avec la peau, en raison de l'acide sulfurique qu'il contient (en très faible quantité), suite à sa préparation.

- CONSERVATION :

L'ion fer II a tendance à s'oxyder, avec le temps, en fer III. C'est pourquoi il faut conserver le cristal de sulfate de fer dans un flacon bien fermé, à l'abri de l'oxygène, de l'humidité et de la lumière. Une autre raison de tenir le flacon hermétiquement fermé est l'efflorescence du cristal : il perd son eau en vieillissant. Il faut donc absolument le garder à l'écart de tout agent desséchant. On peut, pour limiter encore l'oxydation et l'efflorescence du cristal, enduire celui-ci d'une couche d'huile (d'après CHARBONNEL, 1995). De même, les vapeurs ammoniacales lui sont fortement nuisibles. Enfin, le cristal est assez fragile, aussi faut-il éviter les chocs.

3.6. Sulfoformol.

Le sulfoformol est un liquide incolore à l'odeur irritante. Il fait partie de la famille des réactifs sulfoaldéhydiques, qui résultent de la dissolution d'un aldéhyde (fonction -CHO) dans l'acide sulfurique. Le formol (H-CHO) est le plus simple des aldéhydes parce qu'il ne possède qu'un seul atome de carbone. Le benzaldéhyde, l'anisaldéhyde, le pipéronal et la vanilline sont également des aldéhydes, plus complexes. Dissouts dans l'acide sulfurique, ils donnent respectivement le sulfobenzaldéhyde, le sulfoanisaldéhyde, le sulfopipéronal et la sulfovanilline.

L'acide sulfurique (H_2SO_4 ; voir paragraphe 4.2) est un acide fort : le pKa du couple $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HSO}_4^-$ est de -3. Le formol (voir paragraphe 3.1), quant à lui, est en réalité une solution aqueuse concentrée de méthanal, qui est un gaz à température ordinaire. A la longue, le méthanal a tendance à polymériser en trioxyméthylène - $(\text{CH}_2\text{O})_3$ -, ce qui se traduit par l'apparition de fines lamelles blanches au fond des solutions anciennes.

- UTILISATION :

On utilise le sulfoformol pour l'étude de différents genres, et notamment *Lactarius*, *Russula* et *Tricholoma*. Le sulfoformol provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration bleue sur la chair de *Lactarius pergamenus* (d'après MARCHAND, 1980). C'est le plus utilisé des sulfoaldéhydiques pour la

macrochimie. Il a aussi eu quelques applications microscopiques, mais la tendance actuelle, à ce niveau, est en faveur de la sulfovanilline (voir paragraphe 4.1).

• DANGERS :

Le sulfoformol est un réactif dangereux. Il contient de l'acide sulfurique qui, même dilué, reste extrêmement corrosif, et du formol, dont les vapeurs sont irritantes et toxiques. Éviter donc tout contact avec la peau ou les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. Prendre des précautions particulières lors de la préparation de ce réactif, car l'élévation de température due à la dilution de l'acide sulfurique favorise l'évaporation du méthanal. D'autre part, il faut garder présent à l'esprit que la moindre goutte d'acide sulfurique, même sensiblement dilué, qui tombe sur un vêtement, provoque à coup sûr l'apparition d'un trou.

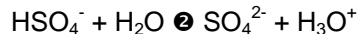
• CONSERVATION :

L'acide sulfurique, même dilué par le formol, reste hygroscopique, c'est-à-dire qu'il a tendance à absorber la vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère. Il convient donc de conserver le flacon bien fermé, et à température ambiante (non pas au réfrigérateur), car la polymérisation du formol est favorisée par le froid. Il est préférable de tenir le sulfoformol à l'écart de toutes vapeurs ammoniacales, avec lesquelles l'acide sulfurique réagit pour donner de l'hydrogénosulfate d'ammonium (NH_4HSO_4), puis du sulfate d'ammonium - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - , ce qui pollue le réactif. Dans tous les cas, il est conseillé de renouveler chaque année ce réactif.

4. Réactifs mixtes.

4.1. Acide sulfurique dilué 2x.

L'acide sulfurique (H_2SO_4) est un liquide dense et épais à température ambiante. C'est un acide biprotique, c'est-à-dire qu'en solution aqueuse, il conduit à la formation de deux ions hydronium (H_3O^+), responsables du caractère acide :



L'acide sulfurique du commerce contient généralement 95-98% de H_2SO_4 . Dilué deux fois, il en contient donc un peu moins de 50%. L'acide sulfurique est un acide fort : le pKa du couple $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HSO}_4^-$ est de -3, tandis que l'ion hydrogénosulfate (HSO_4^-) est un acide plus faible : le pKa du couple $\text{HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}$ est de 2.

• UTILISATION :

L'acide sulfurique est essentiellement utilisé sous forme de sulfovanilline, qui est un réactif aussi bien macrochimique que microscopique. La sulfovanilline, au même titre que le sulfopipéronal, le sulfoformol (voir paragraphe 3.6), le sulfobenzaldéhyde ou le sulfoanisaldéhyde, fait partie des réactifs sulfoaldéhydiques, qui résultent de la dissolution d'un aldéhyde (vanilline, pipéronal, formol, benzaldéhyde ou anisaldéhyde) dans l'acide sulfurique. La sulfovanilline est le plus utilisé des réactifs sulfoaldéhydiques. On la prépare de la manière suivante : dissoudre extemporanément quelques cristaux de vanilline dans une grosse goutte d'acide sulfurique dilué deux fois en mélangeant avec une aiguille en verre. La solution obtenue est jaune clair et s'altère rapidement. Certains auteurs préfèrent préparer la sulfovanilline à partir d'acide sulfurique concentré, plutôt que dilué deux fois.



Au point de vue macrochimique, la sulfovanilline est surtout destinée à l'étude des russules, sur la chair desquelles elle provoque couramment de belles réactions rose-rouge vif (chez *Russula integra*, par exemple, d'après BATAILLE, 1969). L'acide sulfurique est également utilisé pur en macrochimie : concentré (95-98%), il provoque par exemple une réaction lilas-violet pâle sur les lames d'*Amanita phalloides* (d'après CHARBONNEL, 1995) ; il est aussi employé dans d'autres genres. De plus, il entre dans la composition de différents réactifs macrochimiques, tels que la phénolaniline.

Cette photographie, prise au microscope, montre une gléocystide de Russula aeruginea qui a été montée dans la sulfovanilline. Le contenu (d'aspect

granuleux) de cette cystide a bien été mis en évidence par le réactif, alors que la paroi de la cellule demeure incolore, et donc quasiment invisible.

Pour la microscopie, on n'utilise l'acide sulfurique que sous forme de réactifs sulfoaldéhydiques. La sulfovanilline colore en gris ardoise le contenu des laticifères et des cystides (on parle alors de gléocystides) de nombreux lactaires et russules, ce qui permet de les déceler et de les étudier. Ce réactif est très précieux, notamment, pour la recherche des dermatocystides, qui passent facilement inaperçues dans les autres liquides d'observation. On observe également des gléocystides chez certains cortices, tels que *Peniophora* (d'après Jean-Marie PIRLOT, communication orale). On n'utilise pas l'acide sulfurique seul comme milieu de montage parce qu'il détruit les hyphes et donne de très mauvaises préparations.

- DANGERS :

L'acide sulfurique, même dilué, est un réactif extrêmement dangereux car, étant très corrosif, très oxydant et fortement déshydratant, il détruit la plupart des matières organiques. De nombreux plastiques sont attaqués par lui. Il faut donc absolument éviter tout contact avec la peau et, *a fortiori*, avec les yeux ou la bouche. Garder présent à l'esprit que la moindre goutte d'acide sulfurique, même sensiblement dilué, qui tombe sur un vêtement, provoque à coup sûr l'apparition d'un trou. En ce qui concerne la dilution, il faut savoir que le mélange de l'acide sulfurique avec l'eau s'accompagne d'un important dégagement de chaleur. Aussi, il existe une règle d'or qu'il faut observer lors de la dilution de l'acide sulfurique : verser l'acide dans l'eau (et par petites quantités, en agitant) et non pas l'inverse ; on risquerait de voir l'eau bouillir et l'acide jaillir de tous côtés. Enfin, il faut éviter de mélanger l'acide sulfurique avec des bases (ammoniaque, soude, potasse), car la réaction pourrait être assez violente.

- CONSERVATION :

L'acide sulfurique doit être conservé dans un flacon en verre, muni d'un bouchon en plastique résistant. Dilué, il reste hygroscopique. Il convient donc de garder le flacon bien fermé. D'autre part, il est préférable de tenir l'acide sulfurique éloigné des vapeurs ammoniacales, avec lesquelles il réagit pour donner de l'hydrogénéosulfate d'ammonium - $\text{NH}_4\text{HSO}_4^-$, puis du sulfate d'ammonium - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4^-$, ce qui le pollue.

4.2. Ammoniaque concentrée.

L'ammoniaque est une solution aqueuse concentrée d'ammoniac (NH_3), qui est un gaz à l'odeur extrêmement irritante. Les solutions commerciales contiennent généralement entre 20 et 30% de ce gaz. L'ammoniac en solution réagit avec l'eau selon l'équilibre suivant :



Et l'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) formé se dissocie comme suit :



On voit qu'il y a libération d'ions hydroxyde (OH^-), qui confèrent à la solution d'ammoniac son caractère basique (au sens d'Arrhénius). Le pKa du couple $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ est de 9,2 seulement : l'ammoniaque est une base faible.

- UTILISATION :

On peut, pour son utilisation en macrochimie, déposer une petite goutte d'ammoniaque sur la partie du champignon à tester, ou bien exposer celle-ci aux vapeurs qui se dégagent du flacon, quoique cette dernière méthode soit moins efficace et moins couramment employée. L'ammoniaque donne, par exemple, une belle réaction rose violacé sur les tubes de *Daedaleopsis confragosa*. On l'utilise également pour l'étude des *Xerocomus*, ainsi que pour de nombreux autres genres.

Du côté de la microscopie, l'ammoniaque concentrée a le pouvoir de ramollir les hyphes de champignons frais et de regonfler les exsiccata. C'est, de plus, le solvant de colorants tels que le rouge Congo ou, anciennement, le vert d'anthracène. L'ammoniaque est très volatile, aussi faut-il en ajouter souvent lors de l'observation d'une préparation microscopique. C'est en général un très bon milieu de montage, mais il faut savoir qu'il dissout certains éléments comme les incrustations acido-résistantes de la cuticule des russules, et qu'il altère quelquefois la couleur des pigments. On l'utilise d'autre part pour l'étude des chrysocystides (cystides dont le contenu vire au jaune sous l'action des bases) dans des genres comme *Hypholoma* ou *Stropharia*, notamment. De même, les cystides de certains *Inocybe* jaunissent dans l'ammoniaque à des degrés divers, ce qui est intéressant pour leur identification (d'après Jean-Marie PIRLOT, communication orale). Enfin, certains auteurs préfèrent

diluer deux fois l'ammoniaque, car son action sur les hyphes est alors moins drastique, et elle peut dès lors être appliquée au montage d'objets plus délicats.

- DANGERS :

L'ammoniaque n'est pas à proprement parler un produit dangereux. Toutefois, étant très volatile, elle libère le gaz ammoniac, qui est fortement irritant. Ses propriétés basiques la rendent corrosive ; donc éviter le contact avec la peau et surtout avec les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. D'autre part, il est bon de savoir que l'ammoniaque, au contact de l'iode, provoque des réactions à caractère explosif.

- CONSERVATION :

Il convient, pour que l'ammoniaque reste efficace le plus longtemps possible, de la conserver dans un petit flacon bien fermé, qu'on ouvre le moins souvent et le moins longtemps possible. Cela pour deux raisons : d'une part l'ammoniac se dégage de la solution, et d'autre part le CO₂ atmosphérique réagit avec l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) pour donner du carbonate d'ammonium (NH₄)₂CO₃, qui précipite au pH alcalin de la solution, ce qui se traduit par l'apparition de cristaux brillants. Ces deux phénomènes ont pour résultat d'abaisser le titre (concentration) de la solution.

4.3. Potasse à 10% dans l'eau bidistillée.

La potasse (KOH), en vérité hydroxyde de potassium, se présente sous forme de pastilles blanches, tout comme la soude. Les propriétés de ces deux corps sont d'ailleurs pratiquement identiques ; c'est pourquoi elles ne seront par reprises ici (se reporter au paragraphe 3.4). Quelques points toutefois différencient ces deux hydroxydes, notamment - c'est évident - l'équilibre de dissociation dans l'eau, qui est le suivant pour la potasse :



Même le pKa de la potasse est identique à celui de la soude. C'est logique puisque, en réalité, c'est le pKa d'un des deux couples de l'eau (couple H₂O/OH⁻) ; il vaut 15,7 : toutes deux sont des bases fortes.

- UTILISATION :

Les utilisations macrochimiques de la potasse sont elles aussi semblables à celles de la soude (voir paragraphe 3.4). La potasse fait par exemple virer au rouge violacé la chair de *Cortinarius violaceus* (d'après BATAILLE, 1969). Certains auteurs préfèrent la solution de potasse à 40% - avec l'inconvénient que l'on sait.

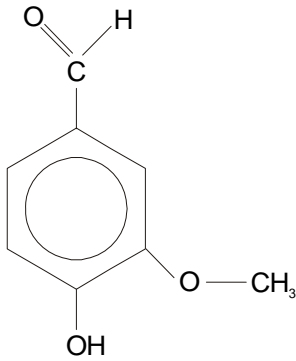
Du point de vue de la microscopie, la concentration en potasse la plus utilisée est, en fait, non pas de 10% mais de 5%. La solution à 5% convient bien pour la plupart des observations. A 10%, on utilise la potasse pour l'étude des champignons très durs, tels que les polypores et les croûtes, qui peuvent résister très longtemps à la dissociation dans la potasse à 5%. Plus concentrée, la solution à 10% exerce une action beaucoup plus rapide. Mais elle présente, d'un autre côté, le désavantage d'être très agressive et de dissoudre certains éléments, tels que l'ornementation des spores de certains ascomycètes. Il ne faut donc l'utiliser que pour les polypores et les croûtes, quoiqu'elle puisse être intéressante lors de l'observation des champignons gélatineux (*Auricularia*, *Tremella*), parce que la potasse concentrée liquéfie les mucilages, ce qui est d'un grand secours lors de la dissociation.

Globalement, la potasse offre les avantages de regonfler les exsiccata et de ramollir les tissus, mais elle altère souvent les cellules. C'est finalement un assez bon milieu d'observation, mais dont il faut se servir avec une certaine circonspection. On utilise aussi, quelquefois, une solution à 2% (voir paragraphe 5.8 du prochain numéro) qui est encore plus douce que la solution à 5%.

- DANGERS ET CONSERVATION :

La potasse présente les mêmes dangers que la soude (voir paragraphe 3.4). Les recommandations relatives à la conservation de la potasse sont les mêmes que pour la soude. Le sel qui précipite suite à la réaction entre l'hydroxyde de potassium et le gaz carbonique est le carbonate de potassium (K₂CO₃).

4.4. Vanilline.



Vanilline La vanilline est une poudre blanche à la forte odeur de vanille. Les chimistes organiciens la désignent sous le nom de 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde (formule brute : $C_8H_8O_3$). Elle fait partie de ce que l'on appelle les composés aromatiques parce que sa structure de base est une chaîne hydrocarbonée cyclique à six carbones : la vanilline dérive du benzène. C'est en réalité du benzaldéhyde (benzène pourvu d'une fonction aldéhyde : $-CHO$) dont l'hydrogène du carbone numéro 4 a été substitué par un groupement hydroxyle ($-OH$) tandis que celui du carbone numéro 3 a été substitué par une fonction éther ($-O-$) portant un groupement méthyle ($-CH_3$).

- **UTILISATION :**

La vanilline est essentiellement utilisée sous forme de sulfovanilline (qui a été traitée avec l'acide sulfurique - voir paragraphe 4.1). Si au lieu d'acide sulfurique, on dissout la vanilline dans l'acide chlorhydrique, on obtient de la chlorovanilline, qui est un réactif macrochimique peu utilisé.

- **DANGERS :**

Additif alimentaire des plus banals, la vanilline n'est pas un produit dangereux ; elle est cependant un peu nocive. Il est préférable d'éviter le contact avec les mains, non pas à cause d'un danger quelconque, mais bien parce que son odeur forte et tenace masque tous les autres parfums, et notamment ceux des champignons... La sulfovanilline, quant à elle, contient de l'acide sulfurique, avec tous les dangers que cela comporte (voir paragraphe 4.1).

- **CONSERVATION :**

La vanilline, dont la structure de base est un cycle benzénique, comprend plusieurs liaisons doubles entre atomes, ce qui la rend sensible aux radiations ultraviolettes. Il est donc impératif de la conserver à l'obscurité, et de préférence dans un flacon bien fermé, pour la protéger de l'action oxydante de l'oxygène de l'air.