

## Noir Soudan B – Noir Soudan III

### 1. NATURE DU RÉACTIF :

Le noir Soudan B et le noir Soudan III sont des colorants synthétiques provenant des hydrocarbures extraits du goudron de houille et dérivant du benzène.

Ils font partie de la catégorie des tétrazoïques parce qu'ils possèdent deux chromophores (région de la molécule qui est principalement responsable de la teinte) de type azoïque, c'est-à-dire formés chacun de deux atomes d'azote doublement liés, et diversement substitués.

Nous trouvons dans cette catégorie des colorants essentiels des matières grasses : le **Rouge Soudan**, le **noir Soudan B**, les **Soudan II, III & IV**, l'**écarlate R**.

Tous ces colorants sont insolubles dans l'eau, mais très solubles dans l'éther, l'éthanol, le méthanol et les corps gras. C'est un colorant acide, c'est-à-dire qu'il a tendance à se fixer préférentiellement sur les structures basiques. Il colore particulièrement bien les parois des cellules de champignons ; c'est pour cela qu'il est un des colorants les plus utilisés en mycologie générale.

Sa formule brute est :  $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$  ; il est soluble dans l'eau à raison de 25 g/litre.

### 2. PRÉPARATION :

noir Soudan B :	1 g
éthanol à 70° :	→ 100 ml

noir Soudan III :	0,5 g
éthanol à 70° :	→ 100 ml

Utiliser l'agitateur magnétique et filtrer !

#### **Préparation selon Erb et Mattheis :**

noir Soudan III :	1 g
Eau bidistillée :	100 cc
Hydrate de chloral :	100 cc

Pour atteindre la concentration nécessaire de 0,1 à 0,2% de soudan III, il faut placer le flacon contenant le mélange pendant au moins 2 jours sur l'agitateur magnétique (la dissolution est très lente) ; filtrer la solution.

#### **Préparation selon M. Langeron au lactophénol :**

Phénol en cristaux :	20 g
Acide lactique (commercial concentré) :	20 g
Eau bidistillée :	20 g
Soudan III :	1 g

Faire bouillir dans un erlenmeyer à col étroit, un excès de soudan III dans du lactophénol ; filtrer après refroidissement.

## Notre préparation au lactophénoL :

PhénoL en cristaux :	20 g
Acide lactique (commercial concentré) :	20 g
Eau bidistillée :	20 g

Préparer le lactophénoL à l'agitateur magnétique, jusqu'à obtention d'une solution homogène et transparente (1 à 2 heures).

Soudan III :	1 g
--------------	-----

- Ajouter le Soudan III à saturation
- Couvrir d'un verre de montre
- Passer à l'agitateur magnétique durant une heure
- Porter à ébullition douce quelques minutes
- Laisser refroidir et filtrer.

Glycérine :	40 g
-------------	------

- Ajouter la glycérine en dernier lieu

## 3. UTILISATION :

### Son intérêt chez les Ascomycètes :

« Le soudan III permet de colorer les inclusions lipidiques (guttules) trouvées fréquemment dans les ascospores. Le soudan III est soluble dans des solvants de type white spirit mais n'est pas facilement miscible à l'eau ; son utilisation en mycologie/lichénologie pose donc des problèmes, l'eau étant le principal constituant des êtres vivants. On peut utiliser le soudan III en solution alcoolique saturée mais l'éthanol provoque un rétrécissement important des structures cellulaires. » (Jean-Pierre Gaveriaux)

Il nous semble impératif de comprendre que le noir Soudan B (et ses voisins) ne sont pas des colorants au sens tinctorial du terme ; en effet, ils n'ont aucune affinité pour les fibres textiles ou pour les éléments des tissus vivants. Mais du fait qu'ils sont liposubles, ils transmettent leur coloration propre aux graisses qui agissent comme solvants.

Le noir Soudan B est le meilleur de ces colorants, et il fournit une coloration vive et intense de la myéline notamment.

Il permet également de différencier les corps gras normaux des tissus (coloration en noir bleuâtre) des éventuels hydrocarbures qui peuvent avoir été introduits artificiellement (l'huile de paraffine et la vaseline se colorent en violet intense).

### **TECHNIQUE de coloration d'un tissu adipeux :**

- laver les coupes dans de l'alcool à 70°
- préparer à chaud une solution saturée dans de l'alcool à 70°
- colorer durant 15 minutes à 2 heures dans une cuve à coloration fermée
- rincer à l'alcool à 70°
- rincer à l'eau
- colorer les noyaux au carmin aluné ou à la safranine
- monter à la glycérine gélatinée ou au conservateur de Hoyer

### **IMPORTANT :**

- la fixation doit être rapide (24 heures maximum ; réduire à 12 pour des petites pièces)
- la fixation doit être réalisée dans du formol à 10 ou 20 %
- les coupes doivent être réalisées au microtome à congélation car les graisses (lipides) sont toutes +/- solubles dans les liquides intermédiaires utilisés pour les techniques d'inclusion classiques

### **4. DANGERS :**

Tous les colorants dérivés du benzène sont toxiques à l'état pur et per os !  
En solution alcoolique, le principal danger vient du caractère inflammable de la préparation.

### **5. CONSERVATION :**

Il convient de le conserver dans un petit flacon bien fermé, pour éviter l'évaporation de l'alcool !  
Tester son pouvoir de coloration sur de la vaseline en cas de doute.