

ÉTUDE CHIMIO-TAXONOMIQUE DU GENRE *HYPERICUM*

III. RÉPARTITION DES CARBURES SATURÉS ET DES MONOTERPÈNES DANS LES HUILES ESSENTIELLES D'*HYPERICUM*

C. MATHIS et G. OURISSON

Faculté de Pharmacie et Institut de Chimie, Strasbourg, France

(Received 31 May 1963)

Résumé—Nous avons étudié la répartition des carbures saturés et des monoterpènes, précédemment identifiés, dans 35 espèces d'*Hypericum* et dans *Vismia guineensis* et nous avons essayé d'en tirer des conclusions chimio-taxonomiques (voir Tableau 2). Nous décrivons les microméthodes analytiques mises au point, en particulier la chromatographie gazeuse directe sur les échantillons de plante.

Abstract—The distribution of saturated hydrocarbons and monoterpenes (for identification, see the preceding communication) in 35 *Hypericum* species and *Vismia guineensis* has been examined. From the results of this study, chemico-taxonomical conclusions have been drawn. An analytical method using vapour phase chromatography is described whereby chromatograms are obtained directly from plant samples.

INTRODUCTION

DANS la publication précédente de cette série,¹ nous avons décrit l'identification d'un certain nombre de constituants des huiles essentielles d'*H. perforatum* L., *H. hirsutum* L. et *H. calycinum* L. Dans ce travail, nous étudions la répartition des carbures saturés et des monoterpènes dans les essences de 35 espèces d'*Hypericum*, puis nous comparons cette répartition avec la classification botanique du genre *Hypericum*. La répartition des sesquiterpènes et des composés oxygénés fera l'objet d'une publication prochaine.

Comme nous ne disposions que de très faibles quantités des huiles essentielles de la plupart des espèces, il ne pouvait être question d'isoler les divers constituants. Nous les avons identifiés par comparaison avec les constituants précédemment isolés et caractérisés, en combinant diverses formes de microméthodes chromatographiques.

Nous avons également vérifié sur quelques espèces que la composition ainsi trouvée pour l'huile essentielle, obtenue à partir des parties aériennes, se retrouvait en grande partie sur les organes isolés: nous avons mis au point une méthode, encore imparfaite mais déjà très utile, de chromatographie gazeuse directe de fragments végétaux.

MÉTHODES

Dans la publication précédente,¹ nous avons vu comment ont été obtenues les huiles essentielles d'*Hypericum* dans un appareil de Clevenger ou, plus souvent, dans l'appareil de Stahl légèrement modifié. Les essences ainsi obtenues ont été analysées:

- (a) par chromatographie gazeuse sur plusieurs phases stationnaires, soit avec un appareil à catharomètre à fil chauffant, soit le plus fréquemment avec un appareil à ionisation de flamme;

¹ C. MATHIS et G. OURISSON, *Phytochemistry*, publication précédente.

(b) par chromatographie en couche mince, avec ou sans modification sélective de l'adsorbant par addition de nitrate d'argent,² et avec ou sans modification fonctionnelle de l'essence avant chromatographie³ (par bromation, époxydation, saponification, acétylation, déshydratation, etc.).

Dans toutes ces méthodes, les composants des essences d'*Hypericum* précédemment identifiés ont servi de substances témoins.

Dans certains cas, nous avons utilisé une chromatographie en couche mince préparative pour isoler quelques milligrammes d'un constituant qui a ensuite été étudié en chromatographie gazeuse sur plusieurs phases stationnaires. La combinaison de la chromatographie en couche mince et de la chromatographie gazeuse permet non seulement l'analyse fonctionnelle des pics, mais aussi la comparaison des pics observés sur deux phases stationnaires.

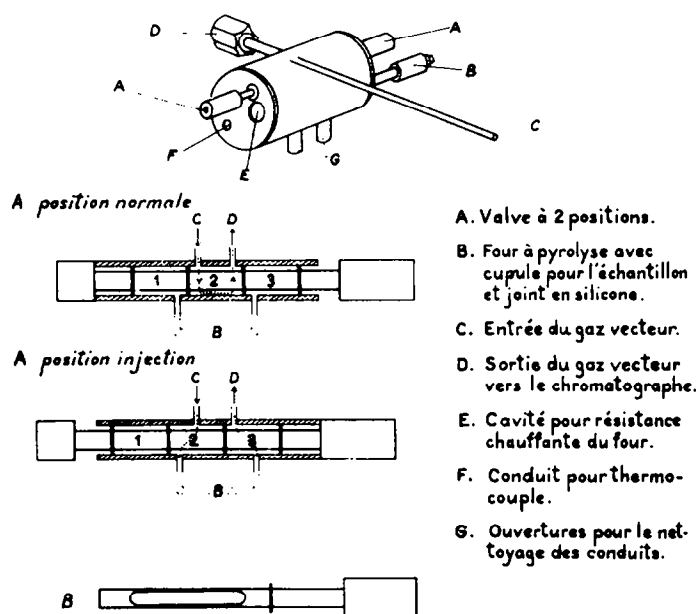


FIG. 1. FOUR À PYROLYSE ET VALVE RÉGLABLE POUR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE.

Elle est aussi très précieuse pour l'identification des carbures saturés, non révélables directement sur la chromatoplaque. C'est par cette méthode que nous avons pu renforcer considérablement l'identification du myrcène dans la communication précédente.¹

La chromatographie gazeuse directe, sans isolement préalable de l'essence, par pyrolyse de fragments de plante, a été réalisée au moyen du four représenté par Fig. 1. Après chauffage de l'échantillon de plante dans l'enceinte close du four, on balaie les principes volatils par le gaz vecteur. Après avoir chauffé un échantillon de l'ordre du décigramme (feuille, fleur ou fruit d'*Hypericum*) pendant 1 min à 240°, nous avons pu détecter avec certitude tous les composants volatils jusqu'au limonène inclus (E_{b760} : 176°).

Les chromatogrammes ainsi obtenus présentent toujours des pics supplémentaires, dus

² C. B. BARRETT, M. S. J. DALLAS et F. B. PADLEY, *Chem. & Ind.* **24**, 1050 (1962).

³ J. M. MILLER et J. G. KIRCHNER, *Anal. Chem.* **1953**, 1107; C. MATHIS et G. OURISSON, *J. Chromatog.* (à paraître) (1963).

sans doute à des produits de pyrolyse ou à des produits exclus de l'huile essentielle par l'entraînement à la vapeur d'eau. Par suite de la complexité des courbes, il n'est pas possible d'utiliser cette méthode sous sa forme actuelle pour l'étude d'une espèce nouvelle; nous ne l'avons employée que pour comparer les différents organes d'une même plante dont l'essence globale avait été étudiée par ailleurs.

La mesure de la surface des pics obtenus en chromatographie gazeuse permet une évaluation quantitative de la composition des essences. Comme les composants d'une essence ont des points d'ébullition très différents, il est nécessaire d'opérer en programmation de température pour obtenir un chromatogramme donnant un aperçu complet de la composition de l'essence (voir Fig. 1 de la publication précédente¹).

RÉSULTATS

Les résultats quantitatifs approchés que nous avons obtenus sont reproduits dans le Tableau 1. Ils concernent la fraction "volatile" des essences d'*Hypericum* (constituée par des carbures saturés et les monoterpènes) qui est bien différenciée, en chromatographie gazeuse, par sa volatilité et sa faible polarité. D'après l'étude de quelques essences, en chromatographie gazeuse avec programmation de température, cette fraction "volatile" constitue, en général, 60 à 80 pour cent de l'essence.

Dans le Tableau 1, les composants sont classés d'après leur point d'ébullition; leur pourcentage est ramené à la fraction "volatile" de l'essence. Les espèces sont rangées d'après la classification ancienne de Keller⁴ qui est la seule classification complète du genre *Hypericum*; nous tiendrons compte également de la classification plus récente de Stefanoff⁵ pour la section *Euhypericum* et des suggestions faites par Robson, auteur d'une classification du genre *Hypericum* non encore publiée.⁶

INTERPRÉTATION ET DISCUSSION DES RÉSULTATS

Variations de la composition suivant les espèces

Le Tableau 1 montre que les huiles essentielles du genre *Hypericum* ont une composition assez voisine, au moins du point de vue qualitatif.

Mais il nous semble possible de relever un certain nombre de points intéressants pour la comparaison avec la classification botanique systématique:

- (1) La composition chimique qualitative des essences d'*Hypericum* et peut-être de genres voisins avec l'exemple du *Vismia guineensis* présente une assez grande homogénéité et différencie nettement les Hypéricacées de familles à essence assez voisines (Myrtacées, Rutacées, etc.). En dehors des oléo-résines des Conifères, la présence de carbures saturés liquides a été rarement décrite jusqu'ici dans les végétaux. A notre connaissance, c'est la première fois qu'on trouve dans le règne végétal du méthyl-2-octane (et probablement du méthyl-2-décane).
- (2) La teneur des essences d'*Hypericum* en limonène permet de distinguer deux groupes: d'une part, les espèces des sections *Eremanthe*, *Norysca*, *Androsaemum*, *Webbia* et *Myriandra* renferment plus de 10% de limonène; d'autre part, les espèces des sections

⁴ A. ENGLER et K. PRANTL, *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, 21, Engelmann, Leipzig, 2ème édition (1925).

⁵ B. STEFANOFF, *Jahrb. Land- und Forstwiss. Fak. Univ. Sofia* 10-12 (1932-1934).

⁶ N. K. B. ROBSON, British Museum (Natural History), London (travaux non publiés).

TABLEAU 1. COMPOSITION DE LA FRACTION VOLATILE DES ESSENCES D'*Hypericum*

No.	Nom de l'espèce	Parties de plante étudiées	MO	N	α -P	β -P	My	L	(MD)	U	Divers
EREMANTHE:											
5-6	<i>H. calycinum</i> L.	fruits	—	3	45	38	3	10	—	1	—
7-8	"	feuilles	—	6	20	45	5	24	—	traces	—
Hybride											
17	<i>H. moserianum</i> André	p.a.	—	16	47	35	traces	1	—	1	—
(= <i>H. calycinum</i> L. \times <i>H. patulum</i> Thunb.)											
18	<i>H. moserianum</i> André	"	—	7	45	45	1	2	—	traces	—
(= <i>H. calycinum</i> L. \times <i>H. patulum</i> Thunb.)											
NORYSCA:											
21	<i>H. patulum</i> Thunb.	p.a.	—	65	4	3	?	25	—	3	—
22	<i>H. patulum</i> Thunb. var. <i>henryi</i> Bean	"	—	65	?	3	—	25	—	7	—
23	"	"	—	40	1	1	?	55	—	3	—
24	"	fruits	—	35	14	20	6	18	—	7	—
52	<i>H. hookerianum</i> Wight et Arn.	p.a.	?	50	5	8	?	15	—	22	—
53	"	"	—	32	8	22	10	16	—	12	—
46	(<i>H. chinense</i> L.)	"	—	6	30	27	—	22	—	15	—
ANDROSAEMUM:											
1	<i>H. androsaemum</i> L.	p.a.	—	5	15	20	10	45	—	5	—
2	"	feuilles	—	8	2	15	40	30	—	5	—
3	"	fleurs	—	2	20	22	8	45	—	3	—
4	"	fruits	—	traces	15	25	7	52	—	traces	—
9	<i>H. elatum</i> Ait.	p.a.	—	3	20	42	4	30	—	"	—
10	<i>H. hircinum</i> L.	feuilles	—	60	2	?	6	6	—	30	—
11	"	fruits	—	45	8	12	18	15	—	2	—
14	<i>H. inodorum</i> Willd.	p.a.	—	50	5	10	traces	10	10	15	—
WEBBIA:											
45	<i>H. canariense</i> L.	p.a.	?	5	1	3	8	82	—	traces	—
MYRTANDRA:											
59	<i>H. prolificum</i> L.	p.a.	—	5	3	41	?	15	—	37	—
54	(<i>H. kalmianum</i> L.)	"	—	traces	1	40	—	11	—	48	—
ROSCYNA:											
41	<i>H. ascyron</i> L.	p.a.	—	75	?	5	—	4	1	15	—
51	<i>H. gebleri</i> Ledeb.	"	—	80	?	8	—	—	?	10	—
EUHYPERICUM:											
Coridium:											
47	<i>H. coris</i> L.	p.a.	—	41	14	7	—	—	—	38	—
Olympia:											
19	<i>H. olympicum</i> L.	p.a.	64	1	14	9	1	traces	4	7	—
20	"	"	58	1	8	15	2	2	5	9	—
57	(<i>H. polyphyllum</i> Boiss.)	"	27	2	6	44	3	?	4	14	—
58	"	"	34	4	8	29	2	1	3	19	—
Crossophyllum:											
56	<i>H. orientale</i> L.	p.a.	—	1	43	2	—	3	—	51	—

2 (entre β -P et My)

		p.a.	traces	75	8	7	3	7	
13	Oligostema:								
	<i>H. humifusum</i> L.								—
	Homotaenium:								
15	<i>H. montanum</i> L.	p.a.	6	57	4	6	1	26	—
16	"	"	4	58	4	5	2	27	—
25	<i>H. pulchrum</i> L.	"	5	54	20	7	6	8	—
50	<i>H. elegans</i> Steph.	"	traces	10	16	1	traces	62	—
12	<i>H. hirsutum</i> L.	"	3	52	5	3	—	30	3 (entre β -P et My)
34	<i>H. quadrangulum</i> L.	"	4	38	6	4	2	28	4 (")
35	"	"	4	68	2	10	—	14	1 (")
36	"	"	10	58	4	14	2	8	2 (")
37	"	"	3	52	10	11	—	9	10 (")
49	<i>H. dubium</i> Leers	"	3	60	2	8	3	18	5 (")
55	<i>H. maculatum</i> Crantz	"	4	40	6	1	5	36	5 (")
38	<i>H. tetrapterum</i> Fries	"	2	54	?	6	—	36	2 (")
39	"	"	3	64	?	5	—	24	4 (")
40	<i>H. undulatum</i> Schousb.	"	5	86	1	5	—	3	—
42	<i>H. atomarium</i> Boiss.	"	—	1	59	2	4	31	—
43	(" ")	"	—	2	51	2	2	43	—
48	<i>H. degenii</i> Bornm.	"	—	2	58	2	1	35	—
62	<i>H. tomentosum</i> L.	"	—	55	35	1	?	9	—
	Heterotaenium:								
33	<i>H. perforatum</i> L. \times <i>H. quadrangulum</i> L.	p.a.	18	32	12	8	2	4	20
26	<i>H. perforatum</i> L.	"	45	8	24	8	2	4	5
27	"	"	35	27	16	9	2	3	4
28	"	"	42	33	14	1	—	?	8
29	"	"	50	3	37	5	traces	2	3
30	"	"	48	2	35	10	—	1	4
31	"	feuilles	48	7	18	11	2	5	7
32	"	fruits	30	3	52	12	1	traces	—
	Drosocarpium:								
44	<i>H. barbatum</i> Jacq.	"	—	2	42	2	?	—	54
61	<i>H. rumelicum</i> Boiss.	"	—	1	41	3	?	—	55
	CAMPYLOPUS:								
60	<i>H. rhodopeum</i> Friv.	p.a.	—	1	54	2	?	—	43
									2 (entre β -P et My)

N.B. L'étude de la fraction volatile de l'essence de *Vismia guineensis* a montré que celle-ci était constituée presque uniquement par les pinènes et principalement l' α -pinène.

Explications concernant le Tableau 1

Numéro de référence: renvoie au Tableau 1 de la publication précédente.¹

EREMANTHE: section de la classification de Keller.

Coridium: sous-section de la classification de Keller.

p.a. = parties aériennes.

Pour les espèces entre parenthèses, étudiées sans organes de reproduction, il subsiste un doute sur leur identité botanique avec des espèces voisines.

MO = méthyl-2-octane
 N = n-nonane
 α -P = α -pinène
 β -P = β -pinène
 Traces: moins de 1 %
 My = myrcène
 L = limonène
 (MD = méthyl-2-décane)
 U = n-undécane
 \pm : présence irrégulière
 ? : présence incertaine

Roscyna, *Euhypericum* et *Campylopus* en contiennent généralement moins de 5%. Les variations de la teneur en myrcène, moins abondant en général, sont souvent parallèles à celle du limonène.

- (3) Dans la section *Euhypericum*, la composition de la fraction volatile permet, à notre avis, de distinguer quatre groupes (voir Tableau 2): (a) Groupe à méthyl-2-octane (et probablement méthyl-2-décane) prédominant. (b) Groupe à carbures saturés linéaires prédominants. (c) Groupe à pinènes prédominants. (d) Groupe à composition mixte (carbures et pinènes).

Ces groupes permettent un certain nombre de rapprochements et de distinctions d'espèces très intéressants.

Pour les espèces de nos régions, la composition permet de distinguer trois groupes: (a) *H. perforatum* L. (b) *H. quadrangulum* L., *H. tetrapterum* Fries, *H. undulatum* Schousb., *H. hirsutum* L. (c) *H. pulchrum* L., *H. montanum* L., *H. humifusum* L.

Il est intéressant de noter que les espèces du groupe (b), riches en carbures linéaires, sont des plantes des endroits humides, alors que celles du groupe (c) croissent dans les endroits plutôt secs.

La composition chimique de l'essence rapproche également des espèces à caractères botaniques très voisins, telles que *H. atomarium* Boiss. et *H. degenii* Bornm., *H. barbatum* Jacq. et *H. rumelicum* Boiss.

- (4) Les espèces d'*Hypericum* renfermant une quantité notable de limonène ne contiennent pas de carbures saturés ramifiés. On peut les classer en deux groupes suivant la prédominance de carbures saturés linéaires ou de pinènes (cf. Tableau 2). Ces deux groupes ne correspondent guère aux sections de la classification de Keller; mais ces sections sont loin d'être définitives (Robson propose p.ex. la suppression de la section *Eremanthe*).

Variations suivant les organes de la plante

La teneur en essence des feuilles est deux à dix fois moins élevée que celle des fleurs et des fruits. Alors que l'essence obtenue à partir des fleurs et des fruits est généralement fluide et très peu colorée, celle isolée à partir des feuilles est jaunâtre et beaucoup plus visqueuse; ceci s'explique par une teneur beaucoup plus élevée de l'essence de fruits en constituants volatils.

La comparaison de la composition chimique des essences de fruits et de feuilles ne montre que des différences qualitatives minimales et des variations quantitatives irrégulières.

Dans le cas d'*H. calycinum* L., la chromatographie gazeuse directe dans le four à pyrolyse a permis une comparaison très poussée de l'huile essentielle des différents organes: limbe, pétiole de la feuille, tige, calice, corolle, étamines, styles, ovaire, fruit. Elle a montré que tous les organes renferment l'huile essentielle et que la composition de cette essence varie peu suivant l'organe. Cette expérience, assez facile à réaliser sur *H. calycinum* L., l'est beaucoup moins sur les autres espèces, plus pauvres en essence et dont les pièces florales sont beaucoup plus petites.

Variations saisonnières

Sauf chez *H. calycinum* L. dont le fruit est particulièrement riche en essence, la teneur en huile essentielle est maximum au moment de la floraison, comme l'a déjà signalé Roth.⁷

La composition chimique qualitative, étudiée sur un certain nombre d'espèces, s'est

⁷ L. ROTH, *Äther. Öle, Riechstoffe, Parfümer., Essenzen und Aromen*, 2, 137 (1952).

TABLEAU 2. CLASSIFICATION DES ESPÈCES D'*Hypericum* ÉTUDIÉES D'APRÈS LA COMPOSITION DE L'ESSENCE

Espèces riches en limonène (plus de 10% de la fraction volatile) et parfois en myrcène	Pas d'autre constituant prédominant	<i>H. canariense</i> L.	sect. <i>Webbia</i>
	Pinènes prédominants	<i>H. androsaemum</i> L.	sect. <i>Androsaemum</i>
		<i>H. elatum</i> Ait.	
	Carbures saturés linéaires prédominants	<i>H. chinense</i> L.	sect. <i>Norysca</i>
		<i>H. calycinum</i> L.	sect. <i>Eremanthe</i>
Espèces pauvres en limonène (moins de 5% de la fraction volatile en général) et en myrcène	Composition mixte; environ 10% de limonène	<i>H. hircinum</i> L.	sect. <i>Androsaemum</i>
		<i>H. inodorum</i> Willd.	
		<i>H. patulum</i> Thunb.	sect. <i>Norysca</i>
		<i>H. hookerianum</i> Wight	
		<i>H. prolificum</i> L.	sect. <i>Myriandra</i>
		<i>H. kalmianum</i> L.	
	n-Nonane fortement pré- dominant (environ 80%)	<i>H. ascyron</i> L.	sect. <i>Roscyna</i>
		<i>H. gebleri</i> Ledeb.	
	Méthyl-2-octane prédominant (au moins 30% de la fraction volatile)	<i>H. perforatum</i> L.	sect. <i>Euhypericum</i>
	Carbures saturés linéaires prédominants; un peu de méthyl-2-octane	<i>H. olympicum</i> L.	
		<i>H. polyphyllum</i> Boiss.	
		<i>H. tetrapterum</i> Fries	
		<i>H. undulatum</i> Schousb.	
		<i>H. quadrangulum</i> L.	
	Pinènes prédominants; pas de méthyl-2-octane	<i>H. hirsutum</i> L.	
		<i>H. elegans</i> Steph.	
		<i>H. coris</i> L.	
	Composition mixte; pas de méthyl-2-octane	<i>H. montanum</i> L.	
		<i>H. pulchrum</i> L.	
		<i>H. humifusum</i> L.	
		<i>H. orientale</i> L.	
		<i>H. tomentosum</i> L.	
		<i>H. atomarium</i> Boiss.	
		<i>H. degenii</i> Bornm.	
		<i>H. barbatum</i> Jacq.	
		<i>H. rumelicum</i> Boiss.	
		<i>H. rhodopeum</i> Friv.	sect. <i>Campylopus</i>

avérée la même en cours d'année. Mais il semble que la proportion des carbures saturés, maximum au moment de la floraison, diminue progressivement au profit des monoterpènes, peut-être par évaporation.

Variations avec l'âge de la plante

La teneur en essence des plants de première année est voisine de celle des tiges feuillées avant floraison les années suivantes. La fraction volatile est plus abondante dans les jeunes plants, mais sa composition est sensiblement la même en général.

Variations avec l'origine géographique

L'origine géographique influe peu sur la composition chimique de l'essence. Nous l'avons vérifié sur la plupart des espèces indigènes. Mais un cas particulièrement probant nous semble cette essence d'*H. perforatum* L., obtenue à partir des fruits cueillis en Italie au

mois de septembre (sur des pieds brûlés par le soleil et sans feuilles), qui renfermait encore 35 % de méthyl-2-octane.

Cas des hybrides

De nombreux auteurs (Hegi en particulier⁸) signalent des hybrides naturels entre espèces d'*Hypericum* voisines. Nous avons étudié la composition de l'essence d'une plante qui, morphologiquement, est intermédiaire entre *H. perforatum* L. et *H. quadrangulum* L. et correspond peut-être à un hybride naturel. Le Tableau 1 (référence 33) montre que la composition de l'essence est également intermédiaire; ceci est particulièrement net pour le méthyl-2-octane et l' α -pinène.

H. moserianum André est un hybride horticole connu depuis fort longtemps (il figure déjà dans le premier supplément de l'*Index kewensis* de 1900) entre *H. calycinum* L. et *H. patulum* Thunb. Notre échantillon est conforme à la description de Hegi⁸ et Robson⁶ a confirmé son identité botanique. Morphologiquement, cet hybride ressemble à *H. patulum* Thunb. dont il se distingue assez difficilement. Par la composition de son essence, riche en pinènes (voir Tableau 1, références 17 et 18), il se rapproche, par contre, de *H. calycinum* L. Dans ce cas, la chimie peut donc contribuer à faciliter l'identification d'un hybride.

CONCLUSIONS

Comme l'étude de la composition des essences n'a pu porter que sur trente-cinq espèces d'*Hypericum* et aussi parce que les résultats sont moins tranchés que par l'hypéricine, les conclusions sont beaucoup moins générales. Mais du fait même de la complexité de la composition des essences, on peut ainsi différencier un grand nombre d'espèces entre elles par leur "image chromatographique" obtenue en chromatographie gazeuse ou en couche mince. Cette image chromatographique a d'autant plus de valeur chimio-taxonomique qu'elle ne dépend que secondairement, comme nous l'avons vu, des facteurs extérieurs (âge, saison, origine géographique). L'étude de l'essence permet donc une comparaison plus approfondie avec la classification botanique, surtout pour la section *Euhypericum* et, en particulier, pour les espèces des régions tempérées. L'étude de la composition de l'essence peut aussi rendre de grands services dans l'identification des hybrides.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Nous ne reviendrons pas ici sur les techniques employées en chromatographie sur couche mince et les appareils utilisés en chromatographie gazeuse, largement décrits dans la publication précédente.¹ Nous insistons, par contre, sur deux techniques que nous avons longuement expérimentées et qui sont destinées à rendre de grands services dans l'étude chimio-taxonomique des essences.

Combinaison chromatographie sur couche mince—chromatographie gazeuse

Après élution normale d'une chromatoplaque par un solvant approprié, on révèle une bande longitudinale pour repérer l'emplacement des spots. Sur la partie non révélée de la plaque, on détache l'adsorbant au niveau des spots intéressants et on l'introduit dans un tube de verre effilé servant de microcolonne chromatographique. On élue l'adsorbant par le pentane, s'il s'agit d'un carbure, par l'éther ou le chlorure de méthylène, dans le cas de

⁸ G. HEGI, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, 5, J. F. Lehmanns Verlag, München.

composés oxygénés. En utilisant un solvant volatil, on diminue les pertes lors de son évaporation. Le résidu d'évaporation, constitué par une substance pure ou du moins fortement prédominante, est étudié avec deux phases stationnaires, sur un chromatographe très sensible (détection à ionisation de flamme). De cette façon, la méthode ne nécessite qu'un résidu d'évaporation très faible (quelques mg).

Chromatographie gazeuse directe (sur les échantillons de plantes)

Comme les échantillons analysés ne renferment généralement que des traces d'essence, la méthode n'est applicable que sur un chromatographe très sensible, avec détecteur à ionisation de flamme. Nous avons opéré sur l'Aerograph Hy-FI avec une sensibilité dix fois plus grande que celle utilisée pour les essences isolées et cent fois plus élevée que la sensibilité maxima du Fractomètre.

Une dérivation permet de faire passer une partie du gaz vecteur (azote) par le dispositif comprenant une valve réglable et un four à pyrolyse. Si la valve est en position normale (voir Fig. 1), l'azote franchit la valve sans passer par le four; si elle est en position d'injection, l'azote passe par le four et entraîne dans l'injecteur de l'Aerograph les principes volatils de la plante portée à température élevée. Nous avons opéré comme suit:

A l'aide d'un transformateur réglable, on porte le four à pyrolyse à 240° (température vérifiée au thermocouple); on introduit l'échantillon dans la cupule du four, la valve étant fermée; on maintient la plante à 240° pendant 1 min environ; au moment où on ouvre la valve, on met en route le déroulement du papier de l'enregistreur, on laisse la valve en position d'injection pendant 10 sec environ; après fermeture de la valve, on peut retirer la cupule du four.

N.B. Entre deux expériences, il est nécessaire de débarrasser le four des produits non entraînés en mettant la valve en position d'injection pendant au moins trente secondes. Il faut également démonter et nettoyer la valve assez souvent. Il est aussi nécessaire de tenir propres les fins conduits entre le four et la valve à l'aide d'un fil d'acier (cf. Fig. 1: orifices de nettoyage).

Remerciements—Nous remercions très vivement Mr. N. K. B. Robson (British Museum, London) de nous avoir aidé dans l'identification des espèces d'*Hypericum* et de ses suggestions pour la classification botanique du genre *Hypericum*.