

## UNE TECHNIQUE POUR LE DOSAGE DE L'ÉTHYLÈNE ÉMIS EN TRÈS PETITES QUANTITÉS

CHON-TON PHAN

Laboratoire de Biologie Végétale, CNRS, Bellevue

(Received 21 June 1964)

**Résumé**—Une technique très précise a été mise au point, qui consiste à fixer l'éthylène par le perchlorate mercurique adsorbé sur gel de silice et à libérer l'hydrocarbure dans le circuit du gaz vecteur d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse, grâce à un vase à réaction et un robinet d'introduction spéciaux. La technique a permis de doser l'éthylène émis par des fleurs et des fruits dont on n'avait pas encore montré qu'ils produisaient ce gaz.

**Summary**—A highly accurate technique was developed, which consists of fixing ethylene by mercuric perchlorate adsorbed on silica gel and releasing the hydrocarbon in a stream of the carrier-gas of a gas-phase chromatograph, by means of a special reaction-vessel and tap. This technique was used to demonstrate that ethylene is evolved by some flowers and fruits which have not until now been found to produce ethylene.

### PRODUCTION

POUR l'étude des organes produisant très peu d'éthylène ainsi que pour des études cinétiques, il a été nécessaire de mettre au point une technique quantitative très précise pour le dosage de ce gaz. La technique décrite ci-dessous consiste à fixer l'éthylène par le gel de silice imprégné de perchlorate mercurique,<sup>1</sup> puis à le libérer dans l'enceinte même d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse pour en faire le dosage. Les conditions de chromatographie ont été exposées dans un article antérieur.<sup>2</sup>

### DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

#### (A) Matériel

(1) *Réactif fixateur*.<sup>2</sup> Gel de silice (tamis 100–200), imprégné d'une solution de perchlorate mercurique (0,25 M) dans l'acide perchlorique (2 M).

(2) *Appareil analyseur*.<sup>1</sup> Chromatographe Aerograph HY-FI, modèle A-600-B, muni d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne, en acier inoxydable d'un huitième de pouce de diamètre et d'un mètre cinquante de longueur, remplie de gel de silice (100–200) et activée au préalable par un chauffage à 150°C pendant 48 hr, est maintenue dans un four à température constante réglé à 120°C.

(3) *Robinet d'introduction d'échantillons gazeux* (R, Fig. 1). C'est un robinet en verre dont la clé est percée d'orifices tels qu'ils permettent, dans la position 1, de faire passer directement le gaz vecteur du cylindre de gaz vers la colonne, et dans la position 2, de faire balayer le vase à réaction (PM) par le courant de gaz vecteur.

(4) *Vase à réaction* (PM, Fig. 1). Il est constitué par le corps d'un rodage normalisé (P) et se compose de deux parties. La partie supérieure est constituée par la chemise intérieure

<sup>1</sup> C. T. PHAN, *Compt. rend.* **245**, 1019 (1957).

<sup>2</sup> C. T. PHAN, *Rev. Gén. Botan.* **70**, 679 (1963).

du rodage P prolongée vers le haut par deux branches capillaires (A' et B'). Ces branches sont attachées aux tubulures correspondantes (A et B) du robinet R, par des tubes de caoutchouc à vide. La partie inférieure est formée par l'enveloppe extérieure du rodage P prolongée d'un petit espace quasiment sphérique, le mélangeur (M), d'où part une tubulure soudée à une des voies du robinet r, dont les trois voies sont séparées les unes des autres par des arcs de  $120^\circ$ . A la deuxième voie (E), on adapte, par l'intermédiaire d'un tube en caoutchouc, une seringue (S); la troisième voie (F) est laissée libre.

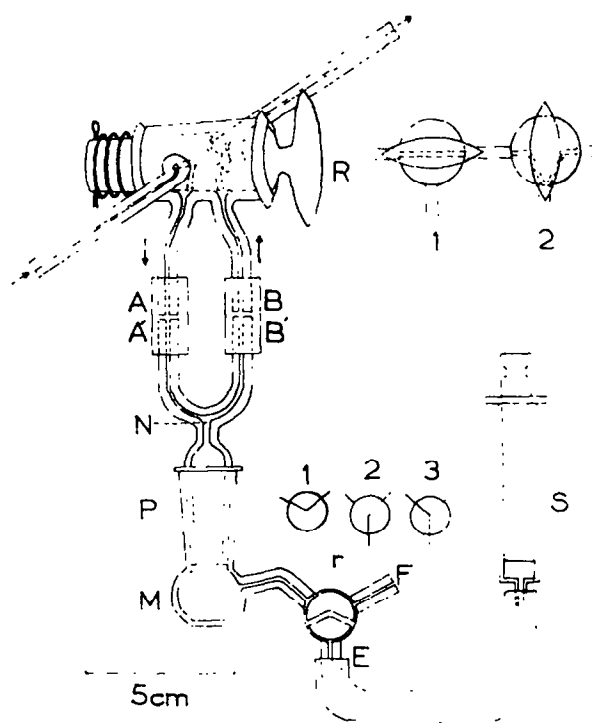


FIG. 1.

### (B) Mode Opératoire

On sépare la partie inférieure du vase à réaction (PM). On adapte au tube de caoutchouc attachant à la voie E la seringue S contenant l'acide chlorhydrique 2 N. On introduit le réactif ayant fixé l'éthylène dans M. On adapte alors cette partie à la partie supérieure. On maintient la jonction fortement à l'aide d'élastiques. En mettant r à la position 1, on tourne R à la position 2 pour balayer l'espace vide du vase à réaction. On ferme r et on remet R à la position 1. En mettant ensuite r à la position 2, on fait monter l'acide chlorhydrique dans la voie E et dans la voie de la clé du robinet. Puis en mettant r à la position 3, on agit sur la seringue S pour faire pénétrer un peu d'acide chlorhydrique dans M. On ferme alors r et on agite le mélange pendant 5 minutes pour libérer l'éthylène. Au bout de ce temps, on ouvre r à la position 3, et, en pressant sur le piston de la seringue, on met R en position 2, pendant qu'en agissant sur le piston de S, on amène le liquide jusqu'au niveau N. On ferme r et on laisse balayer pendant 3 min au moins, et on remet R à la position 1. On peut alors séparer la partie inférieure pour préparer un nouveau dosage.

## ÉTUDE CRITIQUE DE LA TECHNIQUE

Nous avons vérifié que le dosage est: (1) reproductible: pic unique pour chaque injection, pic symétrique, retour à la ligne de base, temps de rétention identique; (2) quantitatif: surface du pic directement proportionnelle à la quantité d'éthylène (absorbé par le réactif) prise pour le dosage.

L'inclusion du vase à réaction dans le circuit du gaz vecteur rend toute perte impossible et évite les incertitudes de l'injection par seringue, même lorsqu'il s'agit de seringues étanches aux gaz. D'autre part, la fixation de l'éthylène par un réactif présente trois avantages: (a) Les organes étudiés se trouvent dans une atmosphère renouvelée; (b) le réactif accumule l'éthylène dégagé en un temps déterminé, rendant possible le calcul des vitesses de production; (c) le diagramme de l'enregistreur ne comporte qu'un pic, ce qui est la condition la plus favorable au calcul de la surface de celui-ci; cette surface correspond à une quantité absolue d'éthylène et non à une proportion comme dans le cas de l'injection des échantillons gazeux bruts.

Ainsi cette technique convient-elle à des études cinétiques sur la production d'éthylène.

## APPLICATION DE LA TECHNIQUE À L'ÉTUDE DE QUELQUES FRUITS ET FLEURS

À l'issue de sa mise au point, nous avons appliqué cette technique à l'étude de quelques fruits et fleurs dont on n'a pas montré jusqu'ici qu'ils produisent de l'éthylène. Les résultats sont résumés dans le Tableau 1.

TABLEAU 1. PRODUCTION D'ÉTHYLÈNE PAR QUELQUES FLEURS ET FRUITS

Organe	Production d'éthylène	
	$\mu\text{l.}/24 \text{ hr}/100 \text{ g frais}$ ( $\times 10^{-3}$ )	$\mu\text{l.}/24 \text{ hr}/\text{unité}$ ( $\times 10^{-3}$ )
<i>Viola cornuta</i> , Lin. (variété bleue)	17,50	0,35
<i>Convolvulus sepium</i> , Lin.	16,50	0,85
Rose (variété non déterminée, à petites fleurs rouges)	1,70	0,81
<i>Lilium candidum</i> , Lin.	10,00	3,94
Cerise, Bigarreau Napoléon	1,37	
Cerise, Montmorency	1,39	

Les données obtenues avec les fleurs étendent nos connaissances dans ce domaine. Le grand avantage de la technique utilisée est de permettre maintenant de travailler avec une fleur, même petite. Mais ce sont surtout les valeurs positives données par les cerises, tant sucrées qu'acides, qui méritent une attention particulière. Les cerises, en effet, appartiennent à la troisième catégorie des fruits selon la classification de Biale,<sup>3</sup> c'est à dire ceux qui n'ont pas de crise climactérique. Selon cet auteur, de tels fruits ne devraient pas produire d'éthylène. Nos résultats sont donc en contradiction avec les conclusions de Biale et posent de nouveau la question de la relation entre les processus respiratoires (émission de  $\text{CO}_2$ ) et l'émission d'éthylène.

*Remerciements*—Nous remercions Monsieur le Professeur R. Ulrich pour ses remarques et critiques, qui nous ont aidé à modifier le schéma de l'appareil et à parfaire le mode opératoire.

<sup>3</sup> J. B. BIALE, *Plant Physiol.* 29, 168 (1954).