Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles

Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles

Band: 12 (1958-1961)

Heft: 6

Artikel: Étude du catabolisme des auxines marquées par du radiocarbone : méthodes et premiers résultats

Autor: Pilet, Paul-Emile / Lerch, Pierre

Kapitel: 5: Méthodes radiochimiques

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-257915

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 29.11.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

5. METHODES RADIOCHIMIQUES

5. 1. Mesure de la radioactivité.

5. 1. 1. Types de mesures.

La mesure de la radioactivité d'un chromatogramme peut s'effectuer de trois manières :

a) découpage du chromatogramme en fragments de surfaces égales et mesures individuelles de la radioactivité des fragments;
b) élution et mesure de la radioactivité de parties aliquotes des fractions collectées après évaporation à sec;
c) mesure continue de la radioactivité, le chromatogramme défilant à vitesse constante devant le détecteur.

La première méthode est indiquée toutes les fois que des mesures très précises doivent être obtenues, et plus particulièrement lorsque la radioactivité à mesurer est extrêmement faible (voir plus loin, calcul de l'erreur statistique lors des mesures de la radioactivité). Elle présente le désavantage de nécessiter la destruction du chromatogramme.

Avec le même inconvénient, la seconde méthode peut donner des résultats au moins aussi précis, lorsqu'une élution quantitative est possible. Mais elle exige de nombreuses manipulations et le plus souvent la première méthode lui est préférable. Nous citons donc la méthode par élution pour mémoire et nous n'y reviendrons pas.

La troisième méthode présente les avantages de la rapidité et d'un nombre minimum de manipulations. Par surcroît, le chromatogramme peut être conservé après la mesure et servir par conséquent à des dosages biologiques. La précision est moindre, mais le plus souvent suffisante.

5. 1. 2. Mesures individuelles.

Une installation courante de mesure de la radioactivité, composée d'une haute tension pour l'alimentation du détecteur, d'un discriminateur et d'une échelle pour le dénombrement des impulsions, d'un tube de Geiger-Müller à fenêtre mince en bout, abrité dans un château de plomb, est généralement suffisante. Il faut pouvoir placer le fragment de chromatogramme aussi près que possible de la fenêtre du détecteur, dans une position bien définie, afin d'obtenir une géométrie élevée et une reproduction satisfaisante.

Lorsque le radioisotope utilisé n'émet que des rayons β très mous, le C^{14} notamment, il faut choisir un détecteur à fenêtre de faible épaisseur (1,5 à 2 mg/cm^2 de mica). Les compteurs à courant gazeux et fenêtre très mince de mylar (0,5 mg/cm^2) de même que les compteurs à courant gazeux où la source peut être introduite, seront

employés avec grand avantage. Dans le premier cas, la manipulation est simple et les mesures rapides; avec le second dispositif, l'introduction de la source dans le compteur et le balayage de ce dernier sont plus longs, mais la précision plus élevée aussi.

Les surfaces découpées doivent être rigoureusement égales et la dimension des fragments petite par rapport à celle de la fenêtre du compteur, afin que la géométrie soit sensiblement constante en chaque point du fragment mesuré.

Pour que l'erreur statistique soit toujours la même, les mesures s'effectuent à nombre constant d'impulsions reçues. Les activités en cpm [9] sont portées en ordonnées sur un graphique; l'élongation du chromatogramme est donnée en abscisses.

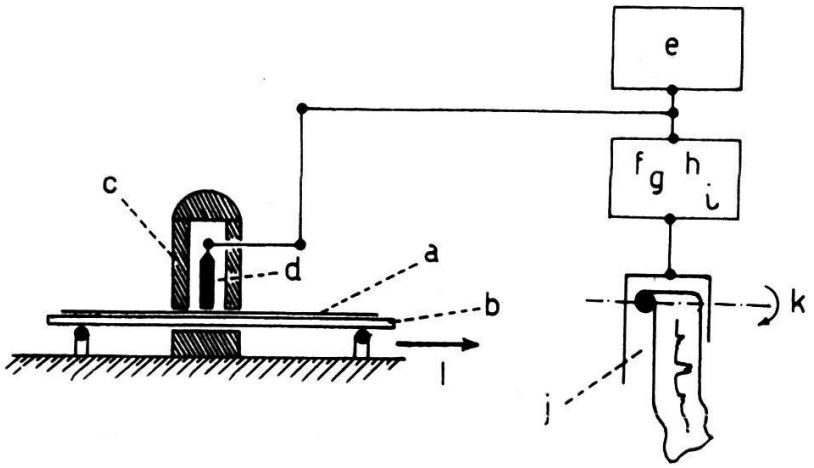

FIG. 10 — Schéma de l'appareil utilisé.
Chromatogramme (a) - platine mobile (b) - château de plomb (c) - détecteur (d) - haute tension (e) - système électronique : amplificateur (f) - discriminateur d'amplitude (g) - metteur en forme (h) - circuit intégrateur (i) - appareil d'enregistrement.
Le déplacement (I) de la platine est synchronisé avec la rotation (k) du papier où s'enregistrent les impulsions.

5.1.3. MESURES CONTINUES.

Nous indiquerons brièvement le principe [10] de l'appareillage utilisé (fig. 10) :

Le chromatogramme (a) est fixé sur une platine mobile (b) qui traverse de part en part un château de plomb (c) et défile ainsi devant le détecteur (d) qui s'y trouve logé. Généralement ce détecteur est un tube de Geiger-Müller à fenêtre mince de mica, ou mieux un tube de Geiger-Müller à circulation gazeuse et fenêtre très mince de mylar. L'appareillage électronique comprend une haute tension (e) pour l'alimentation du détecteur. Les impulsions de tension sortant du détecteur sont tout d'abord amplifiées (f) puis passent par un discriminateur d'amplitude (g); elles sont ensuite mises en forme et

[9] *Count per minute.*

[10] Voir LERCH et NEUKOMM, 1954.

égalisées (h) ; enfin elles parviennent au circuit intégrateur (i) (fig. 11).

L'impulsion d'entrée de forme carrée positive et de hauteur V_e charge le condensateur C_1 au travers de la diode D_1 conductrice. Ainsi l'impulsion de tension est convertie un une charge électrique unité. Sitôt l'impulsion passée, le condensateur C_1 se décharge au travers de la diode D_2 conductrice (D_1 ne conduit pas dans ce sens) et charge le condensateur C_2, qui est l'élément intégrateur proprement dit. Ce transfert de charge effectué, la capacité intégratrice C_2 se vide lentement au travers de la résistance élevée R. La charge intégrée est peu à peu transformée en un courant i_s. Il est possible de mesurer, soit la différence de potentiel V_s entre les bornes du condensateur, soit l'intensité i_s. Cette dernière méthode est plus généralement employée. V_s et i_s sont proportionnels au nombre A d'impulsions reçues par unité de temps.

On a, en régime permanent et pour autant que $V_s \leqslant V_e$,

$$i_s = A \,.\, V_e \,.\, C_1$$

$$V_s = R \,.\, i_s = A \,.\, V_e \,.\, C_1 \,.\, R$$

Afin d'obtenir une gamme de sensibilités permettant la mesure de radioactivités variables dans de larges limites, le circuit comprend une capacité C_1 et une résistance R variables par bonds. De même,

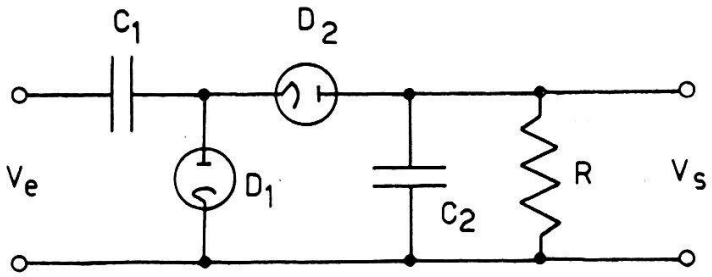

FIG. 11. — Impulsions d'entrée et de sortie.
V_e : tension d'entrée — V_s : tension de sortie — C_1 et C_2 : condensateurs — D_1 et D_2 : diodes — R : résistance.

pour obtenir une décharge plus ou moins lente de la capacité intégratrice C_2, ce condensateur est aussi variable. La constante de temps θ est :

$$\theta = R \,.\, C_2$$

Comme nous le verrons, elle présente un grand intérêt pour le calcul de l'erreur statistique.

Pratiquement, les composants du circuit d'intégration ont pour valeur :

$$R = 1 \text{ à } 10 \text{ M}\Omega \qquad C_1 = 10^2 \text{ à } 10^4 \text{ pF} \qquad C_2 = 1 \text{ à } 10 \ \mu\text{F}$$

Ainsi les constantes de temps varient de quelques secondes à quelques centièmes de seconde. Le courant i passe par un milliampèremètre enregistreur (j) qui trace ses variations au cours du temps. Pour que la mesure soit automatique, il faut que le déroulement du papier (k) de l'enregistreur soit synchronisé avec l'avance de la platine sur laquelle est fixé le chromatogramme. Il

est très utile d'avoir plusieurs vitesses de déroulement du papier. Nous verrons (p. 243) que lorsque la radioactivité est importante, la vitesse peut être plus grande pour une même erreur statistique.

Enfin, il faut interposer un diaphragme entre la fenêtre du détecteur et la platine afin de définir avec précision la surface lue; il est bon de pouvoir régler la largeur du diaphragme (dimension dans le sens du mouvement de la platine) et de l'adapter aux conditions de la mesure. Cela permet une meilleure localisation des plages radioactives sur le chromatogramme.

Caractéristiques de notre appareillage :

Vitesses de passage du papier : 2 mm/mn et 20 mm/mn.

Largeur du diaphragme : variable de 0 à 6,35 mm.

Constantes de temps : 2,5 s , 10 s et 40 s.

Sensibilité : 10^2, 10^3, 10^4, 10^5 et 10^6 cpm (impulsions/minute).

Cet instrument est avant tout destiné à la mesure des radiations β molles du C^{14}, le détecteur est un compteur de Geiger-Müller à fenêtre mince de mylar de 0,5 mg/cm² parcouru par un flot gazeux, mélange d'hélium, d'isobutane et de butadiène (Tracerlab, G-1).

5. 2. Discussion des résultats.

5. 2. 1. Mesures individuelles.

L'activité mesurée, A cpm, est une grandeur relative qui dépend des conditions de mesure. Sa connaissance peut être suffisante, lorsqu'on désire simplement comparer des radioactivités entre elles. Pour obtenir la valeur absolue D dpm (désintégration par minute) ou D′ (mC), on peut :

a) soit étalonner le détecteur (Lerch, 1956; Lerch et Jaep, 1958), à l'aide d'une source dont l'activité absolue est connue, dans des conditions rigoureusement semblables à celles de la mesure des fragments, (l'étalon doit être fait du même radioisotope que celui qui est mesuré sur le chromatogramme);

b) soit calculer l'activité absolue (Lerch, 1953 a et b) : les facteurs suivants doivent être connus pour le calcul de D : géométrie du détecteur — facteur de transmission T — facteur de diffusion Q — facteur de rétrodiffusion R — facteur d'auto-absorption S. D vaudra :

$$D = A \cdot \frac{1}{G.T.Q.R.S}$$

Dans le cas d'émetteurs de radiations β de faible énergie, les facteurs T et S sont sujets à des changements importants lorsque les conditions de mesure varient. Les graphiques (fig. 12 A et B) montrent l'évolution de T en fonction de l'épaisseur massique sépa-

rant la source du volume sensible du détecteur (principalement air et fenêtre du détecteur) et de S en fonction de l'épaisseur de la source, en l'occurrence celle du papier du chromatogramme.

Enfin, il ne faut pas oublier de déduire de l'activité brute mesurée, l'effet zéro ou *background*, d'une part, et éventuellement d'ajouter, lors de la mesure de radioactivités importantes, une correction pour la perte d'impulsions due au temps mort du détecteur.

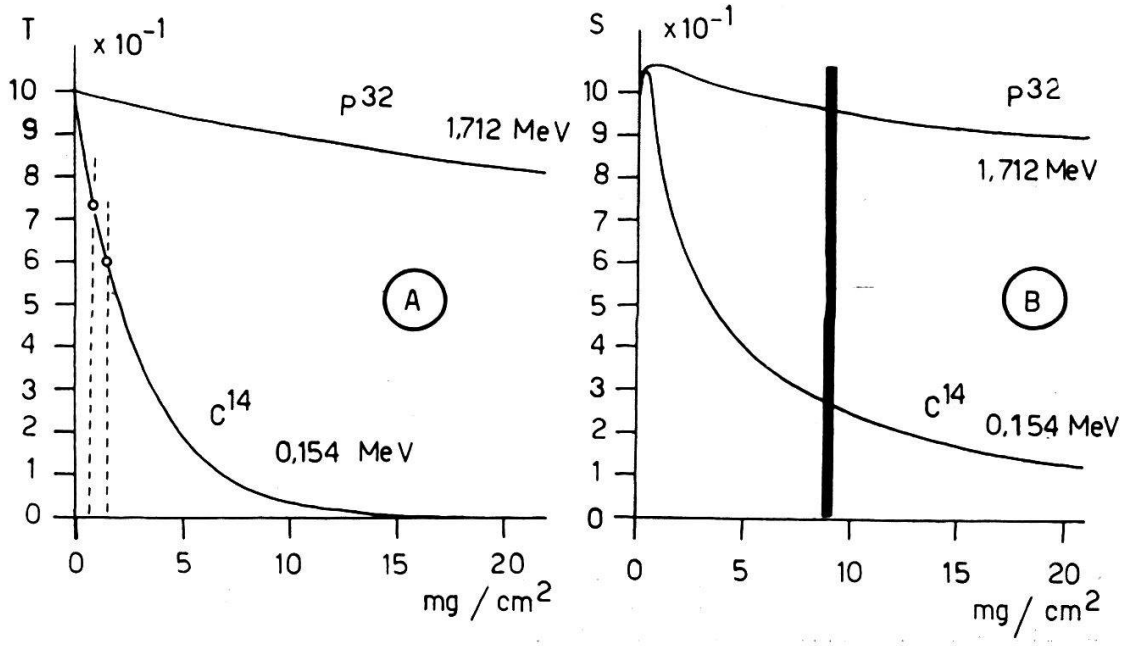

FIG. 12. — Facteurs de transmission (T) et d'auto-absorption (S).
A) T est donné en fonction de l'épaisseur massique qui sépare la source du volume sensible du détecteur. B) S est donné en fonction de l'épaisseur du papier du chromatogramme. Les valeurs ont été calculées pour du radiocarbone (C^{14}) et du radiophosphore (P^{32}).

Caratéristiques de notre appareillage :

Pour le C^{14} :

$$S = 0{,}27 \qquad T = 0{,}42 \qquad G = 0{,}27$$

Pour le P^{32} :

$$S = 0{,}97 \qquad T = 0{,}96 \qquad G = 0{,}27$$

L'activité relative A cpm est environ le 1/30 de l'activité absolue D dpm pour le C^{14} (rayons β mous) et le 1/4 pour le P^{32} (rayons β durs).

5. 2. 2. MESURES CONTINUES.

En chaque instant, le détecteur mesure les radiations émises par un petit fragment rectangulaire du chromatogramme défini par la largeur *d* du diaphragme et la largeur *b* du chromatogramme lui-

même (la longueur du diaphragme est toujours supérieure à b, afin d'éviter que des régions du chromatogramme soient inexplorées). Considérons (fig. 13) une plage radioactive Σ et soit $a(x, y)$,

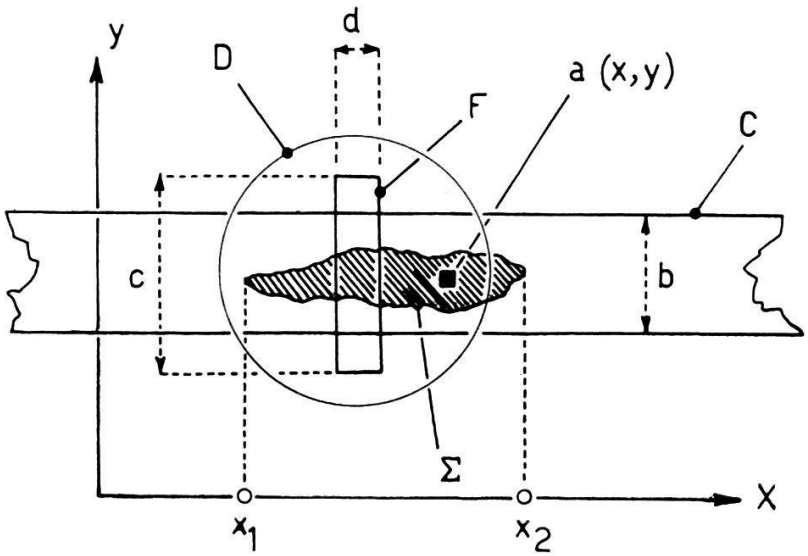

FIG. 13. — Mesure de la radioactivité d'une plage Σ du chromatogramme. a (x,y) : activité en cpm de chaque point de la plage — d : largeur de la fenêtre (F) du diaphragme (D) — c : longueur de la fenêtre (F) du diaphragme (D) — b : largeur du chromatogramme (C). La longueur de la tache est $x_2 - x_1$.

l'activité en cpm en chaque point de la plage. La mesure de la radioactivité de cette plage est la somme

$$A = \int\int_{\Sigma} a(x, y)\, dx\, dy$$

Comme la longueur du diaphragme est supérieure à la largeur de la bande, l'intégrale double est ramenée à une intégrale simple, la variable étant l'élongation dans le sens du mouvement :

$$A = \int_{x_1}^{x_2} a(x)\, dx$$

C'est la raison pour laquelle il faut planimétrer la courbe obtenue au milliampèremètre enregistreur, après déduction de l'effet zéro, et éventuellement correction pour la perte statistique d'impulsions, lors de la mesure de grandes radioactivités. La hauteur des sommets de cette courbe ne peut être prise en considération, car la répartition de la radioactivité sur les plages et leur étendue varient grandement d'un cas à l'autre.

Les milliampèremètres enregistreurs choisis doivent avoir une réponse linéaire et les coordonnées du papier doivent être rectangu-

laires; l'intégration est alors facile, à l'aide d'une mesure au planimètre. Lorsque la plume de l'instrument n'a pas un déplacement rectiligne mais se meut sur un segment de cercle, ou lorsque le graphique n'a pas des ordonnées linéaires, l'intégration est beaucoup plus délicate.

Quoiqu'il soit possible théoriquement de calculer l'efficacité d'un tel appareillage, s'il est nécessaire de passer des mesures relatives en cpm aux valeurs absolues en dpm ou en μC, il vaut mieux avoir recours à un étalonnage à l'aide d'une substance dont la radioactivité absolue est connue.

Si l'on dépose simplement le produit sur le papier, sans le faire migrer par chromatographie, on obtient le plus souvent, par « autochromatographie » une courbe à deux pics séparés par un col, qui montre clairement que le produit s'est réparti dans le papier sous forme annulaire. Ce fait montre suffisamment que seule une détermination de surface est valable.

Il est bon, dans les étalonnages au moins, de vérifier que la réponse est la même, que l'on mesure le verso ou le recto du chromatogramme. Des résultats différents témoigneraient d'un mauvaise chromatographie. Or, un simple dépôt donne souvent des résultats différents par mesure du recto, puis du verso. C'est pourquoi, il est plus précis d'effectuer la chromatographie du produit étalon et de mesurer la radioactivité sur une plage ayant migré.

Pour qu'un tel étalonnage soit valable, il faut, à cause de l'auto-absorption dans le papier, que toutes les plages aient à peu près une surface équivalente, et prendre un papier aussi mince que la technique chromatographique le permet.

Toutes les fois qu'une mesure relative est suffisante, il vaut mieux éviter de passer aux valeurs absolues, toujours entachées d'une erreur plus ou moins élevée, à ajouter à l'erreur statistique.

5. 2. 3. Calculs de l'erreur.

Pour apprécier les résultats obtenus, il est nécessaire de déterminer l'erreur statistique du comptage. L'erreur problable absolue sur la mesure de N impulsions est :

$$\sigma = \pm\, 0{,}6745\, \sqrt{N}$$

Cela équivaut à dire qu'il y a autant de chances que la valeur du résultat soit comprise à l'intérieur qu'à l'extérieur des limites :

$$N = -\, 0{,}6745\, \sqrt{N} \quad \text{et} \quad N = +\, 0{,}6745\, \sqrt{N}$$

Sur l'activité $A = N/t$ cpm, où t est le temps en minute pendant lequel N impulsions parviennent au détecteur, l'erreur probable absolue est :

$$\sigma_A = \frac{\pm\, 0{,}6745\, \sqrt{N}}{t} = \pm\, 0{,}6745 \sqrt{\frac{A}{t}}$$

et l'erreur relative (en %) :

$$\rho = \frac{100\ \sigma_A}{A} = \pm \frac{0{,}6745\ .\ 100}{\sqrt{At}} = \frac{\pm\ 67{,}45}{\sqrt{At}}$$

$$\text{ou} \qquad \rho = \frac{100\ \sigma_A}{A} = \frac{\pm\ 67{,}45}{\sqrt{N}}$$

Pour que ρ soit égal à $\pm$ 1 %, $\pm$ 2 %, $\pm$ 5 % et $\pm$ 10 %, il faut compter respectivement 4500 coups, 1100 coups, 200 coups et 45 coups.

Pour les très basses activités (Lerch et Bercier, 1960), le calcul est plus compliqué, car il faut tenir compte de l'erreur sur la mesure du *background*. Soit N_0, le nombre d'impulsions comptées lors de la mesure de ce dernier, A_0 et t_0 l'activité zéro et le temps de cette mesure, l'erreur absolue est :

$$\sigma_r = \pm\ 0{,}6745 \sqrt{\frac{A}{t} + \frac{A_0}{t}}$$

et l'erreur relative vaut :

$$\rho_r = \frac{100\ \sigma_r}{A - A_0} = \pm \frac{67{,}45}{A - A_0} \sqrt{\frac{A}{t} - \frac{A_0}{t}}$$

Si les nombres d'impulsions comptées, N et N_0, sont égaux, on obtient un résultat plus simple :

$$\rho'_r = \frac{100\ \sigma_r}{A - A_0} = \frac{67{,}45}{\sqrt{At}}\ \frac{\sqrt{A^2 + A^2_0}}{A - A_0}$$

$$= \rho\ \frac{\sqrt{A^2 + A^2_0}}{A - A_0}$$

Lors des mesures de la radioactivité par un intégrateur, le calcul de l'erreur statistique sur le courant à la sortie du circuit d'intégration conduit, pour l'erreur probable absolue, à l'expression suivante :

$$\sigma_i = \pm\ 0{,}6745 \sqrt{\frac{A}{2\ \theta}}$$

où A est l'activité (en cpm) et θ la constante de temps de l'intégrateur (en mn). Pour avoir la constante de temps θ (sec.), ce qui est plus usuel, la relation devient :

$$\sigma_i = \pm\ 0{,}6745 \sqrt{\frac{30\ A}{\theta}} = \pm\ 0{,}6745 \sqrt{\frac{30\ A}{RC_2}}$$

où R s'exprime en ohms et C_2 en farads.

$$\rho_i = \frac{100\ \sigma_i}{A} = \pm\ 67{,}45 \sqrt{\frac{30}{ARC_2}}$$

Ceci est valable pour une source fixe placée sous le détecteur, et l'on suppose que la mesure a lieu pendant un temps $t \leqslant RC_2$.

Qu'en est-il lorsque le chromatogramme défile à une vitesse v mm/s devant le détecteur, la largeur du diagramme étant d mm ?

Les relations précédentes n'ont un sens que si chaque partie du chromatogramme séjourne suffisamment longtemps devant le détecteur, pour que l'intégration soit complète (régime permanent).

Théoriquement, ce régime n'est atteint que pour un temps infiniment long. On peut montrer que :
après un temps égal à $t = 3\ RC_2$, $4\ RC_2$, $5\ RC_2$ et $6\ RC_2$ le régime permanent sera respectivement établi à 95 %, 98,2 %, 99,3 % et 99,8 %.

Pour des mesures plus précises, il est bon de choisir $t = 6\ RC_2$, mais il faut remarquer que souvent un passage un peu plus rapide ne fausse pas beaucoup les résultats, et peut rendre de grands services (chromatogrammes avec substances instables), soit $t = n\ RC$, on a évidemment :

$$v = \frac{d}{t} = \frac{d}{n\,RC} \text{ mm/s}$$

lorsque v et d sont bien choisis, les relations précédentes sont applicables. Le pouvoir séparateur désiré impose généralement d, lorsque les taches radioactives sont rapprochées; en outre, lors du choix de d, il faut tenir compte des dimensions de la fenêtre du détecteur, afin que l'efficacité géométrique reste sensiblement égale pour tous les points du papier se trouvant devant l'ouverture du diaphragme.

TABLEAU 4.

Caractéristiques de l'appareillage employé

Valeur de l'erreur probable en régime permanent ± en %

Avance de la platine : v en mm/mn — Constante de temps : θ en sec.

Ouverture du diaphragme : d en mm — Régime permanent établi à X %

v	θ	d	X	A en cpm				X	d	θ	v
				10^4	10^3	10^2	10				
20	2,5	2	92	2	7	23	74	100	2	2,5	2
		4	99	2	7	23	74	100	4		
		6	100	2	7	23	74	100	6		
	10	—	—	1	4	12	37	100	2	10	
		4	75	1	4	12	37	100	4		
		6	85	1	4	12	37	100	6		
	—	—	—	0,5	2	6	19	90	2	40	
		—	—	0,5	2	6	19	99	4		
		—	—	0,5	2	6	19	100	6		

Enfin, si *d* est trop petit, l'activité mesurée devient très faible et la mesure très imprécise.

Nous reportons dans le tableau 4 les valeurs de l'erreur probable en régime permanent et le % d'établissement du régime permanent en fonction des conditions de la mesure.

Pour les activités proches de l'effet zéro, les chiffres précédents ne conviennent plus et des corrections plus complexes devraient être tentées. Nous n'en parlerons pas, car la méthode de mesure par découpage du chromatogramme est beaucoup plus indiquée dans ces conditions.

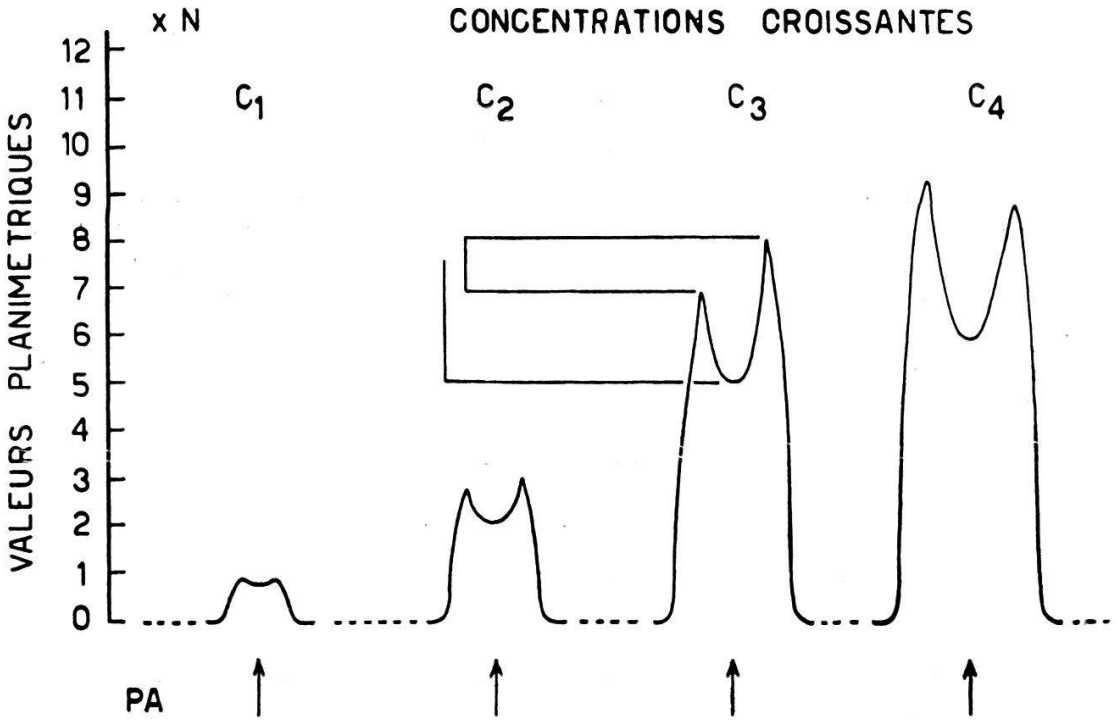

FIG. 14. — Autochromatographie de dépôts de quantités croissantes d'ABIA marqué au radiocarbone.
Rapport de concentration:
$C_2 / C_1 = 5$ $C_3 / C_1 = 18$ $C_4 / C_1 = 27$
Valeurs approximatives
PA : point d'application

5.3.
Quelques applications de la méthode radiochromatographique.

5.3.1. Introduction.

Avant d'utiliser systématiquement, pour l'expérimentation biologique, la méthode radiochromatographique qui vient d'être exposée, il nous est apparu indispensable de l'éprouver dans le cas particulier de l'ABIA ou de ses dérivés, marqués au carbone-14.

A cette fin, plusieurs essais ont été tentés; il s'agissait notamment de déterminer le rôle de l'activité spécifique de l'ABIA*, son influence éventuelle et celle de l'épaisseur du papier sur l'auto-absorption des radiations β molles du carbone-14; la répartiton initiale et finale de la radioactivité sur le papier était intéressante à examiner également, à cause de l'influence qu'elle pouvait exercer sur la reproductibilité de la méthode.

5. 3. 2. Dépôts non chromatographiés — autochromatographie.

Afin de connaître la répartition de l'ABIA sur le papier avant la chromatographie, et de déterminer la largeur optimum de la bande de papier, nous avons effectué un certain nombre de dépôts qui n'ont pas été suivis d'une chromatographie, et dont la radioactivité a été directement mesurée.

Cette expérimentation nous a permis de mettre en évidence une autochromatographie très marquée de l'ABIA. Par autochromatographie, nous désignons le processus de séparation automatique qui se produit au moment du dépôt de la substance à chromatographier, lors de son étalement sur le papier. Comme le montrent les courbes d'activité (fig. 14) la répartition de la radioactivité le long de la tache est variable aux alentours du point de dépôt et présente souvent un minimum en ce point. Il y a donc une migration de la substance radioactive dans le papier pendant que celui-ci est imbibé de solvant.

Tableau 5.

Autochromatographie d'ABIA marqué au C^{14}.

ABIA déposé		Activité mesurée relative (unités arbitraires)	Rapport de l'activité mesurée à la radioactivité déposée
Radioactivité μC	Masse totale mg		
7,4	0,185	320	43
4,3	0,108	215	50
1,1	0,028	63	57
0,27	0,0068	14,8	55
0,075	0,0019	4,0	53
0,38	0,202	23,2	61
0,055	0,029	2,92	53

Les dimensions de l'anneau d'ABIA* ainsi constitué varient avec la masse de l'ABIA déposé et la quantité de solvant utilisée. Dans certains cas le radiochromatogramme ne montre pas de double pic,

mais seulement un sommet très élargi, terminé par un plateau incurvé vers le bas ou vers le haut. Enfin, lorsque la masse de l'ABIA déposé est suffisamment faible (10 à 20 γ) le phénomène d'autochromatographie ne s'observe pratiquement plus. De toute manière, les dimensions de l'anneau sont telles que la largeur choisie (32 mm) pour les bandes de papier est suffisante.

Nous avons cherché, par mesure de l'activité relative du dépôt autochromatographié, si la radioactivité décelée dans plusieurs dépôts d'importance croissante était bien proportionnelle à la quantité d'ABIA* déposé. Les valeurs obtenues (tableau 5) montrent que si la proportionnalité est respectée, la précision laisse bien à désirer. L'auto-absorption dans la substance et le papier, mais surtout l'inégale répartition de celle-ci, sont à incriminer.

5. 3. 3. Dépôts chromatographiés.

Des dépôts analogues à ceux qui ont été réalisés pour étudier l'autochromatographie ont été chromatographiés. Nous avons alors procédé à la mesure relative de l'activité afin de contrôler si la radioactivité décelée était bien proportionnelle à la quantité d'ABIA* déposé. Les valeurs obtenues sont données dans le tableau 6.

A nouveau, si la proportionnalité est grossièrement respectée, la précision laisse beaucoup à désirer.

Tableau 6.

Chromatographie d'ABIA marqué au C^{14}.

ABIA chromatographié		Activité mesurée relative (unités arbitraires)	Rapport de l'activité mesurée à la radioactivité déposée
Radioactivité μC	Masse totale mg		
7,4	1,85	230	31
4,3	0,108	150	35
1,1	0,028	25,5	23
0,27	0,0068	8,9	33
0,075	0,0019	2,25	30
0,38	0,202	12,9	34
0,055	0,029	1,98	39
0,014	0,0072	0,55	39

Comme dans la série précédente, (v. tableau 6) les derniers essais sont effectués avec une activité spécifique différente, environ 20 fois plus faible. Une partie de l'imprécision, plus marquée pour ces es-

sais, doit venir de la qualité différente de l'ABIA non radioactif utilisé pour ces dilutions.

Les radiochromatogrammes montrent nettement un traînage plus ou moins accentué qui indique que la pureté radiochimique de l'ABIA* n'est pas excellente : les impuretés également marquées, éloignées par la séparation chromatographique, contribuent à expliquer les différences importantes qui existent entre les valeurs des dernières colonnes des tableaux 5 et 6. L'hétérogénéité du papier et la répartition de l'ABIA contribuent à expliquer aussi l'imprécision des résultats d'une part, et les différences entre les valeurs des tableaux 5 et 6.

5. 3. 4. Conclusions.

S'il est théoriquement possible d'utiliser la méthode radiochromatographique d'une manière absolue, pratiquement les difficultés de mise au point portent à y renoncer. Les raisons principales peuvent être résumées ainsi :

a) le processus chromatographique n'est jamais strictement quantitatif.

b) la non uniformité de l'épaisseur du papier et de la répartition du matériel chromatographié entraînent, *dans le cas d'émetteurs de radiations* β *molles comme celles du* C^{14} *notamment* (a fortiori dans le cas du tritium), des erreurs de géométrie et d'auto-absorption assez considérables pour rendre la mesure de radioactivité peu précise.

c) Lorsque la pureté radiochimique des substances chromatographiées n'est pas grande (substances autodégradées sous l'action de leurs propres radiations par exemple) un artefact est créé.

C'est pourquoi dans la pratique du laboratoire, l'emploi de la radiochromatographie comme méthode relative est préférable, pour les radioéléments à radiations molles notamment (H^3, C^{14}, S^{35} ...).

6. ABIA MARQUE PAR DU C^{14}

Dans les essais dont il est fait mention ici, nous avons utilisé deux types de molécules d'ABIA marquées par du C^{14} :

1) celle dont le C^{14} se trouve dans la chaîne latérale ;
2) celle dont le C^{14} est contenu dans le cycle.

6. 1. C^{14} dans la chaîne latérale.

Deux types de composés sont actuellement en vente dans le commerce :

a) *C^{14} dans le - COOH.*