

Fig. 3. To the left: a photo of the cut-open and flattened mouse stomach. To the right: the corresponding autoradiogram of the stomach. Note presence of radioactivity in the glandular part of the stomach. C^{14} -nicotine was injected intravenously 1 h before the stomach was excised from the animal.

to fit into the suggested pattern – the non-ionized nicotine passes into the acid stomach content and becomes ionized.

Naturally, no conclusions can be drawn from our present results as to the part played by nicotine in causing peptic ulcers. The mere fact, however, that nicotine is excreted via the gastric mucosa into the stomach content in substantial amounts, fulfills at least a prerequisite for the action of nicotine on the stomach wall.

Zusammenfassung. Der Übertritt von C^{14} -Nicotin aus der Magenschleimhaut von Mäusen, Ratten und Katzen in den Mageninhalt wurde autoradiographisch und mit

Radioaktivitätsmessungen untersucht. Perfusionsversuche des Rattenmagens *in situ* ergaben eine pH-abhängige Nikotinausscheidung. Chromatographisch wurde die ausgeschiedene Radioaktivität teils im Nikotin selber, teils im Abbauprodukt Cotinin nachgewiesen.

G. ANDERSSON, E. HANSSON,
and C. G. SCHMITERLÖW

Department of Pharmacology, Kungl. Veterinärhögskolan, Stockholm (Sweden), December 11, 1964.

Comparaison de l'effet de congélations et de lyophilisations sur la viabilité ultérieure d'embryons d'*Evonymus vulgaris* Miller (*E. europaeus* L.p.p.)

Dans une précédente note¹, nous avons montré que le pourcentage d'embryons d'*Evonymus vulgaris* capables de germer après avoir subi une lyophilisation semble, au moins dans certaines limites, lié à leur teneur en eau.

Nous avons poursuivi nos recherches dans ce domaine, et, au cours du présent travail, nous avons essayé de dé-

terminer, chez des embryons dont la teneur en eau a été amenée à des valeurs allant de 5,3 à 50%, la responsabilité relative de chacune des deux étapes de la lyophilisation (congélation et cryodessiccation) dans le taux de mortalité de ces embryons.

Pour ces recherches, nous avons utilisé des embryons d'*Evonymus vulgaris* après qu'ils aient été isolés de graines mûres et sèches; nous avons fait varier la teneur en eau

¹ C. BULARD et J. MONIN, C. r. Acad. Sci. 258, 1613 (1964).

de ces embryons³ au moment de l'application des traitements grâce à une imbibition préalable plus ou moins longue et après celle-ci, nous les avons placés dans des ampoules de verre immédiatement plongées dans de l'azote liquide pendant une demi-heure. La cryodessiccation, réalisée dans les conditions classiques³ sur un appareil Usifroid MS 12 dont le piège est alimenté en azote liquide amène l'humidité résiduelle de ces embryons à des valeurs comprises entre 1,8 et 2,1%^{4,5}. Dans le cas de simples congélation, la décongélation des embryons est immédiatement réalisée en plongeant ces derniers pendant quelques minutes dans de l'eau à 25°C.

Par ailleurs et pour permettre de comparer certains résultats, nous avons réalisé quelques dessiccations simples en branchant directement les ampoules sur le microsublimateur, sans que les embryons aient subi une congélation préalable. Ces dessiccations amènent la teneur en eau des embryons à des valeurs identiques à celles d'embryons subissant une lyophilisation.

Le test de viabilité, réalisé dès la fin des expériences est un test au Grodex (Bromure de 2,3,5-triphényltetrazolium)⁶.

Il convient de remarquer que les traitements subis par les embryons ne sont pas rigoureusement comparables: en effet, lors d'une simple congélation, la disparition de la glace se réalise par une décongélation dans l'eau à 25°C, tandis que dans le cas d'une lyophilisation, elle se produit au cours d'une sublimation.

Cependant, en comparant les pourcentages de viabilité obtenus après une congélation simple et après une lyophilisation stoppée au moment où l'on peut estimer que la sublimation est terminée, nous avons pu constater que les deux procédés d'élimination de la glace n'amènent pas de différence marquante dans le comportement ultérieur des embryons.

L'essentiel des résultats que nous avons obtenus est consigné dans les deux courbes du graphique ci-joint où nous

avons indiqué en abscisses la teneur en eau des embryons avant l'application des traitements (Te) et en ordonnées, le pourcentage d'embryons viables (V); chaque pourcentage représente la moyenne obtenue après cinq séries d'expériences parallèles comprenant chacune des lots de 100 embryons.

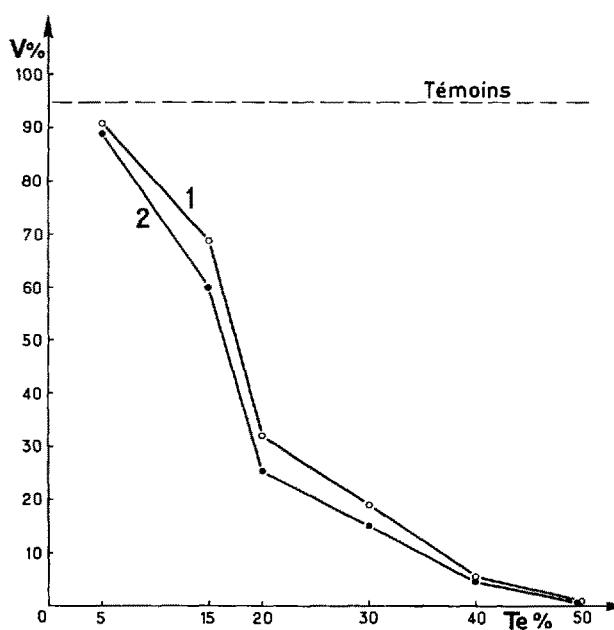
(1) On remarque que, pour la congélation (Figure, courbe 1) comme pour la lyophilisation (courbe 2), le pourcentage d'individus viables décroît à mesure qu'augmente leur teneur en eau. Toutefois, ce pourcentage ne diminue pas d'une manière régulière; au départ, il est très élevé (pour des embryons contenant 5,3 à 5,8% d'eau) puis il décroît très rapidement (jusqu'aux teneurs en eau de 15 à 20%) et enfin s'atténue progressivement jusqu'à devenir pratiquement nul pour des teneurs en eau de l'ordre de 45 à 50%.

Nous voyons donc que *l'effet léthal d'une congélation ou d'une lyophilisation se fait très rapidement et très fortement sentir dès le tout début de la phase d'hydratation physique*.

(2) *Si nous le comparons à celui d'une dessiccation simple, cet effet léthal ne semble pas plus important.* En effet, pour des embryons dont la teneur en eau est de 15%, nous avons pu constater que le pourcentage de viabilité est, après une dessiccation simple, d'environ 30%.

(3) La comparaison des courbes 1 et 2 montre que *les nombres respectifs d'embryons vivants après une simple congélation ou après une lyophilisation sont, pour chaque teneur en eau, tout à fait proches*. Une analyse de variance réalisée à partir du nombre d'embryons viables obtenu pour chacun des lots mis en expérience, ne nous permet d'ailleurs de considérer comme significatives que les faibles différences qui existent entre congélation simple et lyophilisation pour les teneurs en eau de 15 et 20%. Ceci tendrait à montrer que, comme nous l'avions suggéré précédemment¹, *la cryodessiccation n'a qu'une influence discrète dans l'abaissement du taux de viabilité des embryons traités alors que la congélation semble en être la principale responsable*.

Summary. A comparison is made between the effects of freezing, freeze drying (by vacuum sublimation), and drying (by vacuum) on isolated embryos of *Evonymus vulgaris* after a short period of 'physical hydration'.



Effet de congélation et de lyophilisation sur la viabilité d'embryons isolés d'*Evonymus vulgaris* en fonction de leur teneur en eau: Courbe 1, cas de congélation. Courbe 2, cas de lyophilisation.

² La teneur en eau est calculée par rapport au poids de matière sèche déterminé dans une étuve à 105°C; elle est au départ comprise entre 5,3 et 5,8%.

³ L. R. REY, Traité de lyophilisation (Hermann, Paris 1960).

⁴ La méthode pondérale réalisée d'après FLOSDORF⁵ et une dessiccation classique réalisée dans une étuve à 105°C nous ont donné des résultats identiques.

⁵ E. W. FLOSDORF, *Freeze Drying by Sublimation* (Reinhold Publishing Corporation, New York 1949), p. 18.

⁶ Proc. Int. Seed Test Assoc. 24, 3, 519 (1959).

JEANNINE MONIN

Physiologie végétale, Faculté des Sciences, Université de Dijon (France), le 28 septembre 1964.