

FRONTAL - ALMOFRONT 1

N/O L'Atalante

april - may, 1991

Project Leader : **L. PRIEUR**



PIGMENTS HPLC : **H. CLAUSTRE**

UNITES | PROTOCOLE | RESULTATS

LES UNITES

Les *stations* : se référer au descriptif de la campagne -table des stations-

Profondeur : (m)

Paramètres : (ng/l)

Signification des abréviations :

chl c3 chlorophylle c3
chl c-l chlorophylle "like"
chl c12 chlorophylle c1 + c2
fuco-ol fucoxanthinol
peri périidine
19'BF 19'-butanoyloxyfucoxanthine
fuco fucoxanthine
19'HF 19'-hexanoyloxyfucoxanthine
prasi prasinoxanthin
diadi diadinoxanthine
fuco-l1 fucoxanthine "like-1"
allo alloxanthine
diato diatoxanthine
ze/lu zéaxanthine/luteine
chl-b chlorophylle b
achla chlorophylle a allomère
dvchla divinyl-chlorophylle a
chl-a chlorophylle a
chl-a' chlorophylle a'
a-car alpha carotène
b-car beta carotène
T-chlid total chlorophyllides
T-Pha total phaeopigments

[Retour début](#)

PROTOCOLE D'ANALYSE

Les analyses sont effectuées au laboratoire à partir de 2 litres d'eau de mer filtrés sur filtres Whatman GF/F de 25 mm et stocké dans l'azote liquide.

Les filtres sont plongés dans 5 ml de méthanol et l'extrait mis à refroidir pendant une demi-heure à -80°C. Après sonication, celui-ci est clarifié par filtration (GF/C 25 mm). 500 ml de cet extrait sont ensuite mélangés à 250 ml de solution tampon (Mantoura et Llewellyn, 1983 ; Analytica Chimica Acta, 151,297-) puis injectés (boucle de 200 ml) dans le système HPLC.

Les conditions de gradient sont les suivantes (débit 1 ml min⁻¹) :

T = 0 min 100 % A

T = 10 min 100 % B

T = 15 min 100 % B

T = 25 min 100 % A

avec solvant A : 80 % méthanol, 10 % d'eau, 10 % de solution tampon.
et solvant B : 60 % méthanol, 40 % d'acétone.

La colonne utilisée contient une phase C18 Hypersil ODS (SFCC).
La détection est assurée par deux spectromètres LDC Milton ROY en série, un à 440nm (chlorophylles et caroténoïdes) et un à 667 nm (chlorophylles et phaeopigments).

L'identification est réalisée par comparaison des temps de rétention entre les pics de l'échantillon et les temps de rétention de pigments préalablement identifiés à partir de cultures algales. Pour un certain nombre d'échantillons représentatifs (généralement 2 par site), cette identification est confirmée par la comparaison des spectres d'absorption (350-700 nm) des différents composés avec ceux de pigments préalablement identifiés à partir de cultures. Cette procédure utilise un détecteur à barrette de diode en série (Waters 990) et une librairie spectrale.

La quantification des différents pigments est réalisée à partir des facteurs de réponse des deux détecteurs (440 et 667 nm) qui ont préalablement établis par l'injection de quantités connues de différents standards de caroténoïdes et de chlorophylles. Ces standards ont été fournis par R. Bidigare dans le cadre d'un exercice JGOFS de standardisation des méthodes HPLC. Pour les divinyl-chlorophylls *a* et *b* les coefficients d'extinction utilisés sont ceux décrits dans Morel *et al.* (1993, J. MAR. Res., 51, 617-).

[Retour début](#)

RESULTATS

La zéaxanthine et la luteine coéluent.

- En zone oligotrophe, il n'y a que la zéaxanthine (confirmé par les spectres d'absorption).
En zone mésotrophe cette contribution est variable.

La chlorophylle *b* et la divinyl-chlorophylle *b* coéluent.

- En zone oligotrophe, la divinyl-chlorophylle *b* représente toujours plus de 90 % du signal (confirmé par les spectres d'absorption).
En zone mésotrophe cette contribution est variable.

La divinyl-chlorophylle *a* et la chlorophylle *a*

- Ne sont pas totalement séparées par la méthode utilisée.
Lorsque la concentration en divinyl-chlorophylle *a* représente moins de 10 % de la concentration de chlorophylle *a* (ce qui quelquefois est le cas en zone mésotrophe, mais jamais en zone oligotrophe), il n'est pas possible de la détecter. Les résultats sont alors exprimés en chlorophylle *a*.

Les chlorophyllides

- Représentent la somme d'au plus 5 types différents (mêmes spectres d'absorption mais temps de rétentions différents).

Les phaeopigments

- Représentent la somme d'au plus 5 types de phaeophorbides et 3 types de phaeophytines.

[Retour début](#)