

DYFAMED / DYNAPROC (30/04/95 au 02/06/95):
 Project Leader: Valérie ANDERSEN (andersen@obs-vlfr.fr)

Responsable: Jean-Claude MARTY (marty@obs-vlfr.fr)

instrument : ROSETTE : prélèvements bouteilles
 paramètres : PIGMENTS HPLC

ST : numéro de station "DYNxxx" exemple : CTD029=D029
 jour : JJ-mois
 heure : HHhMM heure d'échantillonnage
 profondeur : en metres

paramètres exprimés en myg/l

chl c3	chlorophylle c3	allo	alloxanthine
chlc-1	chlorophylle c like	diato	diatoxanthine
chlc12	chlorophylle c1+c2	zea	zeaxanthine
fuco-ol	fucoxanthinol	lut	luteine
peri	peridinine	dvchlb	div.chlorophylle b
19'BF	19' butano-fucox	chl b	chlorophylle b
fuco	fucoxanthin	achla	chlorophylle a allomere
neox	neoxanthin	dvchla	div.chlorophylle a
19'HF	19' hexa-fucox	chl a	chlorophylle a
prasi	prasincoxanthine	chl a'	chlorophylle a'
diadi	diadinoxanthine	alpha+beta car	alpha + beta carotene
fuco-11	fucoxanthine like1		

PROTOCOLE D'ANALYSE

HPLC

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 stockés dans de 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 10s d'ultrasons, 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 dans le système HPLC.

L'analyse est effectuée selon la méthode décrite dans Vidussi et al. 1996 J. Plankton Res., 18,2377-2382.

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

T=0 min	75% A	25% B
T=10 min	50% A	50% B
T=15 min		100% B
T=18.5 min		100% B

Avec solvant A : 70 % méthanol, 30 % de solution aqueuse acétate d'ammonium 0.5 N

Et solvant B : méthanol

La colonne utilisée est une phase inverse -C8 (RP-C8, Shandon). La détection est assurée par deux spectrophotomètres LDC en série, un à 440 nm (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 été 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-).