
OLIPAC

PIGMENTS-HPLC:

H. CLAUSTRE

Présentation

- * unités
 - * protocole
-

Présentation (analyses, méthode, remarques, etc...)

LES UNITES

No station
num and num2
No Bout.
date
Profondeur : (m)
Paramètres : (ng/l)

Signification des abréviations :

chlc3	chlorophylle c3
chlc12	chlorophylle c1 + c2
peri	péridine
19'BF	19'-butanoyloxyfucoxanthine
fuco	fucoxanthine
19'HF	19'-hexanoyloxyfucoxanthine
prasi	prasinoxanthin
diadi	diadinoxanthine
allo	alloxanthine
diato	diatoxanthine
zea	zéaxanthine
lut	luteine
dvchlb	divinyl-chlorophylle b
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

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-).
