Zeitschrift: Archives des sciences et compte rendu des séances de la Société
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 34 (1981)

Artikel: Analyse des acides gras et des stérols dans le plancton du lac Léman
Autor: Mermoud, François / Clerc, Odette / Gülaçar, Fazil O.
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-740073

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: 17.07.2025

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

Séance du 29 octobre 1981

ANALYSE DES ACIDES GRAS ET DES STÉROLS DANS LE PLANCTON DU LAC LÉMAN

PAR

François MERMOUD, Odette CLERC, Fazil O. GÜLAÇAR et Armand BUCHS *

RÉSUMÉ

Les lipides contenus dans 19 prélèvements du plancton du lac Léman, effectués au cours des années 1980 et 1981, ont été extraits et analysés. Les acides gras et les stérols, qui sont considérés comme d'importants marqueurs biologiques, ont été étudiés essentiellement dans le but de déterminer la contribution de l'apport autochtone à la matière organique déposée dans les sédiments du lac.

ABSTRACT

The lipidic fraction extracted from 19 samples of plankton of the lake Léman, which were collected during the years 1980 and 1981, has been analysed. The free fatty acids and the sterols, considered to be important biological markers, have been studied in order to determine the importance of the autochthonous deposit onto the sediments of the lake.

INTRODUCTION

Nous avons récemment entrepris une étude de l'incorporation de certains composés organiques, considérés comme traceurs biologiques, dans les sédiments du lac Léman et des transformations qu'ils y subissent. Or, la composition qualitative de la matière organique à la surface du sédiment et les transformations qui s'y produisent sont subordonnées au type de dépôt que subit ce sédiment. Ainsi, un apport autochtone présentera une empreinte qualitative différente de celle d'un apport terrestre, et cette empreinte se retrouvera tout au long de la diagénèse. Il est donc important de connaître la distribution et la nature de la matière organique qui se dépose dans la vase d'un lac ou d'une mer. Dans le cas du lac Léman, les apports terrestres sont très divers, en raison de la variété des bassins versants, qui comprennent des régions montagneuses drainées par le Rhône et la Dranse, des campagnes, ainsi que quelques

* Adresse des auteurs: Laboratoire de spectrométrie de masse de l'Université de Genève, 16, Boulevard d'Yvoy, 1211 Genève 4.

grandes villes comme Lausanne, Evian, Thonon, etc. La part de chacun de ces apports est évidemment difficile à déterminer. En revanche, l'analyse de l'apport interne ne présente pas cette difficulté et il nous a paru particulièrement intéressant d'analyser celui dû au plancton, d'autant plus qu'on observe depuis quelques années une eutrophisation croissante du lac (Lachavanne, 1981).

Cependant, les différentes analyses effectuées régulièrement depuis 1965, tant par la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman que par le Laboratoire de Biologie Végétale de l'Université de Genève, ont montré que la nature du plancton variait continuellement et que des espèces pouvaient fort bien dominer pendant un certain temps, puis disparaître totalement (Lang, 1974; Martin, 1975; Martin et Naef, 1977, 1978, 1979, 1980), alors que l'on pense généralement, bien que les analyses manquent à ce sujet, que, jusqu'en 1965 les diatomées étaient dominantes (Lachavanne, 1981).

En raison de cette évolution, nous avons décidé d'effectuer une série de prélèvements de plancton étalée sur une année, à raison de deux prélèvements par mois environ, afin de déterminer si une modification qualitative de la matière organique de ce plancton était observable d'un échantillon à l'autre. Pour l'analyse, nous avons réuni certains des prélèvements en tenant compte d'une part du moment où ils avaient été faits et d'autre part de la prédominance des différentes espèces. Nous avons ainsi analysé cinq mélanges, soit: été 1980 (A), automne 1980 (B), hiver 1980-1981 (C), printemps 1981 (D), ainsi qu'un mélange global, pondéré pour l'année étudiée (F). De plus, nous avons procédé à une analyse séparée du zooplancton uniquement, lorsque, pendant le mois d'avril et mai, celui-ci dominait fortement (E).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les prélèvements ont tous été effectués au large d'Hermance, au moyen d'un filet avec des mailles de 80 µm pour le phytoplancton et de 200 µm pour le zooplancton. Ces filets, auxquels était attaché un tube de récupération d'un volume de 150 ml fermé par un robinet en téflon, étaient plongés à une profondeur de 50 m avant d'être remontés lentement à la surface. Les prélèvements étaient immédiatement congelés, puis amenés au laboratoire et conservés à $-20°$ C en attendant d'être analysés.

Extraction

Après décongélation et acidification jusqu'à pH 4 par HCl 0,5 N, l'échantillon est filtré sur papier filtre. Pour récupérer la matière organique qui aurait pu être libérée lors de l'éclatement des organismes dû aux brusques variations de température, nous avons extrait le filtrat avec 3 aliquotes de 100 ml de CH_2Cl_2. Le résidu est broyé dans un mortier puis extrait 3 fois dans un bain à ultrasons, chaque fois

pendant 20 minutes, avec 50 ml de CH_2Cl_2. Les phases organiques sont réunies et le solvant est évaporé sous vide, à température ambiante.

Le résidu ainsi obtenu, généralement de couleur verte pour le phytoplancton et orange pour le zooplancton, représente la matière organique extractible (M.O.E.). Elle est conservée au réfrigérateur en attendant d'être analysée.

Séparation des différentes classes de composés

La séparation de la matière organique extraite en ses différentes classes de composés, comprenant notamment les acides gras, les hydrocarbures et les stérols, est effectuée selon le schéma de la figure 1.

On prépare tout d'abord une colonne (15 cm × 1 cm i.d.) selon la méthode décrite par McCarthy et Duthie (1962). Pour cela, on agite 5 g de Silicagel 60 (Merck) préextrait et conservé à 110° C avec 10 ml d'une solution de KOH dissous dans l'isopropanol (6,5% poids/volume) et 30 ml d'éther. La colonne, après sédimentation de la phase stationnaire, est lavée avec 100 ml d'éther. L'extrait organique composé essentiellement de lipides est dissous dans un volume minimum d'éther et déposé

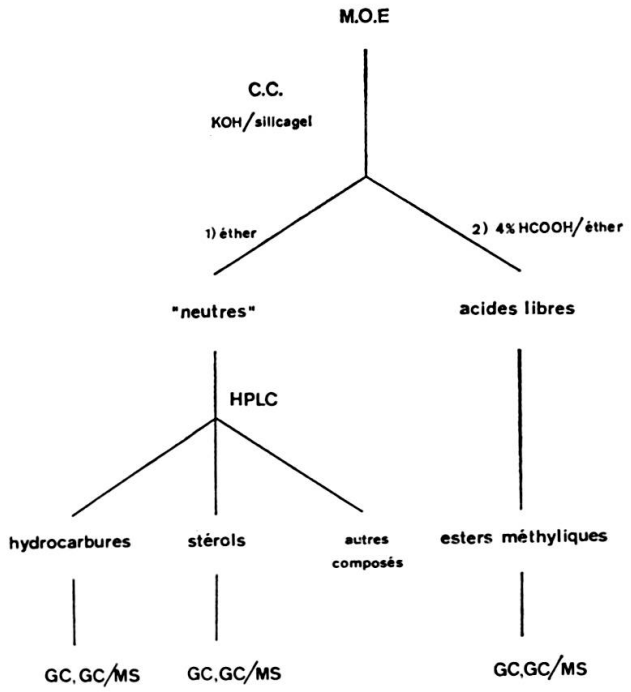

FIG. 1. — *Schéma de la séparation de la M.O.E. en classes de composés.*

C.C. : chromatographie sur colonne.
HPLC : chromatographie liquide à haute pression.
GC : chromatographie en phase gazeuse.
GC/MS: couplage d'un chromatographe en phase gazeuse et d'un spectromètre de masse.

en tête de colonne. On élue successivement avec 150 ml d'éther pour obtenir les « neutres », 50 ml d'une solution d'acide formique dans l'éther (4%) et 100 ml d'éther pour récolter les acides libres.

Les « neutres » sont ensuite repris dans 1.5 ml de n-hexane et séparés en plusieurs classes par chromatographie liquide à haute pression (HPLC) avec un chromatographe Waters Associates au moyen d'une colonne μ'-Porasil™ de 30 cm × 0.39 cm i.d., en faisant passer tout d'abord 20 ml de n-hexane pendant 5 minutes, puis en augmentant linéairement la proportion de CH_2Cl_2 de 0 à 100% en 20 minutes avec un débit de 4 ml/minute.

Analyses qualitatives

Les acides libres, après avoir été estérifiés selon la méthode décrite par West (1975), sont analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectomètre de masse (GC/MS) FINNIGAN 4021, avec une colonne capillaire en verre de type méthyl-silicone (SE-54, OV-1 ou SP-2100), et injection « splitless ».

Les stérols sont analysés directement, sans dérivatisation, sur une colonne capillaire en verre SP-1000 (20 m × 0.31 mm i.d., JAEGGI AG, Trogen, Suisse).

L'identification des différents composés est faite sur la base de leurs temps de rétention et de leurs spectres de masse, en les comparant à ceux de substances de référence obtenues commercialement ou synthétisées dans notre laboratoire.

Analyses quantitatives

Comme il n'est pas possible d'effectuer ces analyses par pesée à cause des très faibles quantités de substance extraite, nous avons eu recours à un chromatographe en phase gazeuse CARLO ERBA Fractovap 4160, équipé d'un injecteur « on-column » pour colonnes capillaires, et connecté à un intégrateur HEWLETT-PACKARD 3388 A. On utilise des colonnes identiques à celles employées pour les analyses qualitatives, en coinjectant une quantité connue d'une substance de référence et de l'échantillon à analyser, après avoir déterminé un facteur de réponse moyen. Il faut noter également que pour chaque classe de composés, une substance de référence est ajoutée au début des analyses afin de déterminer d'éventuelles pertes.

Compte tenu des différences de propriétés des substances rencontrées au cours d'une même chromatographie et des variations de la réponse du détecteur FID en fonction des composés, des erreurs de ±10% pour ces mesures quantitatives sont possibles.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Au cours de l'année étudiée, la diversification du phytoplancton lémanique observée maintenant depuis une quinzaine d'années s'est poursuivie. Cependant, de nombreux prélèvements (11 sur 19) contenaient principalement des Diatomées,

notamment *Asterionnella formosa* (Naef, 1981). D'autre part, les prélèvements effectués entre avril et juin sont les seuls à présenter une prépondérance du zooplancton sur le phytoplancton. On y enregistre notamment une présence importante de *Cyclops strenuus*, de la famille des Copépodes. De tels développements rapides du zooplancton au printemps ont été fréquemment rapportés (Martin et Naef, 1977, 1978, 1979, 1980) dans le cas du lac Léman ce qui nous a conduit à analyser séparément le plancton récolté durant cette période.

Ainsi, dans les analyses effectuées, deux concernent des prélèvements dans lesquels les Diatomées dominaient fortement, alors que dans les autres cas, on rencontre également en proportion importante d'autres espèces typiques du lac Léman au cours de ces dernières années.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail uniquement aux acides gras et aux stérols, bien que d'autres classes de composés soient présentes en quantité importante (hydrocarbures, alcools, etc.). Ce choix a été motivé par l'intérêt que présentent ces deux classes de composés en tant que marqueurs biologiques.

Acides gras libres

Les acides gras libres obtenus après séparation des autres lipides sur une colonne chromatographique basique (fig. 1) sont ensuite transformés en esters méthyliques (West, 1975) afin de permettre leur analyse par chromatographie en phase gazeuse et pour faciliter leur détection et leur interprétation par GC/MS. En effet, l'estérification augmente la volatilité d'une part et facilite d'autre part l'identification des acides gras saturés, linéaires ou ramifiés par la présence, en spectrométrie de masse, d'un ion abondant, formant généralement le pic de base à m/z 74, obtenu par un réarrangement du type Mc Lafferty, ainsi que d'autres ions caractéristiques à m/z 87, 143, 199 (Budzikiewicz et al., 1967) et $[M\overset{+}{\circ}\text{-}31]^+$. Il est ainsi possible de détecter par fragmentographie de masse de ces ions des composés peu abondants, ou qui seraient masqués par d'autres substances éluées simultanément.

Les analyses effectuées sur le plancton lémanique, aussi bien pour le zooplancton que pour le phytoplancton, présentent toutes une distribution monomodale des acides libres centrée en C_{16}, l'acide palmitique représentant à lui seul 30 à 55% du total des acides (fig. 2*a*). Cette distribution est très nettement dominée par les acides avec un nombre pair d'atomes de carbone, puisqu'on note un index de préférence (CPI_L) moyen, calculé selon la méthode de Matsuda et Koyama (1977), de 27,3 pour le phytoplancton et de 16,3 pour le zooplancton. La quantité d'acides lourds ($>C_{20}$) par rapport aux acides légers est faible; ces acides lourds sont parfois même totalement absents. Cette caractéristique est très importante pour décider d'une origine autochtone ou allochtone d'un dépôt, puisque les plantes terrestres présentent non seulement une distribution bimodale des acides, mais qu'elles contiennent également des acides lourds en quantité importante (Albrecht et Ourisson, 1971).

TABLEAU 1. — *Composition en % des acides libres extraits du plancton du lac Léman pour divers prélèvements.*

index [a]	Acide [b]	A		B		C		D		E	F	
		phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	zoo	phyto	zoo
	12: 0	0.4	0.6	0.2	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	tr.	0.1
	13: 0	n.d.	n.d.	tr.	tr.	0.1	0.2	tr.	0.1	tr.	tr.	tr.
	br. 14	0.2	0.2	0.1	0.2	tr.	0.1	0.1	0.1	0.4	0.1	0.1
a	14: 0	17.3	10.5	18.6	15.8	10.5	12.3	16.8	15.2	8.9	9.1	6.5
b	br. 15	1.5	2.4	0.7	2.3	2.7	2.5	0.7	1.6	6.1	0.5	2.6
c	15: 0	1.2	2.1	0.6	1.5	1.1	2.0	1.0	1.3	1.3	0.4	0.6
d	insat. 16	0.8	0.8	29.0	12.8	11.0	4.7	28.7	18.5	10.3	22.7	12.6
e	16: 0	52.6	53.2	30.1	42.3	31.4	38.1	24.9	29.4	38.6	15.3	28.2
f	br. 17	1.0	1.8	0.3	1.3	2.1	3.5	1.0	1.4	2.2	0.5	1.4
g	17: 0	1.7	3.2	0.7	2.0	1.8	2.5	1.1	1.5	1.8	0.3	1.0
h	insat. 18	8.1	1.3	11.0	10.1	22.4	13.3	17.8	21.2	20.1	25.0	25.4
j	18: 0	3.7	10.7	7.8	7.7	4.6	6.2	3.8	4.7	4.9	2.3	4.0
k	insat. 20	5.9	8.7	n.d.	1.3	6.2	4.5	1.3	1.2	1.9	17.9	11.3
	20: 0	1.2	0.8	tr.	tr.	0.3	0.4	0.2	0.2	tr.	0.2	0.2
	21: 0	0.2	0.4	n.d.	n.d.	0.2	n.d.	tr.	0.1	n.d.	n.d.	n.d.
l	insat. 22	1.4	n.d.	0.3	0.2	3.6	2.5	0.6	0.3	0.3	4.7	7.3
m	22: 0	n.d.	n.d.	0.2	0.3	0.5	0.5	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2
n	23: 0	0.2	0.5	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	0.1	n.d.	tr.	tr.
o	insat. 24	0.4	0.7	n.d.	n.d.	0.7	2.1	0.3	0.4	n.d.	0.1	0.4
p	24: 0	1.8	1.5	n.d.	n.d.	tr.	0.5	0.3	0.2	n.d.	0.1	tr.
	CPI_L	24.9	13.1	39.9	17.6	14.9	11.5	21.2	16.3	16.3	35.5	23.0
	mg d'acide/g mat. sèche	8.6	9.9	10.2	10.4	69.1	67.8	10.1	9.5	n.d.	18.7	19.8

A : prélèvements du 26 août au 19 octobre 1980; pas de nette prédominance; présence fréquente de Diatomées *(Asterionnella form.)*, Cériatiacées *(Ceratium hirund.)* et Ulothricacées *(Mougeotia et Ulothrix)*.

B : prélèvements du 27 octobre au 9 décembre 1980; prédominance de Diatomées *(Asterionnella form.)*.

C : prélèvements du 21 janvier au 23 mars 1981; prédominance de Diatomées *(Asterionnella form., Fragilaria crot., Synedra acuus)*.

D : prélèvements du 14 avril au 7 juillet 1981; prédominance de Diatomées *(Stephanodiscus hant., Asterionnella form.)*.

E : prélèvements du 20 mai 1980; le zooplancton (surtout les Copépodes) domine fortement.

F : mélange général, pondéré, pour l'ensemble des prélèvements.

[a]) : les lettres se réfèrent aux chromatogrammes de la figure 2.

[b]) : l'acide nonadécanoïque (19:0) utilisé comme référence interne au début des analyses, n'est pas considéré.

n.d.: n'a pas pu être déterminé.

tr. : < 0,1%.

br. : acides saturés ramifiés.

Les acides gras insaturés sont par contre nombreux et se trouvent en quantité relativement importante. Parmi ceux-ci, l'acide hexadécènoïque (16:1) et l'acide octadécènoïque (18:1), sans que la position de l'insaturation ait pu être déterminée, sont généralement les plus abondants. Mais on rencontre également des acides polyinsaturés 16:2, 18:2, 18:3, 20:3, 20:4 et 22:6. Cependant ces acides insaturés sont sujets à une dégradation bactérienne rapide, aussi bien *in situ* avant et pendant leur incorporation dans les sédiments (Kawamura et al., 1980) qu'au laboratoire. Nous avons en effet observé que des transformations ont lieu après quelques semaines déjà, même quand les échantillons sont conservés à basse température. Pour ces raisons leurs quantités relatives sont très variables, comme cela ressort du tableau 1. Il est par conséquent inutile de les considérer comme marqueurs biologiques puisque, dans le cas du lac Léman, ils ont presque totalement disparu au-dessous d'une profondeur de 4 à 5 cm de sédiment; seul l'acide octadécènoïque est encore rencontré plus profondément dans les sédiments [1].

On trouve dans le tableau 1 les quantités relatives des différents acides gras pour le phytoplancton et pour le zooplancton analysés dans les différents mélanges du plancton lémanique. On constate que la quantité d'acides libres par rapport à la masse de la matière sèche est relativement constante. Elle oscille entre 1 et 2%, ces valeurs dépendant essentiellement de la quantité d'acides insaturés qui n'ont pas été transformés pendant le stockage précédant l'analyse. On observe en outre quelques différences entre le phyto- et le zooplancton quant à la répartition des acides. Ainsi, l'acide palmitique est toujours beaucoup plus abondant dans le zooplancton que dans le phytoplancton; il en est de même pour les acides linéaires saturés à nombre impair d'atomes de carbone, ce qui explique la différence entre les CPI_L des deux types de plancton. D'autre part, les acides ramifiés qui se trouvent essentiellement sous la forme des acides iso- et anteiso pentadécanoïque et heptadécanoïque, sont plus importants dans le zooplancton. Par contre le rapport iso/anteiso est constant pour les deux planctons, mais pour l'acide pentadécanoïque, il est supérieur (3.0 ± 0.6) à celui de l'acide heptadécanoïque (0.7 ± 0.4).

Ces observations, notamment celles concernant la distribution monomodale des acides et la faible teneur en acides lourds, permettent de mieux connaître le type de dépôt rencontré dans le sédiment du lac Léman. Quand on considère les résultats de l'analyse qualitative des acides gras libres dans le sédiment de surface du lac (fig. 2*b*), on constate qu'on a une très forte prépondérance des acides légers ($< C_{20}$) sur les acides lourds et parallèlement on observe une excellente corrélation entre la répartition relative des acides dans le plancton et dans le sédiment. Il faut cependant remarquer que la distribution de ces acides dans les sédiments de surface reste bimodale, centrée en C_{16} et C_{24}. Ces observations sont en parfait accord avec l'hypothèse

[1] Les résultats concernant ces sédiments seront publiés ultérieurement.

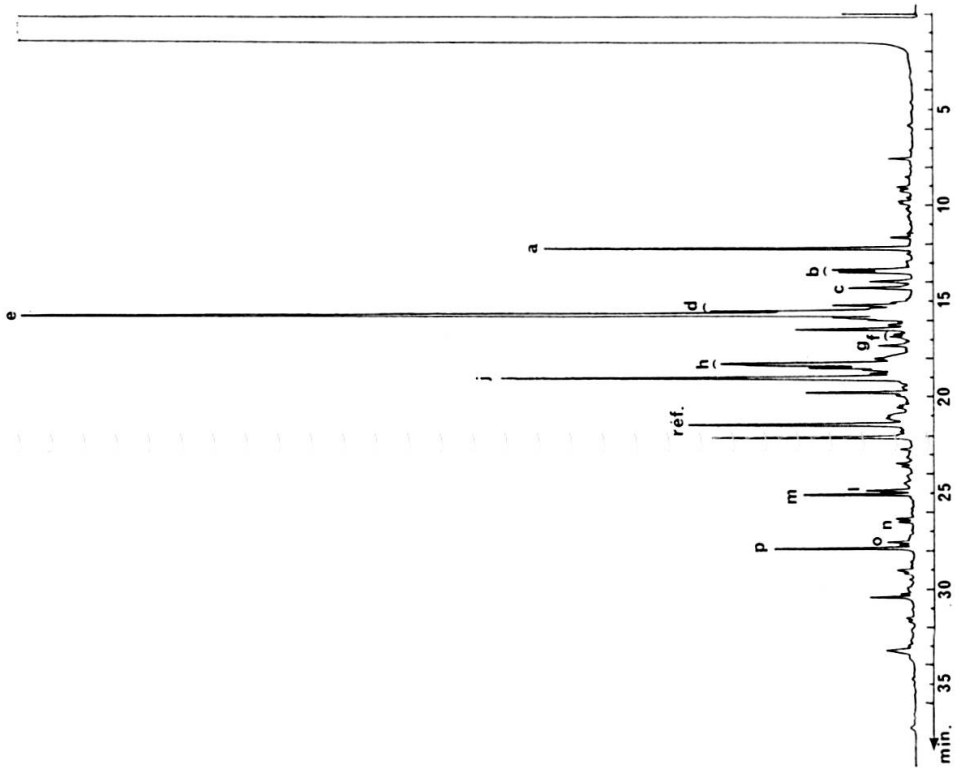
a
b
c
d
e
f
g
h
j
réf.
m
l
n
o
p
5
10
15
20
25
30
35
min.

Fig. 2b

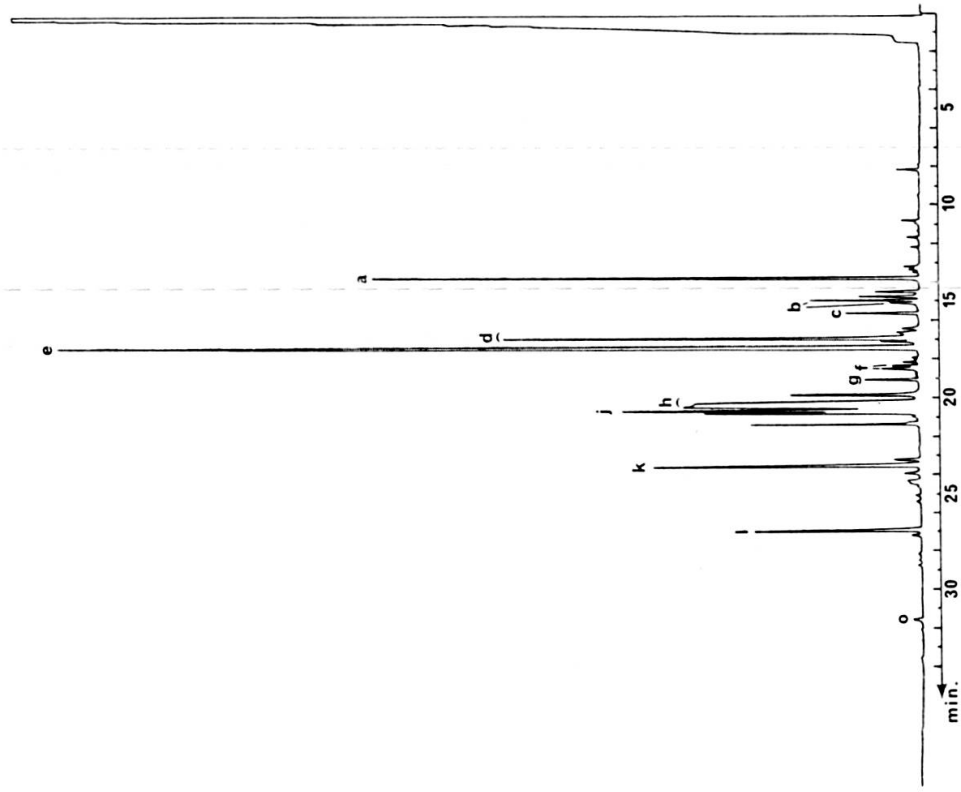
a
b
c
d
e
f
g
h
j
k
l
o
5
10
15
20
25
30
min.

Fig. 2a

d'une origine planctonique importante des lipides incorporés dans les sédiments, en raison probablement de la récente eutrophisation du lac.

Stérols

Malgré la variété des composés stéroïdiques qu'on rencontre dans la nature ces derniers présentent un grand intérêt pour la géochimie des sédiments. En effet, tant le plancton que les plantes supérieures ont une composition en stérols relativement restreinte et essentiellement limitée à des composés ayant généralement 27 atomes de carbone (parfois seulement 26; Ferezou et al., 1974) pour les organismes les moins développés et 29 pour les plantes supérieures. De plus, la distribution des stérols est en général typique de certaines espèces ce qui permet de déterminer l'origine du matériel déposé. C'est ainsi que dans les Rhodophycées, qui sont des algues primitives, on observe en majorité des stérols en C_{27} alors que les Phaeophycées, proches des plantes supérieures, contiennent une proportion importante de stérols en C_{29}. Par contre, dans les algues vertes (Chlorophycées) on peut trouver selon les espèces une prédominance de stérols ayant 27, 28 ou 29 atomes de carbone; le seul point commun réside dans la stéréochimie de l'atome de carbone asymétrique C(24), qui a la configuration S (Goodwin, 1974; Artaud et al., 1980). Malgré le fait que l'on rencontre dans les plantes terrestres des stérols de même nature que ceux du plancton, on peut reconnaître leur provenance par la mesure du rapport C_{29}/C_{27}. Ce rapport est en effet beaucoup plus élevé dans les plantes terrestres, où il est généralement bien supérieur à 1, que dans le plancton (Nishimura, 1978; Huang et Meinschein, 1979).

Dans le cas du plancton du lac Léman nous observons toujours une forte prépondérance de stérols en C_{27} (tableau 2). Cette prédominance est en règle générale plus forte pour le zooplancton que pour le phytoplancton. On ne rencontre essentiellement que deux stérols en C_{27}, le *cholest-5-ène-3-ol* ou cholestérol **(1)** et son homologue 22, 23 déhydro **(6)**; ces deux substances représentent généralement plus de 80% de la fraction stéroïdique. On trouve cependant une quantité importante de stérols en C_{28} **(2, 4, 7)**, notamment dans le phytoplancton. Ces stérols se rencontrent en proportion plus importante dans les prélèvements B et D où les Diatomées dominent. Si le *24-méthyl-cholesta-5,22-diène-3-ol* ou brassicastérol **(7)** est généralement le stérol

---

FIG. 2*a*). — *Esters méthyliques des acides libres présents dans le plancton du lac Léman* (moyenne pondérée pour l'année 1980-1981). Conditions: colonne capillaire en verre, SP-2100, 10 m × 26 mm; 60° pendant 2 min., de 60° à 150°: 10°/min., de 150° à 260°: 4°/min., isotherme 260°; injecteur: 275°; injection « splitless »; gaz vecteur: He. Les lettres renvoient au tableau 1.

FIG. 2*b*). — *Esters méthyliques des acides libres présents dans le premier centimètre de sédiment du lac Léman* (prélèvement effectué à 309 m de profondeur). Mêmes conditions que sur la fig 2*a*), sauf programmation de 150° à 260°: 5°/min.

TABLEAU 2

Composition en % des stérols du plancton du lac Léman pour l'année 1980-1981 (A à F) *et du premier centimètre de sédiment* (G).

index [a]	Stérols	A		B		C		D		E		F		G
		phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	phyto	zoo	
	C_{27} sténols													
6	*cholesta-5,22-diène-3-ol*	4.4	5.1	10.0	6.9	2.9	2.0	5.4	3.0	6.4	2.6	5.8	0.9	6.8
1	*cholest-5-ène-3-ol*	80.8	90.5	45.8	79.2	87.5	81.3	77.1	59.0	46.8	93.7	72.1	74.8	30.9
		85.2	95.6	55.8	86.1	90.4	83.3	82.5	62.0	53.2	96.3	77.9	75.7	37.7
	C_{28} sténols													
7	*24-méthyl-cholesta-5,22-diène-3-ol*	9.9	3.0	24.5	2.6	n.d.	1.5	8.6	3.5	10.7	2.0	9.8	1.1	13.1
2	*24-méthyl-cholest-5-ène-3-ol*	n.d.	n.d.	1.5	2.1	4.1	2.1	1.8	2.6	9.5	1.5	3.6	1.8	7.4
4	*24-méthylène-cholest-5ène-3-ol*	1.0	0.2	12.1	7.0	0.9	1.2	2.7	6.1	18.5	0.1	4.0	4.5	n.d.
		10.2	3.2	38.1	11.7	5.0	4.8	13.1	12.2	40.6	3.6	17.4	16.4	20.5
	C_{29} sténols													
8	*24-éthyl-cholesta-5,22-diène-3-ol*	0.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.1	0.9	n.d.	n.d.	0.4	1.1	2.8
3	*24-éthyl-cholest-5-ène-3-ol*	2.8	0.9	5.6	2.1	1.6	1.2	1.2	0.1	5.2	0.1	1.7	1.0	7.0
		3.4	0.9	5.6	2.1	1.6	1.2	1.3	1.0	5.2	0.1	2.1	2.1	14.2

5	*Stanols*													
	5α-cholestan-3-ol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.3	1.2	1.0	1.0	1.0	n.d.	1.1	1.4	11.3
	5β-cholestan-3-ol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.4
	5α-cholest-22-ène-3-ol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.5
	24-éthyl-cholestan-3-ol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.4
		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.3	1.2	1.0	1.0	1.0	n.d.	1.1	1.4	24.6
	Cétones stéroïdiques	0.6	n.d.	n.d.	n.d.	2.7	9.6	2.1	23.8	tr.	n.d.	tr.	13.6	7.4
	Rapport C_{29}/C_{27}	0.04	0.01	0.10	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.10	0.00	0.03	0.03	0.38

Les analyses A, B, C, D et F se rapportent aux mêmes prélèvements que ceux qui figurent dans le tableau 1.

E : phytoplancton: prélèvement du 31 juillet 1980; prédominance d'une Chrysophycée *(Dynobrion)*.
zooplancton: même prélèvement que dans le tableau 1.

n.d.: n'a pas pu être déterminé.

tr. : < 0,1%.

a) : les numéros correspondent aux stérols dont la structure est donnée dans la figure 3.

en C_{28} le plus abondant, dans un cas, lors de la pêche effectuée le 31.7.1980 (E) et analysée séparément en raison d'une présence importante de *Dynobrion* (Chysophycée), la classe des C_{28} comprenait surtout du *24-méthylène-cholest-5-ène-3-ol* ou chalinastérol **(4)**. Dans ce prélèvement nous avons aussi observé la présence d'un quatrième stérol en C_{28}, le *24-méthyl-cholesta-7,22-diène-3-ol* **(9)**. Les stérols **2, 4** et **7** se trouvent également dans tous les prélèvements effectués avec le filet de 200 μm, mais en moins grande quantité. Ceci provient probablement du fait que la séparation des deux types de plancton par les filets n'est pas complète; il arrive parfois que l'on retrouve du phytoplancton, notamment des algues filamenteuses, dans le filet de 200 μm.

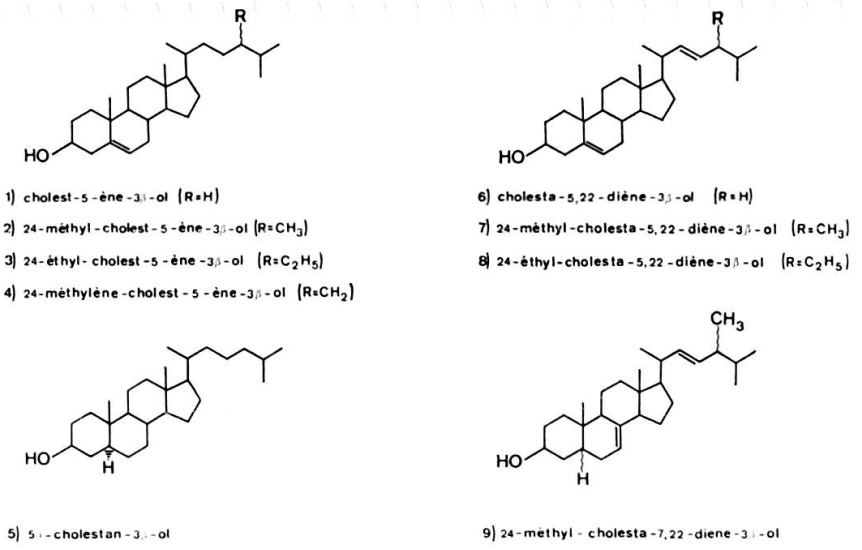

FIG. 3. — *Structure des principaux stérols rencontrés dans le plancton du lac Léman.*

N.B. La stéréochimie de l'atome de carbone 24 n'a pas pu être déterminée, la faible quantité de matière analysée ne permettant pas l'utilisation de la spectroscopie RMN.

La faible proportion de stérols en C_{29} est très intéressante dans l'optique de l'étude du type d'apport subi par le sédiment du lac Léman. Les seuls représentants de cette classe que nous avons détectés sont le *24-éthyl-cholesta-5,22-diène-3-ol* ou stigmastérol **(8)**, dont la proportion est inférieure à 1%, et le *24-éthyl-cholest-5-ène-3-ol* ou sitostérol **(3)**, qui représente le 1 à 5% des stérols du phytoplancton, et le 0.1 à 2.0% des stérols du zooplancton.

La principale différence entre les deux types de plancton, à part l'aspect quantitatif, réside dans la présence importante de cétones stéroïdiques dans le zooplancton dans les prélèvements C, D et F (fig. 4*a* et *b*). Quatre cétones stéroïdiques ont ainsi été observées, dont deux ont pu être totalement identifiées; il s'agit de la *cholesta-3,5-diène-7-one* (**10,** fig. 4*b*) et de la *cholest-4-ène-3-one* (**11,** fig. 4*b*), cette dernière cétone étant généralement la plus abondante. La première est cependant la seule

qui soit également présente dans le phytoplancton. Quant aux deux autres cétones, éluées l'une (**12,** fig. 4*b*) dans la queue du chalinastérol **(4)** et l'autre (**13,** fig. 4*b*) juste après le sitostérol **(3)**, il doit s'agir d'homologues en C_{28} et C_{29} respectivement de la cétone **10** mais aucune preuve n'a pu être apportée pour confirmer cette hypothèse. Enfin on constate, comme cela avait déjà été observé par Nishimura (1977), que l'abondance de stanols dans les organismes vivants est très faible, puisque seul le *5α-cholestan-3-ol* ou cholestanol **(5)** se retrouve régulièrement dans nos échantillons; sa concentration ne dépasse cependant guère 1% des stérols totaux. Dans un seul cas (A), nous pensons avoir encore détecté l'homologue supérieur, soit le *24-méthyl-5α-cholestan-3-ol* ou campestanol, mais à l'état de trace seulement.

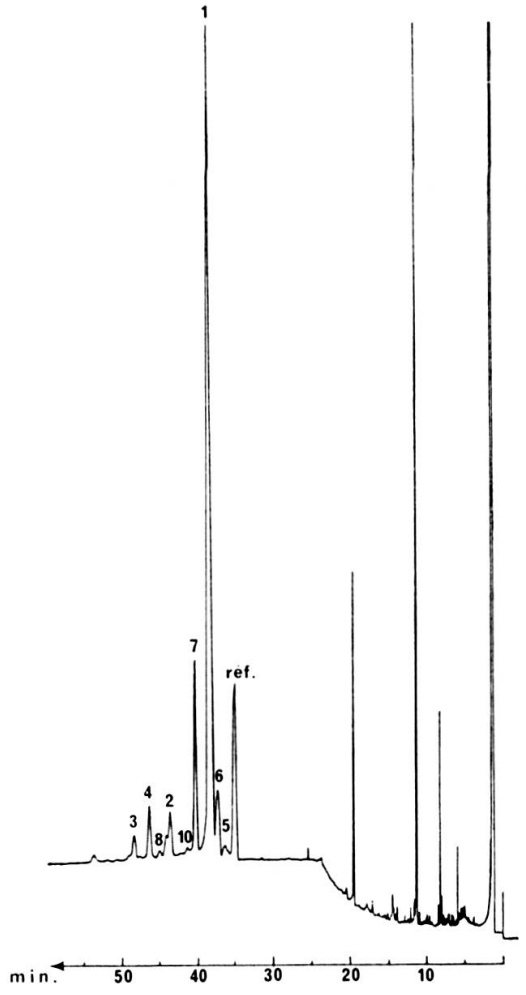

Fig. 4a

FIG. 4*a*). — *Stérols présents dans le phytoplancton du lac Léman.*

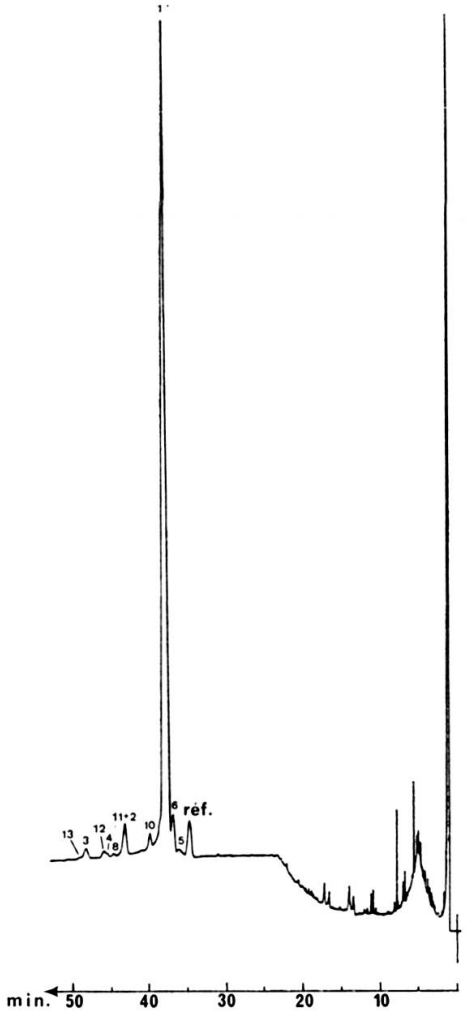

Fig. 4b

FIG. 4*b*). — *Stérols présents dans le zooplancton du lac Léman.*

(Moyennes pondérées des prélèvements de l'année 1980-1981). Conditions: colonne capillaire en verre, SP-1000, 20 m × 0,31 mm; injection « on-column » à 60°, de 60° à 180°: 30°/min., de 180° à 250°: 4°/min., isotherme 250°. Les numéros correspondent aux composés dont la structure est donnée dans le texte et dans la figure 3.

Si on compare les résultats obtenus avec la fraction stéroïdique du sédiment de surface à ceux du plancton lémanique (tableau 2), on constate que l'apport autochtone est très important comme l'indiquait déjà l'analyse des acides gras. Cependant, pour l'étude de la diagénèse on ne peut pas négliger la part prise par l'apport terrestre. En effet, si on retrouve dans les sédiments tous les stérols du plancton, on observe néanmoins quelques différences significatives au niveau des concentrations relatives. Tout d'abord on observe dans les premiers centimètres de sédiment déjà une forte proportion de stanols (env. 25%) qui ne proviennent pas des organismes vivants. Ils doivent donc soit avoir été produits *in situ*, par une réduction bactérienne rapide, soit provenir d'une source extérieure. Au vu des premiers résultats d'une série d'incubations de cholestérol deutéré qui est en cours dans notre laboratoire, la première hypothèse semble peu probable, alors que la seconde est renforcée par la forte concentration du sédiment de surface en *5β-cholestan-3-ol* ou coprostanol ($> 5\%$), qui est un isomère du cholestanol **(5)** et que l'on trouve en général dans les matières fécales (Ogura, 1975). D'autre part, le rapport C_{29}/C_{27} passe de 0,05 dans le plancton à 0,38 dans le sédiment de surface, ce qui reflète également la participation des plantes supérieures au dépôt. Enfin, on observe dans le sédiment une forte diminution de la proportion des cétones stéroïdiques, seules la *cholestan-3-one* et la *cholest-4-ène-3one* (**11,** fig. 4*b*) ayant été mises en évidence dans les premiers centimètres de sédiment. Dans le cas du plancton la teneur en *cholestan-3-one* n'a pas pu être déterminée car cette substance a été utilisée comme standard interne. Cette faible teneur du sédiment en cétone n'est pas étonnante puisque ces composés ont été observés surtout dans le zooplancton qui ne représente finalement qu'une part très faible de l'apport total à la matière organique sédimentaire (Tissot et Welte, 1978).

CONCLUSION

L'analyse de la matière organique extractible du plancton lémanique que nous avons faite pour la période 1980-81 n'est certes pas exhaustive et elle ne doit pas être extrapolée sur une très longue période. Elle nous a cependant permis de mettre en évidence, tant pour les acides libres que pour les stérols, qu'une grande proportion de la matière organique incorporée dans le sédiment du lac Léman est d'origine autochtone. C'est du moins le cas pour les 20 dernières années, et ceci souligne l'état d'eutrophisation croissante de ce lac. Il semble en effet que le type de dépôt se soit fortement modifié depuis une vingtaine d'années car la composition des stérols rencontrés à une profondeur de 5 à 6 cm dans le sédiment est qualitativement très différente de celle observée de nos jours [1]. Ainsi, l'observation de l'évolution du Léman

[1] Des résultats plus complets seront publiés ultérieurement.

vers une eutrophisation croissante faite dans de nombreux laboratoires riverains et au travers d'analyses variées se trouve confirmée par nos résultats.

A partir de ces analyses nous avons ainsi pu dégager un schéma général de l'aspect qualitatif du dépôt de la matière organique dans le sédiment et c'est sur la base de ce schéma que nous pourrons analyser et comprendre les modifications de structure des molécules dans les premiers centimètres de sédiments, et par la suite connaître l'évolution diagénétique qui en découle.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été en partie financé par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (Subside n° 2093-0.78), auquel nous exprimons notre gratitude. Nous tenons également à remercier le Dr. Jacques NAEF du Département de Biologie Végétale de notre Université grâce auquel nous avons pu effectuer les prélèvements et qui a déterminé pour nous les espèces dominantes dans chaque prélèvement.

RÉFÉRENCES

ALBRECHT, P. and G. OURISSON (1971). *Biogenic Substances in Sediments and Fossils.* Angew. Chem. Int. Ed. 10, 209-225.

ARTAUD, J., M. C. IATRIDES, C. TISSE, J. P. ZAHRA et J. ESTIENNE (1980). *Etudes chromatographiques et spectroscopiques de stérols : application aux stérols d'algues.* Analusis, 8, 277-286.

BUDZIKIEWICZ H., C. DJERASSI and D. H. WILLIAMS (1967). *Mass Spectrometry of Organic Compounds.* Holden Day, San Francisco.

FEREZOU, J. P., M. DEVYS, J. P. ALLAIS et M. BARBIER (1974). *Sur le stérol à 26 atomes de carbone de l'algue rouge (Rhodymenia palmata).* Phytochem., 13, 593-598.

GOODWIN, T. W. (1974). *Sterols.* Bot. Monograph, 10, 266-280.

HUANG, W. Y. and W. G. MEINSCHEIN (1979). *Sterols as ecological indicators.* Geochim. Cosmochim. Acta, 43, 739-745.

KAWAMURA, K., R. ISHIWATARI and M. YAMAZAKI (1980). *Identification of polyunsaturated fatty acids in surface lacustrine sediments.* Chem. Geol., 28, 31-39.

LACHAVANNE, B. (1981). *L'eutrophisation du Léman.* Bulletin 2002, mai, 27-32.

LANG, C. (1974). *Etude du phytoplancton des eaux vaudoises du Léman.* Rapport sur les études et recherches entreprises dans le bassin lémanique, programme quinquennal 1971-1975, 69-89.

MARTIN, P. (1975). *Plancton du lac Léman.* C.R. des Séances, SPHN, Genève, N.S. 11 (1-3), 22-27.

MARTIN, P., et J. NAEF. *Plancton du Léman.* C.R. des Séances, SPHN, Genève,
(1977). N.S. 12 (2-3), 96-102.
(1978). N.S. 13 (2-3), 98-107.
(1979). N.S. 14 (1), 12-25.
(1980). N.S. 15 (1), 38-56.

MATSUDA, H. and T. KOYAMA (1977). *Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments. II—A statistical approach to changes in fatty acid composition from recent sediments and some source material.* Geochim. Cosmochim. Acta, 41, 1825-1834.

MC CARTHY, R. D. and A. H. DUTHIE (1962). *A rapid quantitative method for the separation of free fatty acids from other lipids.* J. Lipid Res., 2, 117-119.

NAEF, J. (1981). Communication personnelle.

NISHIMURA, M. (1977). *Origin of stanols in young lacustrine sediments* Nature, 270, 711-712.

NISHIMURA, M. (1978). *Geochemical characteristics of the high reduction zone of stenols in Suwa sediments and the environmental factors controlling the conversion of stenols into stanols.* Geochim. Cosmochim. Acta, 42, 349-357.

OGURA, K. (1975). *Coprostanol in the surface sediments of lake Biwa as an index of fecal pollution.* Paleolimn. of Lake Biwa and the Jap. Pleist., 263-276.

TISSOT, B. P and D. H. WELTE (1978). *Petroleum. Formation and Occurence*, Springer Verlag, Berlin.

WEST, J. C. (1975). *Rapid preparation of Methyl Esters from Lipids, Alkyd Paints, Polyesters Resins and Ester Plasticizers.* Anal. Chem., 47, 1708-1709.