

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة ساعد دحلب البلدية 1
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de
Master

Option : Biodiversité et Développement Durable

Thème

Dosage des Hydrocarbures Aromatiques
Polycycliques (HAP) chez la Magnoliophyte marine
indicatrice de pollution *Posidonia oceanica* (L.) Delile
présente sur le littoral algérois

Présenté le 18 juin 2015 par
Mme EDDALIA NABILA

Devant le jury composé de :

M. GUEDIOURA A. M.,	Maître-Assistant A	BPO – UB1	Président
M. LARBI-DOUKKARA K.	Maître de conférences B	BPO – UB1	Examineur
M. BENYAHIA N.	Maître-Assistant A	BPC – UB1	Examineur
Mme AMAROCHE N.	Maître-Assistant A	BPC – UB1	Promotrice

Promotion 2014/2015

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie notre Dieu, Allah, le Miséricordieux, l'Unique, le Puissant ... pour sa protection et son guide.

Je tiens à remercier vivement Mme AMAROUCHE N., ma promotrice, pour l'aide scientifique et morale qu'elle m'a apportée tout au long de ce mémoire.

Je tiens à remercier M GUEDIOURA, maitre assistant à l'université de Blida (UB1) de nous faire l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à remercier M BENYAHIA, maitre assistant à l'université de Blida (UBD1), d'avoir accepté de juger ce travail, ses remarques me seront certainement profitables.

Que M. LARBI-DOUKARA trouve ici l'expression de mes vifs remerciements.

Je tiens à remercier vivement le personnel de l'IAP (Boumerdès) M. AMEZIANE, Mme AIT OUAKLI et M. NAZEF pour leur disponibilité et leur dévouement dans ce travail.

J'adresse mes remerciements à M. et Mme SEMROUD pour leur accueil au sein de leur laboratoire.

Mes sincères remerciements s'adressent plus particulièrement à mon époux et à mes enfants qui m'ont soutenue tout au long de ce parcours.

Enfin, à tous mes amis, surtout Termoul Fatah qui a fait preuve de patience avec moi.

Résumé

L'objectif visé dans cette étude est la recherche des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) dans la partie foliaire de la Magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* (L.) Delile présente sur le littoral algérois. Pour cela, nous avons procédé au dosage de 15 HAP dans divers compartiments de la plante (limbes des feuilles adultes de rang 1 et 2, les pétioles correspondants, le reste des feuilles adultes et les feuilles intermédiaires), et ce, à l'île Agueli et au port de Khemisti en période estivale. Les HAP sont dosés à l'aide d'une chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un détecteur UV. Les résultats du dosage ont permis de faire une étude qualitative et non quantitative étant donné que les pics d'absorbances des extraits de HAP n'ont pu être bien séparés. 9 HAP ont pu être identifiés. Il ressort de cette étude que *Posidonia oceanica* a la capacité de bioaccumuler dans sa partie foliaire les composés organiques. Par ailleurs, les HAP détectés dans les deux stations révèlent une origine anthropique.

Mots clés : *Posidonia oceanica*, HAP, bioaccumulation, Ile Agueli, Bou Ismaïl, anthropique, HPLC-UV.

Abstract

The aim targeted in the present study is to research the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) within the leaf part of the marine Magnoliophyte *Posidonia oceanica* (L.) Delile that is to be found in the Algiers' coastline. In order to do so, we have proceeded to the dosing and measuring of 15 PAH in various areas of the plant (adult leaf blades from grade 1 and 2, as well as the corresponding petioles and the rest of the adult leaves and intermediary leaves), in the Agueli Island and at the Khemisti port, during summer period. The PAH dosing is done thanks to a high-performance liquid chromatography mass spectrometry method coupled to a UV detection method. The subsequent results helped in coming up with a qualitative study rather than a quantitative one since the PAH extracts' peaks of absorbance could not be separated satisfactorily enough. 9 PAH have been identified. The main conclusion to draw from this study is that *Posidonia oceanica* has the capacity to bioaccumulate within its leaf part the organic compounds. Besides, detected PAH in both locations turned out to have an anthropogenic origin.

Key-Words : *Posidonia oceanica*, PAH, bioaccumulation, Agueli Island, Bou Ismail, anthropogenic, HPLC-UV

ملخص

الهدف في هذه الدراسة هو البحث عن الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات في ورقة الحاضر ل *Posidonia Oceanica* Magnoliophyte البحرية **Delile** (L.) على الساحل الجزائري. لهذا، أننا تقدمنا إلى جرعة 15 متعددة الحلقات في أماكن مختلفة من النباتات (وضع طي النسيان الكبار يترك 1 و 2، وأعناق المقابلة، والباقي من الأوراق الكبار وأوراق المتوسطة)، وعلى جزيرة **Aguelli** وميناء **Khemisti** في فصل الصيف. بحس يتم قياس باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء إلى جانب الكشف عن الأشعة فوق البنفسجية. ساعدت نتائج الفحص إجراء دراسة الكمية والنوعية وليس كما قمم الامتصاصية مقتطفات من الهيئة العامة للإسكان لا يمكن فصلها بشكل جيد. وقد تم تحديد 9 متعددة الحلقات. ويبدو من هذه الدراسة أن ل *Posidonia Oceanica* لديه القدرة على التراكم الأحيائي في المركبات أوراق حصتها العضوية. وعلاوة على ذلك، الكشف متعددة الحلقات في المخطتين تظهر أصل اصطناعي.

HPLC-U، بوسماعيل، البشري، **Aguelli** ومتعددة الحلقات، التراكم، إيل **Posidonia Oceanica**

Liste des abréviations

AA Feuilles adultes autres

AcP : Acénaphène

AcPy : Acénaphylène

AD1 : Feuilles adultes 1

AD2 : Feuilles adultes 2

Ant: Anthracène

BaA : Benzo(a)anthracène

BaP : Benzo(a)pyrène

BbFL : benzo(b)fluoranthène

BghiP : Benzo(ghi)perylène

BkFL : Benzo(k)fluoranthène

Chr : Chrysène

DBA : Dibenzo(a,h)anthracène

FI : Feuilles intermédiaires

FL : Fluoranthène

Flu : Fluorène

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques

HPLC : chromatographie en phase liquide haute performance

InP: Indéno(1.2.3-c.d)pyrène

k_H : La constante de Henry

KOW : Coefficient de partage eau-octanol

M : Masse molaire

Nap : Naphtalène

P1 : Pétiole 1

P2 : Pétiole 2

Phe : Phénanthrène

POP : Polluants Organiques Persistants

Pvap : pression de vapeur

Pyr : Pyrène

S : Solubilité

US-EPA : Agence américaine de la protection de l'environnement

Liste des figures

Figure 1. Aspect général d'un herbier à <i>Posidonia oceanica</i> .	4
Figure 2. Distribution géographique de <i>Posidonia oceanica</i> en Méditerranée	4
Figure 3. Un rhizome plagiotrope de <i>Posidonia oceanica</i> portant des racines ainsi que des rhizomes orthotropes avec des faisceaux de feuilles à leurs extrémités	5
Figure 4. Structure d'un faisceau de feuilles de <i>Posidonia oceanica</i>	6
Figure 5. Consolidation du rhizome par les écailles.	6
Figure 6. Aspect général de la matre constituée par les rhizomes et le sédiment	7
Figure 7. Floraison de <i>Posidonia oceanica</i> .	7
Figure 8. La vie dans l'herbier à <i>Posidonia oceanica</i>	9
Figure 9. Liste des 16 HAP surveillés dans l'environnement selon les recommandations de l'USEPA (polluants prioritaires).	16
Figure 10. Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérogène) et du pyrène (non cancérogène)	20
Figure 11. Activation métabolique des HAP	22
Figure 12. Description schématique de susceptibilité des organismes marins aux hydrocarbures suivant leurs concentrations	28
Figure 13. Localisation des deux zones d'étude	33
Figure 14. Récolte des faisceaux de <i>Posidonia oceanica</i> en scaphandre autonome	34
Figure 15. Dissection d'un faisceau foliaire	35
Figure 16. Système d'extraction par Soxhlet.	37
Figure 17. Evaporateur rotatif	38
Figure 18. Principe de l'extraction sur colonne ouverte.	40
Figure 19. Diagramme du système HPLC utilisé.	41
Figure 21. Chromatogramme obtenu par injection de l'étalon mix.	45
Figure 22. Chromatogramme des échantillons de l'île Agueli	47
Figure 23. Chromatogramme des échantillons du Port de Khemisti	49
Figure 24. Pourcentage moyen des lipides totaux en fonction de la nature du tissu de <i>Posidonia oceanica</i> de l'île Agueli.	54
Figure 25. Pourcentage moyen des lipides totaux en fonction de la nature du tissu de <i>Posidonia oceanica</i> du Port de Khemisti	54

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification de la Magnoliophyte marine <i>Posidonia oceanica</i>	3
Tableau 2. Liste des HAP considérés par l'Organisation Mondiale de la Santé	15
Tableau 3. Caractéristiques physicochimiques des 16 HAP prioritaires	18
Tableau 4. Toxicité des HAP	21
Tableau 5. Sources et utilisation de quelques HAP	23
Tableau 6. Classification des hydrocarbures en fonction des propriétés générales qui déterminent leurs impacts écologiques	29
Tableau 7. Normes algériennes se rapportant aux concentrations seuil des hydrocarbures pouvant être contenues dans les rejets et les eaux de consommation.	31
Tableau 8. Concentrations des 15 HAP pour la préparation du mix.	42
Tableau 9 : Conditions opératoires du chromatographe HPLC-UV.	43
Tableau 10. Comparaison entre les temps de rétention (TR) des pics obtenus par l'étalon mix et les échantillons de l'île Agueli (AG)	48
Tableau 11. Comparaison entre les temps de rétention (TR) des pics obtenus par l'étalon mix et les échantillons du Port de Khemisti	51

Sommaire

Introduction	1
Partie I. Etude bibliographique	
Chapitre 1. <i>Posidonia oceanica</i>	
1. Généralités sur <i>Posidonia oceanica</i>	3
1. 1. Présentation et classification de <i>Posidonia oceanica</i>	3
1.2. Description et distribution	4
1.3. Ecologie	8
1.4. L'herbier de Posidonies : une oasis de vie	9
1.5. Importance et rôle des herbiers de Posidonies	10
1.6. Menaces sur l'herbier	12
1.7. Mesures de protection de l'herbier à Posidonies	13
Chapitre 2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	
2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HPA)	15
2.1. Caractéristiques physicochimiques	17
2.1.1. Propriétés physiques	17
2.1.2. Propriétés chimiques	19
2.3. Identification des différentes sources des HAP	22
2.4. Sources de contamination du milieu marin	25
2.5. Devenir des HAP en milieu marin	26
2.6. Impact écologique et écotoxicité	27
2.7. Surveillance de la contamination par les HAP dans les organismes	30
2.8. Réglementation existante et valeurs cibles	31

Partie II. Etude expérimentale
Chapitre 3. Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes	32
3.1. Description des stations	32
3.1.1. Baie de Zemmouri	32
3.1.2. Baie de Bou Ismaïl	33
3.2. Prélèvements et traitement des échantillons	34
3.2.1. Traitement phénologique des échantillons	35
3.3. Etude des teneurs en HAP	35
3.3.1. Préparation des échantillons avant analyse	35
3.3.2. Extraction des échantillons et purification des extraits	36
3.3.3. Analyse des échantillons	40
3.4. Dosage des lipides totaux	43
3.4.1. Principe de la méthode utilisée	43

Chapitre 4. Résultats et discussion

4. Résultats et discussion	45
4.1. Résultats du dosage des HAP	45
4.2. Teneurs en composés lipidiques chez <i>Posidonia oceanica</i>	54

Conclusion	56
-------------------	-----------

Références bibliographiques	58
------------------------------------	-----------

ANNEXES



Introduction

Introduction

La phanérogame marine *Posidonia oceanica* est présente le long de la plus grande partie des côtes de la Méditerranée, dont elle est endémique. Elle y constitue, entre le voisinage de la surface et 30-40 m de profondeur de vastes herbiers dont le rôle écologique et économique est très important en Méditerranée.

Toutefois, les herbiers à *Posidonia oceanica* ont fortement régressé, au cours des dernières décennies, dans de nombreux secteurs de Méditerranée, principalement au voisinage des grands centres industrialo-portuaires (Athènes, Napoli, Genova, Nice, Toulon, Marseille, Barcelone, etc.), mais aussi dans des secteurs relativement éloignés de ces centres urbains, par exemple les baies de Port-Man et de Port-Cros, Var, France (AUGIER et BOUDOURESQUE, 1970 ; RAMOS-ESPLA, 1984 ; PANAYOTIDIS et SIMBOURA, 1989).

Les causes de cette régression sont multiples : recouvrement des herbiers par des aménagements littoraux gagnés sur la mer tels que ports, digues, plages artificielles, endigages (MEINESZ et LAURENT, 1978), déficit ou excès de sédimentation dû à la modification des courants, consécutivement à des aménagements littoraux (BOUDOURESQUE et JEUDY DE GRISSAC, 1983), diminution de la transparence de l'eau due à l'eutrophisation ou à la turbidité (MEINESZ et LAURENT, 1978), pollution (DARMOUL *et al.*, 1979 ; AUGIER *et al.*, 1984), ancrages (AUGIER et BOUDOURESQUE, 1970), chalutages (ARDIZZONE et PELUSI, 1984) et enfin surpâturage par des herbivores (VERLAQUE, 1987).

Posidonia oceanica est considérée comme un bioindicateur fiable de la contamination des écosystèmes littoraux. Le choix de cette matrice pour l'évaluation de la qualité du milieu marin réside dans :

- sa capacité de rétention et d'accumulation des micropolluants difficilement détectables directement dans l'eau de mer ;
- son intérêt dans le suivi spatial et temporel de la contamination du milieu marin ;
- le suivi de la contamination de la chaîne alimentaire dont les applications se traduisent en termes de santé publique mais également en termes d'impacts écologiques de la contamination du milieu.

Par ailleurs, la pollution liée aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) est devenue une problématique environnementale fréquente dans le monde entier. Ces HAP font partie des Polluants Organiques Persistants (POP), définis par le protocole d'Aarhus (1998) et la convention de Stockholm (2001), deux traités internationaux dont l'objectif commun était de limiter les émissions de ces molécules capables de s'accumuler dans les différents compartiments de l'environnement et susceptibles d'être nocives ou toxiques pour la santé humaine et les ressources naturelles. La contamination des sols, des plantes et des eaux par ces polluants est souvent due aux activités anthropiques.

L'objectif principal de ce travail consiste à déterminer les niveaux de contamination des hydrocarbures polyaromatiques (HAP) chez *Posidonia oceanica* récoltée au niveau de deux sites soumis à des conditions d'anthropisation différentes : (i) une zone située dans la baie de Zemmouri (Est d'Alger): l'île Agueli ; et (ii) une zone fortement anthropisée, lieu de déversement de rejets située dans la baie de Bou Ismaïl (Ouest d'Alger) : le Port de Khemisti.

Cette étude contribuera à une meilleure connaissance de la pollution chimique et l'origine de la pollution que subissent les herbiers à Posidonie, premier écosystème à faire face aux nuisances humaines.

Ce travail se décline en deux parties.

La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont présentés :

- un premier chapitre qui résume l'état des connaissances actuelles sur les herbiers de Posidonies ;
- un deuxième chapitre dans lequel sont présentés les Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

La deuxième partie est dédiée à l'étude expérimentale et englobe :

- un chapitre présentant les méthodes de travail adoptées pour l'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques et les lipides totaux.

- un dernier chapitre dans lequel sont résumés les résultats et leur discussion.

Enfin, une conclusion avec quelques perspectives vient clore le travail.

Chapitre 1



*Posidonia
oceanica*

1. Généralités sur *Posidonia oceanica*

1. 1. Présentation et classification de *Posidonia oceanica*

La Posidonie, *Posidonia oceanica* (L.) Delile, est une Magnoliophyte marine (anciennement appelées Phanérogames marines) descendant de Magnoliophytes continentales retournées dans le milieu marin au Crétacé, il y a 120 à 100 millions d'années (Ma) ; lesquelles avaient quitté ce même milieu pour partir à la conquête des continents il y a 475 Ma, à l'ordovicien (ère primaire) (BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982 ; WELLMAN *et al.*, 2003).

Posidonia oceanica est une plante angiosperme monocotylédone sous-marine. Comme toutes les plantes à fleurs, elle a des racines, une tige rhizomateuse et des feuilles rubanées.

Il existe 12 genres et 60 espèces de Magnoliophytes marines dans le monde (KUO et HARTOG, 2001). En Méditerranée, seules 5 espèces sont recensées : *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, *Zostera marina* (Linnaeus), *Zostera nolti* Hornemann, *Halophila stipulacea* (Forsskal) et la plus abondante de tous, *Posidonia oceanica* (Linnaeus) dont la systématique est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1. Classification de la Magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* (KUO ET DEN HARTOG, 2001).

Phylum	Chlorophyta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Alismatidae
Ordre	Potamogetonales
Famille	Posidoniaceae
Genre	<i>Posidonia</i>
Espèce	<i>oceanica</i>

Notons que différentes variantes sur l'origine et la taxonomie des Magnoliophytes marines ont été décrites (DEN HARTOG, 1970 ; LARKUM & DEN HARTOG, 1989 ; HEMMINGA et DUARTE, 2000). L'utilisation de nouvelles techniques comme l'analyse des séquences du DNA et la chimiotaxonomie devraient permettre une meilleure compréhension de la phylogénie de ces plantes.

1.2. Description et distribution

Posidonia oceanica est une espèce endémique de la Méditerranée. Elle constitue entre 0 et 40 m de profondeur des peuplements très denses appelés herbiers (Figure 1) dans le biotope photophile de l'étage infralittoral. Ces herbiers forment un liseré presque continu tout autour de la Méditerranée (Figure 2) dont le rôle est comparable à celui de la forêt (LACAZE, 1993). La surface occupée par les herbiers, en Méditerranée, est estimée entre 25 000 et 50 000 km² (PASQUALILIN *et al.*, 1998).



Figure 1. Aspect général d'un herbier à *Posidonia oceanica*.

A l'Ouest, *P. oceanica* disparaît un peu avant le détroit de Gibraltar. A l'Est, elle est absente des côtes d'Egypte (à l'Est du delta du Nil), de Palestine, d'Israël et du Liban (POR, 1978). Elle ne pénètre pas en mer de Marmara ni en mer Noire.

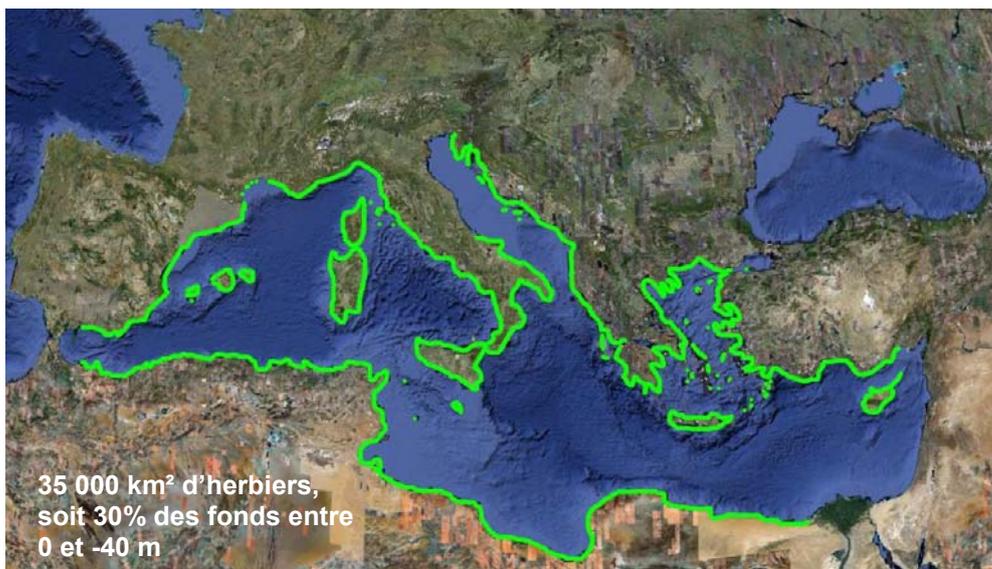


Figure 2. Distribution géographique de *Posidonia oceanica* en Méditerranée (d'après PERGENT *et al.*, 2012).

Enfin, elle est rare ou absente dans l'extrême Nord de l'Adriatique (ZALOKAR, 1942 ; GAMULIN-BRIDA, 1974) et le long des côtes languedociennes (BOUDOURESQUE ET MEINESZ, 1982).

La plante est constituée de tiges rampantes ou dressées, généralement enfouies dans le sédiment, appelées rhizomes. Les rhizomes rampants de croissance horizontale sont dits plagiotropes, et les rhizomes dressés de croissance verticale sont dits orthotropes. La différenciation entre ces deux types de rhizomes n'est jamais définitive, de sorte qu'un rhizome orthotrope pourra redevenir plagiotrope pour la recolonisation d'un espace vide (CAYE, 1980). Les rhizomes se terminent par des groupes de 4-8 feuilles (faisceaux), larges de 8-11 mm et longues de 20-80 cm en moyenne. Cette longueur peut toutefois atteindre 156 cm. Les rhizomes portent également des racines, qui peuvent descendre jusqu'à 70 cm dans le sédiment (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006) (Figure 3).

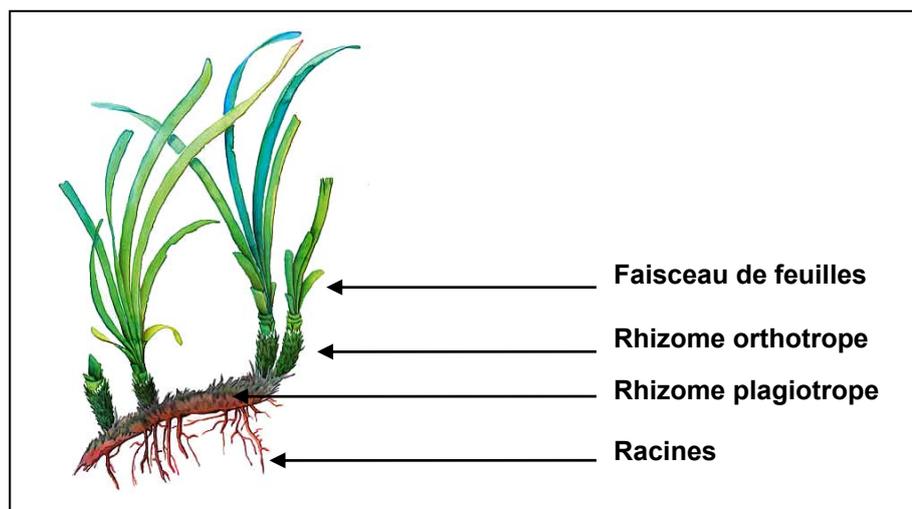


Figure 3. Un rhizome plagiotrope de *Posidonia oceanica* portant des racines ainsi que des rhizomes orthotropes avec des faisceaux de feuilles à leurs extrémités (d'après BOUDOURESQUE *et al.*, 2006).

On nomme feuilles juvéniles les feuilles de moins de 5 cm de longueur et feuilles intermédiaires, les feuilles de plus de 5 cm sans gaine basale (pétiole) ou avec un pétiole n'excédant pas 2 mm. Lorsque la croissance est terminée, la feuille est alors dite adulte (Figure 4).

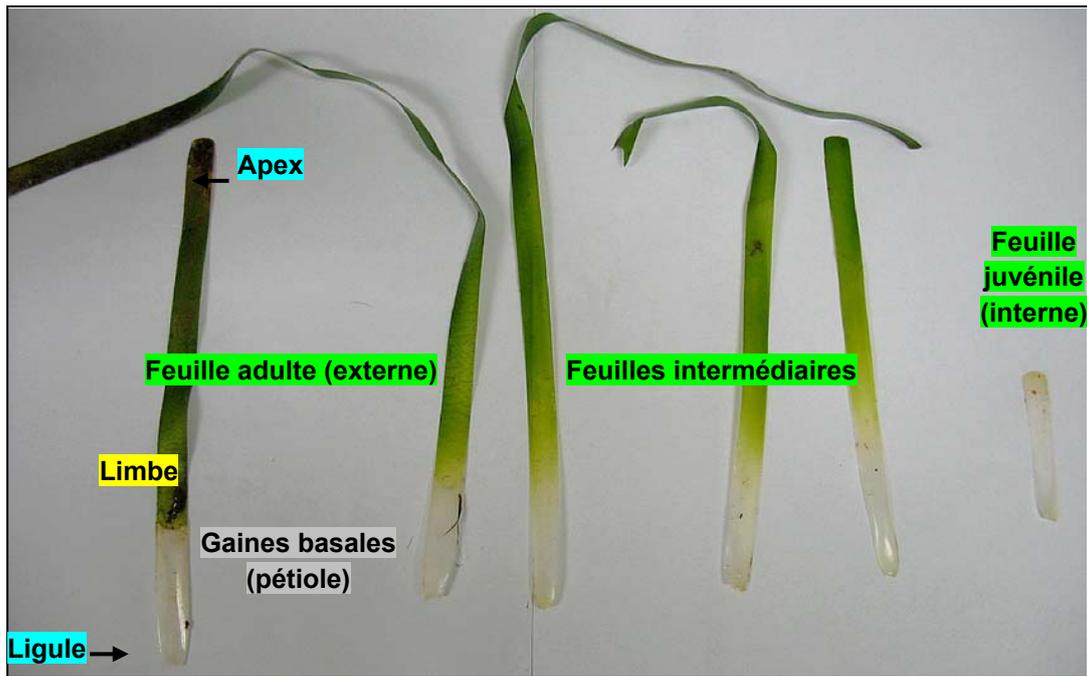


Figure 4. Structure d'un faisceau de feuilles de *Posidonia oceanica*.

Les feuilles mortes se détachent du rhizome en laissant sur ce dernier une écaille résistante (ancien pétiole), qui contribue à le consolider (Figure 5).

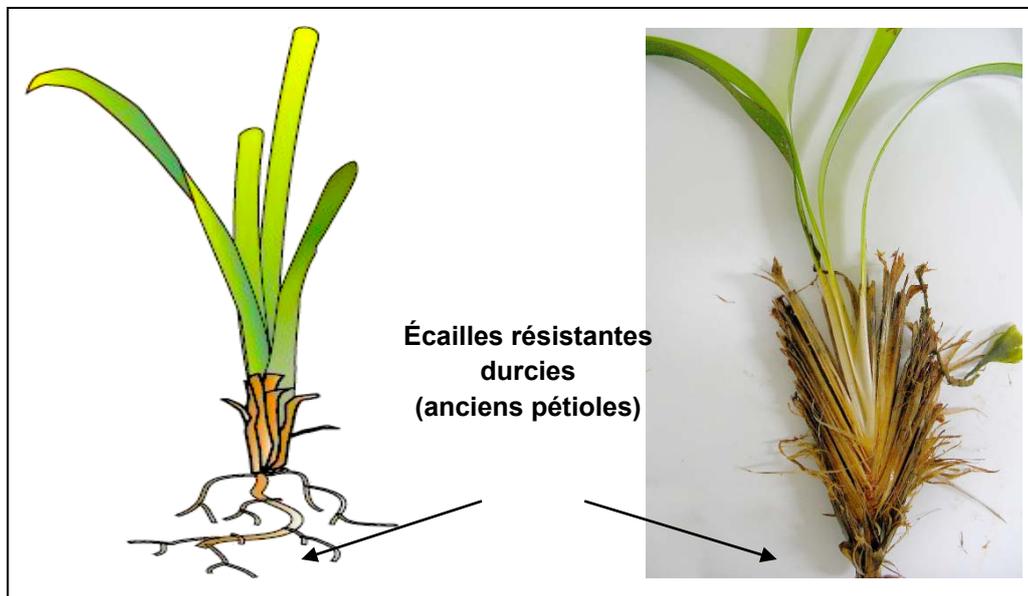


Figure 5. Consolidation du rhizome par les écailles.

On appelle matre le lacs de rhizomes peu putrescibles (BOUDOURESQUE, 1983) et le sédiment piégé.

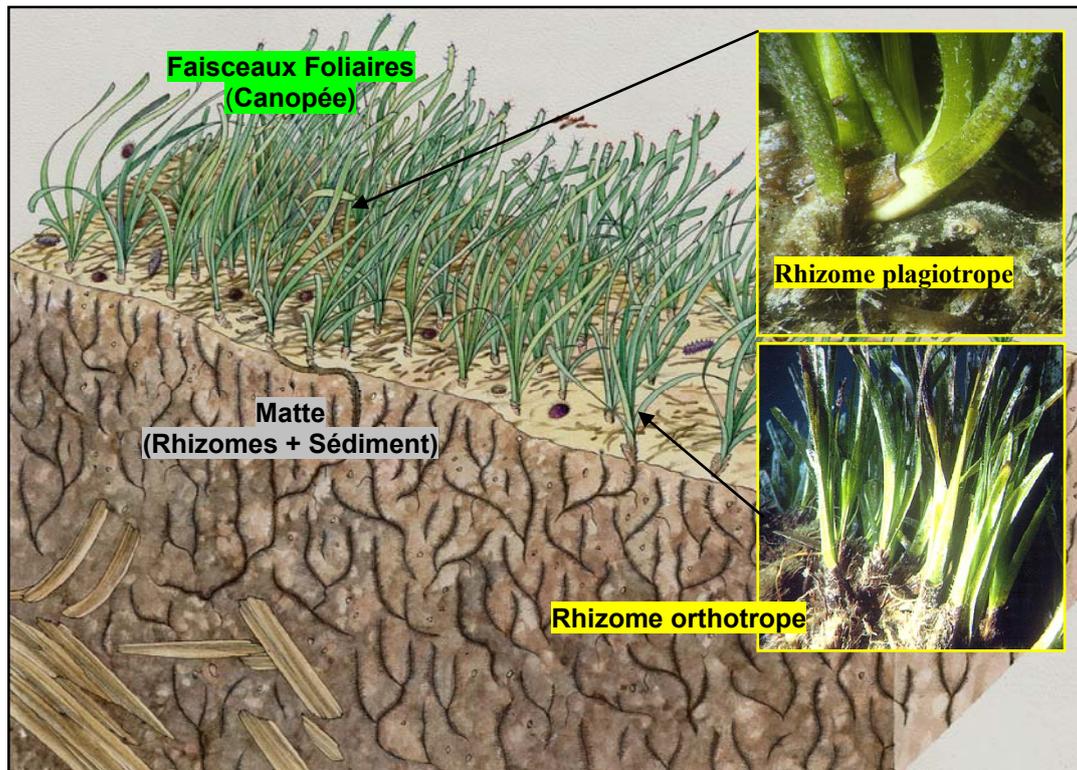


Figure 6. Aspect général de la matre constituée par les rhizomes et le sédiment (d'après BOUDOURESQUE *et al.*, 2006).

La reproduction de *P. oceanica* est essentiellement asexuée (bouturage), mais la présence de fleurs et de fruits (Figure 7) est observée certaines années. Bien que les floraisons et les fructifications de *P. oceanica* ont longtemps été considérées comme rares et sporadiques, MONTEFALCONE *et al.* (sous presse) relèvent une tendance à l'augmentation de leur fréquence, avec l'augmentation de la température de l'eau et celle de l'activité solaire.

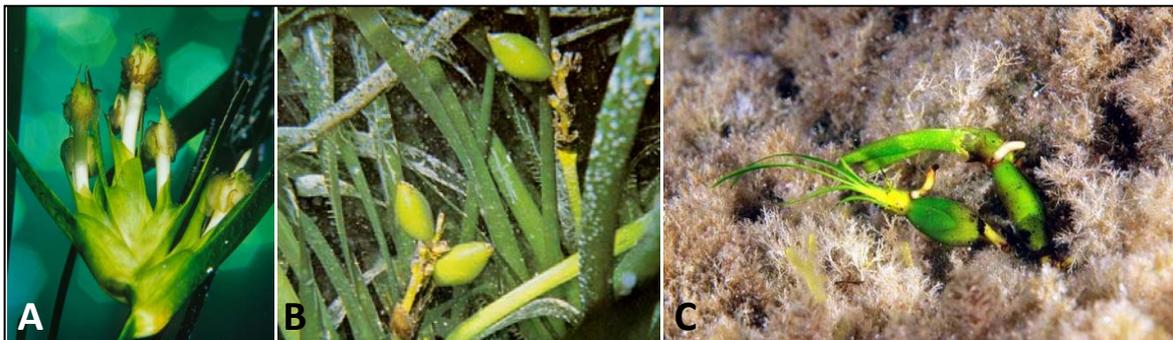


Figure 7. Floraison de *Posidonia oceanica*.

A : Fleur ; **B :** Fruits : Olives de mer (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006) ; **C :** Germination d'une graine.

1.3. Ecologie

En mode calme, *Posidonia oceanica* peut se développer très près du niveau moyen de la mer : ses feuilles s'étalent alors à la surface. La profondeur maximale dépend de la transparence de l'eau : dans le Var et en Corse, des touffes isolées de *P. oceanica* ont été observées jusqu'à 45-48 m de profondeur (AUGIER et BOUDOURESQUE, 1979 ; BOUDOURESQUE *et al.*, 1990). La profondeur de l'extension bathymétrique maximale des herbiers à *P. oceanica* marque la limite entre les étages infralittoral et circalittoral, et est généralement liée à la transparence de l'eau (Duarte, 1991 ; BOUDOURESQUE *et al.*, 2006) et/ou à l'hydrodynamisme (VACCI *et al.*, 2013).

La lumière constitue l'un des facteurs les plus importants pour la répartition des herbiers et leur densité (ELKALAY *et al.*, 2003). En effet, *Posidonia oceanica* ne peut vivre en dessous de 10 à 16% de l'irradiance de surface (ALCOVERRO *et al.*, 2001).

Espèce eurytherme avec une croissance optimale à 17-20°C, des températures extrêmes (9,0 et 29,2°C) ont été mesurées dans des herbiers (Augier *et al.*, 1980 ; Robert, 1988). Il est possible toutefois que les températures basses (moins de 10°C) et hautes (plus de 28°C) ne soient supportées qu'exceptionnellement (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006).

P. oceanica est sténohaline vivant entre 33 et 38‰ ; il y a dépérissement immédiatement en dessous de 33‰ (BEN ALAYA, 1972). C'est la faible salinité qui l'élimine de la mer de Marmara (21-27‰), des étangs saumâtres et du voisinage de l'embouchure des fleuves côtiers. L'espèce semble mieux résister aux salinités élevées, bien que BEN ALAYA (1972) ait indiqué que 41‰ constitue sa limite supérieure de tolérance.

Elle craint un hydrodynamisme trop intense. Les tempêtes arrachent des faisceaux de feuilles, dont certains constitueront des boutures. Elles peuvent éroder la matrice, soit directement, soit en la vidant de son sédiment, ce qui la fragilise. C'est la raison pour laquelle, en mode battu, l'herbier ne s'approche pas à plus de 1 ou 2 m de la surface (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006).

1.4. L'herbier de Posidonies : une oasis de vie

La Posidonie multiplie la surface initialement disponible au sol par 20 à 50 fois. Ainsi, sur 1 m² de sol, les végétaux et animaux fixés disposent de 20 à 50 m² pour s'accrocher. De plus, elle présente la particularité de croître non seulement horizontalement mais aussi verticalement, pour échapper à l'enfouissement causé par la sédimentation. Ce mode de croissance est à l'origine de la formation de mattes anfractueuses qui sont le siège de nombreux abris (KHOURY, 1984) (Figure 8).

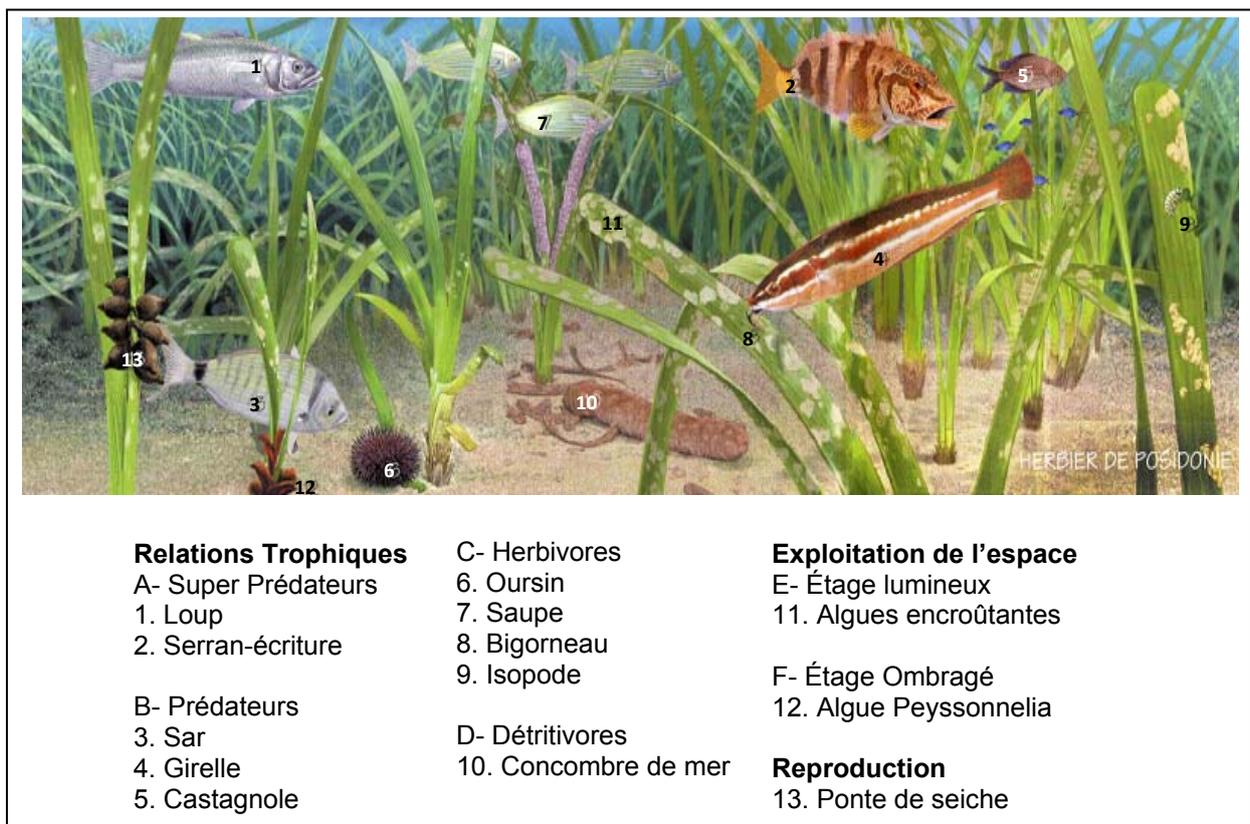


Figure 8. La vie dans l'herbier à *Posidonia oceanica* (d'après TONI LLOBET *et al.*, 2008).

Les feuilles sont couvertes de petites algues qui accèdent ainsi à la lumière et de petits invertébrés filtreurs fixés (ascidies, anémones, vers, bryozoaires, etc.). Ces organismes fixés sur les feuilles, animaux et végétaux, constituent les épiphytes. Ils sont la proie d'autres petits invertébrés qui se déplacent sur les feuilles et les rhizomes en broutant les épiphytes. C'est notamment le cas de petits gastéropodes et de crustacés. Des éponges se rencontrent fréquemment, encroûtant les rhizomes de la plante. Les échinodermes sont très bien représentés dans l'herbier. On trouve l'oursin comestible *Paracentrotus lividus*, l'oursin violet *Sphaerechinus granularis*, les

concombres de mer (holoturies) (Guitouninouninou et Palluy, 2001). Les mollusques sont également bien représentés, en particulier les plus évolués d'entre eux : les céphalopodes (poulpes et seiches) et la grande nacre : *Pinna nobilis*, un autre mollusque remarquable. Les poissons (carnivores ou omnivores pour la plupart) sont très nombreux. Les plus représentatifs sont les syngnathes, les hippocampes, les scorpénidés tels que les rascasses brunes et les labridés qui sont presque strictement liés à ce milieu.

1.5. Importance et rôle des herbiers de Posidonies

Les herbiers à *P. oceanica* représentent un écosystème pivot et un pôle de biodiversité (hot spot) remarquable qui offrent de nombreux services (UNSWOTH *et al.*, 2014) :

- ils produisent d'énormes quantités d'oxygène – sous-produit de la photosynthèse : entre 4 et 20 litres d'oxygène par 24 heures (Bay, 1978 ; TERRADOS *et al.*, 1999) ;
- ils sont source de nourriture, lieu de frayère et de nurserie et servent d'habitat pour plus de 1000 espèces (BUJA *et al.*, 2000 ; BERBERA-CEBRIAN *et al.*, 2002 ; GOBERT *et al.*, 2006) ;
- ils fixent les fonds, protègent les plages de l'érosion et agissent comme un régulateur des vagues, courants et houle par un double effet de l'atténuation de leur force par les banquettes, et le piégeage du sédiment par les feuilles et le lacis serré de leurs rhizomes (BLANC et JEUDY De GRISSAC, 1978 ; BOUDOURESQUE et JEUDY De GRISSAC, 1983 et GAMBI *et al.* 1989 ; KOCH *et al.*, 2006). Ils sont à même de jouer un rôle « d'amortisseur » dans le cas de l'apparition d'événements climatiques extrêmes (tempêtes et cyclone), événements dont la fréquence devrait s'amplifier à court ou à moyen terme ;
- ils sont considérés comme les écosystèmes les plus productifs de la planète (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006). Le surplus de production est exporté vers d'autres écosystèmes où il constitue la base de nombreux réseaux trophiques littoraux (LACAZE, 1993 ; PERGENT *et al.*, 2012) ;
- leur rôle majeur, vis-à-vis des changements climatiques, réside dans leur capacité à stocker le carbone. Les Magnoliophytes marines seraient responsables de 40% du carbone stocké chaque année par la végétation côtière. La matre correspond au

principal puits de carbone organique séquestré par la Posidonie, au vu de l'importance de sa production primaire enfouie dans la matre (on entend par puits de carbone des réservoirs naturels ou artificiels dans lesquels le carbone peut être accumulé pendant une longue période). La part du carbone qui rejoint les puits à long terme (séquestration) est estimée à 10 à 25% du carbone total fixé par la plante, ce qui représente pour la Méditerranée de 0,5 à 20% du carbone séquestré par l'ensemble des herbiers des océans. En prenant en compte l'épaisseur moyenne de la matre (de 1 à 4 m), le carbone organique stocké en Méditerranée correspond à entre 11 et 89% des émissions de CO₂ produites, par la combustion d'hydrocarbures fossiles, par les pays méditerranéens depuis le début de la révolution industrielle (sur le marché du carbone, cette quantité séquestrée par les herbiers de Posidonies, est évaluée entre 3 et 45 € m⁻², soit de 17 à 250 fois plus que les forêts tropicales).

Par ailleurs, les herbiers à *Posidonia oceanica* rendent compte, par leur présence et leur vitalité, de la qualité des eaux du milieu environnant (PERGENT, 1991a) en fonctionnant à différents niveaux (PERGENT, 1993) :

- **Au niveau de la population** : d'une part, la limite supérieure renseigne sur les conséquences des rejets urbains et industriels et les aménagements littoraux, ... etc., et d'autre part, la limite inférieure de l'herbier nous renseigne sur la turbidité moyenne des eaux qui dérivent au-dessus de lui. La présence de structures érosives (inter-mattes, chenaux,...) au sein de l'herbier témoigne de la présence de courants et de la pêche destructive ;
- **Au niveau de l'individu** : les modifications lépidochronologiques et phénologiques permettent de connaître l'évolution des paramètres caractéristiques du milieu et de suivre la pollution à des périodes données ;
- **Au niveau anatomique** : les cellules à tanin, qui sont des cellules riches en acide phénolique, et les enzymes de détoxification semblent augmenter en réponse à l'état de stress de la plante.

C'est pour toutes ces raisons que les herbiers à Posidonies sont devenus, au cours de ces dernières années un objectif majeur de protection et de gestion du milieu marin en Méditerranée (PERGENT, 1991b ; BOUDOURESQUE *et al.*, 1995 ; CAR-ASP, 2000 ; PERGENT-MARTINI, 2000 ; PNUE. CAR/ASP, 2001 ; BOUDOURESQUE, 2003 ; PROCACCINI *et al.*, 2003).

1.6. Menaces sur l'herbier

Au cours du XX^e siècle, et sans doute plus particulièrement depuis les années 1950, l'herbier à *Posidonia oceanica* a considérablement régressé, en particulier aux alentours des grands centres urbains et portuaires. Il régresse en profondeur (remontée de la limite inférieure, en raison de la diminution de la transparence de l'eau), aux profondeurs intermédiaires, mais également au niveau de sa limite supérieure (Den Hartog, 2000 ; Boudouresque *et al.*, 2006). En effet, du fait qu'il occupe la frange littorale, l'herbier est soumis de manière directe à de nombreuses agressions anthropiques et naturelles.

Les principales causes de régression des herbiers sont :

- **Les pollutions industrielles et urbaines.** La pollution, considérée globalement, constitue la principale menace : la disparition des herbiers autour des sources de pollution en témoigne (BELLAN-SANTINI *et al.*, 1994 ; PERGENT-MARTINI *et al.*, 1995 ; Boudouresque, 2003). Parmi les contaminants chimiques émis par les rejets terrestres et nocifs pour la Posidonie, citons les métaux lourds comme le mercure, les sels nutritifs, les détergents, les HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques), les pesticides, et le TBT (Tributylétain), ancien composant des peintures antisalissure des coques, qui réduisent la vitalité des herbiers à *Posidonia oceanica* (PERES et PICARD, 1975 ; AUGIER *et al.*, 1987).
- **La turbidité.** La diminution de la transparence de l'eau, sous l'effet de la turbidité ou de l'eutrophisation et du développement du plancton qui en résulte, réduit la quantité de lumière en profondeur. La limite inférieure de l'herbier remonte alors (BOUDOURESQUE, 2003) ;
- **Les arts traînants.** L'utilisation des arts traînants constitue la principale menace directe sur les herbiers (FRANCOUR *et al.*, 1999).
- **Les aménagements.** Le recouvrement par les aménagements littoraux et la modification des flux sédimentaires (exploitation des sables ou aménagement littoral) sont d'importantes menaces sur l'herbier ;
- **La compétition avec des espèces introduites.** *Caulerpa taxifolia* qui colonise presque tous les types de substrats, en particulier les mattes mortes et les herbiers à *P. oceanica* ; notamment les herbiers stressés ou dégradés dont elle peut accentuer le recul (Boudouresque *et al.*, 1995). *Caulerpa racemosa*, la deuxième chlorophyte

introduite en Méditerranée, et dont l'expansion est extraordinairement rapide, puisqu'elle est aujourd'hui présente dans la plus grande partie de cette mer (VERLAQUE *et al.*, 2004, PIAZZI *et al.*, 2005).

A noter que le suivi de l'évolution temporelle des herbiers à *Posidonia oceanica* montre que les régressions sont toujours plus rapides que les recolonisations (BOUDOURESQUE, 2000).

1.7. Mesures de protection de l'herbier à Posidonies

Face aux nuisances qu'ils endurent, plusieurs mesures de protection des herbiers ont été adoptées notamment dans la Convention de Rio de 1992, la Directive habitat de 1992 de l'Union européenne (92/93/CEE), et la convention de Barcelone de 1999.

En Algérie, les herbiers sous-marins sont classés parmi les sites d'intérêt écologique ou de valeur scientifique sur le littoral et sont préservés de l'occupation et l'utilisation des sols littoraux par la Loi relative à la protection et à la valorisation du littoral n° 02-02 du 5 février 2002 (*Journal Officiel* n°10 du 12 février 2002).

Par ailleurs, le décret exécutif n°12-03 du 4 janvier 2012 fixe la liste des espèces végétales non cultivées protégées, dont les angiospermes (*Journal Officiel* du 18 janvier 2012). Ce décret dispose notamment dans son article 4 : «Au titre de la protection des espèces végétales non cultivées protégées, évoquée au niveau de l'article 41 de la loi n°03-10 du 19 juillet 2003, susvisée, sont interdits : la destruction, la coupe, la mutilation, l'arrachage, la cueillette de végétaux de ces espèces ou de leurs fructifications, ou de toute autre forme prise par ces espèces au cours de leur cycle biologique, leur transport, leur utilisation, leur mise en vente, leur vente ou leur achat, ainsi que la détention des spécimens prélevés dans leur milieu naturel.

1.8. *Posidonia oceanica* : bioindicateur biologique

L'usage de bio-indicateurs permet de déterminer avec précision et rapidité l'impact des actions anthropiques sur la «santé» des écosystèmes (RAMADE, 1993).

Pour être utilisé comme bioindicateur, un organisme doit répondre à plusieurs critères :

- être en contact avec le sédiment ;
- avoir des déplacements peu importants par rapport au site étudié ;

- être bien représenté dans l'ensemble du biotope étudié ;
- avoir une importance écologique prouvée ;
- dont la biologie (croissance, productivité, reproduction) est relativement bien connue ;
- avoir une durée de vie supérieure aux variations temporelles qu'il est censé intégrer,
- caractérisé par un haut pouvoir de concentration du polluant envisagé.

Au regard de ces exigences, *Posidonia oceanica* apparaît comme un matériel intéressant : c'est une espèce longévive – la durée de vie des feuilles de *Posidonia oceanica* est 345 (HEMMINGA *et al.*, 1999) –, à caractère benthique, dont les rhizomes, peu putrescibles, se conservent dans l'épaisseur de la matre pendant plusieurs millénaires (au moins 5000 ans) (BOUDOURESQUE *et al.*, 1980b ; ROMERO *et al.*, 1992). Sa faculté à mémoriser les métaux lourds, le mercure particulièrement, associée aux possibilités de datation par la lépidochronologie (étude des cycles des écailles), permet le suivi temporel de ces polluants (PERGENT-MARTINI, 1998 ; PERGENT *et al.*, 1999a).

Posidonia oceanica a surtout la particularité de répondre aux critères de sélection des espèces sentinelles qui sont caractérisées par des mécanismes de seuil, se traduisant par des changements de grande amplitude lorsqu'un facteur de perturbation vient à dépasser une valeur seuil (BAYNE *et al.*, 1980).

Cette espèce a également déjà été utilisée pour mesurer les radionucléides présents (CALMET *et al.*, 1988; WARNAU *et al.*, 1996) et passés (CALMET *et al.*, 1991). Toutefois, seules deux études ont porté sur la contamination des HAP au sein de cette espèce (BUCALOSSO *et al.*, 2006 ; PERGENT *et al.*, 2011).

Chapitre 2



Les
Hydrocarbures
Aromatiques
Polycycliques

2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HPA)

Les Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques neutres dont la structure cyclique comprend au moins deux cycles aromatiques fusionnés par des arrangements linéaires, angulaires ou en coin. Les molécules sont rigides et apolaires.

Au sens strict, les HAP ne contiennent que des atomes de carbones et d'hydrogène. Cependant, certains composés aromatiques contenant du soufre, de l'azote ou de l'oxygène leur sont parfois associés.

Les noyaux aromatiques rendent les HAP très hydrophobes. Les HAP constituent une classe de POH (Polluants organiques hydrophobes) étudiée et recherchée dans l'environnement depuis les années 70. Le nombre théorique de HAP susceptibles d'exister s'élève à plus de 1000 (NIST, 2002), mais le nombre de ceux identifiés est de 130 (INERIS, 2005). L'ensemble des HAP appartiennent aux substances prioritaires définies dans la Directive Cadre Européenne (DCE) sur l'eau (2000/60/CE). Des études ont montré que certains HPA sont génotoxiques, mutagènes et cancérigènes (RANDERATH *et al.*, 1999). C'est pourquoi 16 HAP sont couramment analysés dans les différentes composantes de l'environnement, car déclarés comme substances prioritaires par l'Environmental Protection Agency américaine (US EPA) (Figure 9). L'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2003) propose de suivre principalement 6 HAP (Tableau 2).

Tableau 2. Liste des HAP considérés par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2003).

HAP	Nombre de cycles	Formule chimique
Fluoranthène	4	C ₁₆ H ₁₀
Benzo(a)Pyrène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(b) Fluoranthène	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo(k) Fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(ghi)Pérylène	6	C ₂₀ H ₁₂
Indéno(1,2,3-cd)Pyrène		C ₂₂ H ₁₂

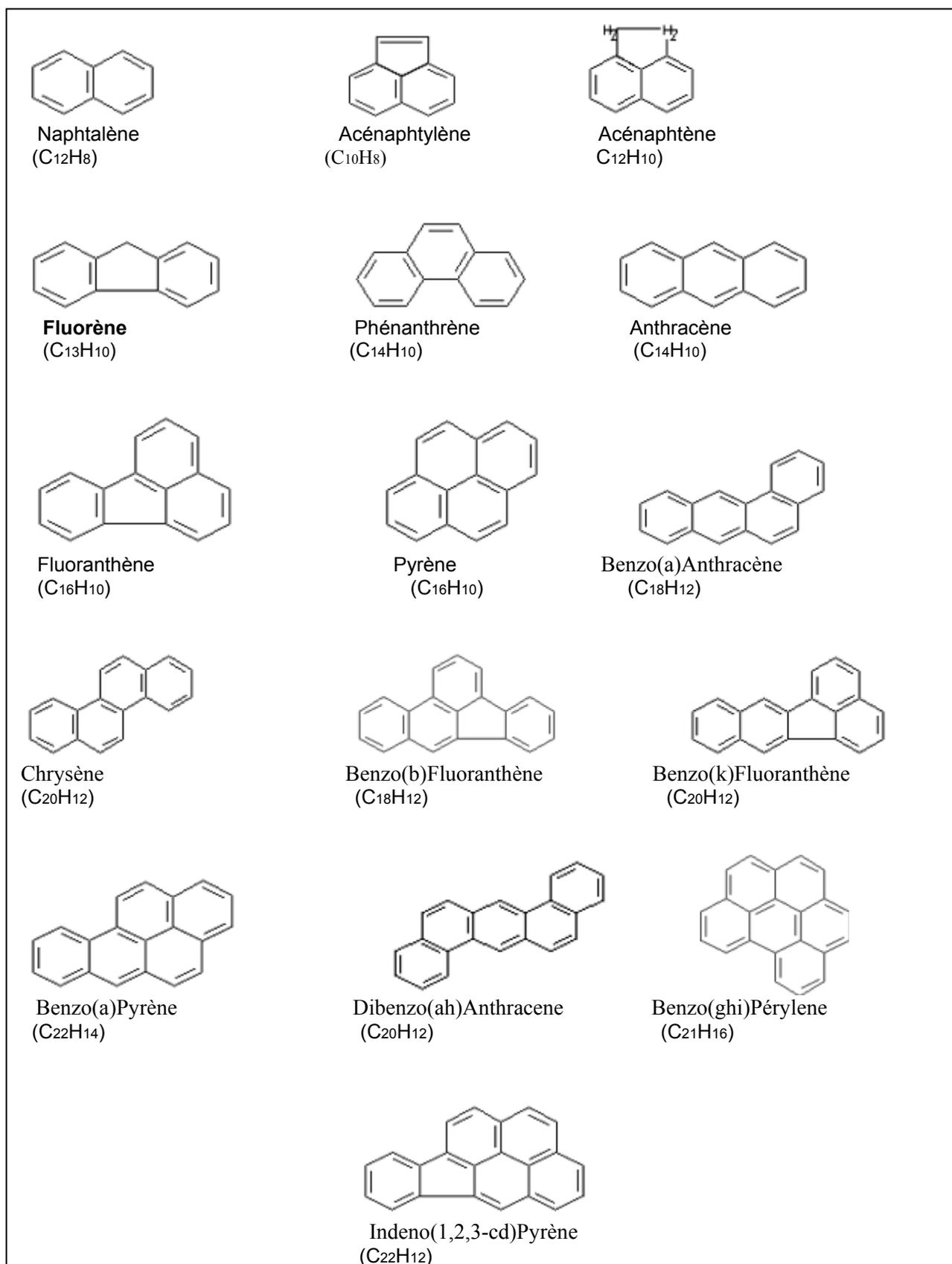


Figure 9. Liste des 16 HAP surveillés dans l'environnement selon les recommandations de l'USEPA (polluants prioritaires).

Les HAP susceptibles d'être présents dans le milieu aquatique ont entre deux et dix noyaux aromatiques. Au-delà, leur solubilité est trop faible pour qu'ils soient détectés dans des environnements aqueux.

2.1. Caractéristiques physicochimiques

Les propriétés physicochimiques se révèlent très utiles pour évaluer l'impact potentiel des composés dans l'environnement. Elles vont notamment permettre de mieux prévoir leur répartition ainsi que leur comportement dans les différents compartiments de l'environnement (eau, sol, sédiments, atmosphère, organismes vivants) (LATIMER et ZHENG, 2003).

A noter toutefois que la migration et l'évolution de ces substances est aussi fonction des propriétés physicochimiques du milieu récepteur et des populations microbiennes en présence.

2.1.1. Propriétés physiques

Les principaux paramètres couramment utilisés pour prédire la distribution des composés organiques, dans les différents compartiments environnementaux, sont (WILD et JONES, 1995) :

- la pression de vapeur saturante (PL), qui reflète la volatilité et donc la capacité d'un composé à rester en phase gazeuse ou à se volatiliser ;
- la constante de Henry (H), qui est caractéristique de l'équilibre entre les phases gazeuse et aqueuse (ratio de la concentration dans l'air et dans l'eau à l'équilibre) ;
- le coefficient de partage du carbone (K_{oc}) qui indique la propension des HAP à se lier à la matière organique du sol et du sédiment ;
- le coefficient de partage octanol-air (K_{ow}) qui permet d'estimer la migration des HAP vers les lipides et donc de prévoir leur bioaccumulation (une molécule est considérée comme bioaccumulable quand celui-ci est supérieur à 3).

Les valeurs de ces paramètres pour les 16 HAP habituellement recherchés sont présentées dans le Tableau 3.

De façon générale, les HAP sont des composés peu volatils, très peu solubles dans l'eau (30 mg/l pour les composés légers et 10^{-4} mg/l pour les plus lourds [INERIS, 2005]) et peu mobiles dans le sol, car facilement adsorbés. Ces substances sont

stables (hydrolyse négligeable), mais leur biodégradabilité dépend fortement du milieu.

Tableau 3. Caractéristiques physicochimiques des 16 HAP prioritaires (INERIS, 2005).

HAP	Masse molaire (g/mol)	Constante de Henry KH (Pa.m ³ /mol)	Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/l)	Coefficient de partage octanol-eau log Kow	Demi-vie (j=jour ; a=an)
Naphtalène (Nap)	128,2	48,9	32	3,30	16 – 48 j
Acénaphylène (AcP)	152,2	/	3,93	4,07	/
Acénaphène (AcPy)	154,2	14,7	3,42	3,98	/
Fluorène (Flu)	166, 32 -	2 9,2	1,90	4,18	32-60j
Phénanthrène (Phe)	178,2	2,9 (à 20°C)	1	4,45	16 – 200j
Anthracène (Ant)	178,2	5,04	0,07	4,45	50j – 1,3
Fluoranthène (FL)	202,3	1,5 (à 25°C)	0,27	4,90	140j – 1,2 a
Pyrène (Py)	202,3	1,1.10 ⁻³ (à 25°C)	0,16	4,88	210j – 5,2 a
Benzo(a)anthracène (BaA)	228,3	/	0,0057	6,61	102j – 1,9 a
Chrysène (Chr)	228,	0,1 (à 25°C)	0,002	6,16	1 – 2,7 a
Benzo(b)fluoranthène (BbFL)	252,3	0,05 (à 25°C)	0,0010	6,57	360 j – 1,7a
Benzo(k)fluoranthène (BkFL)	252,3	0,069 (à 25°C)	0,0008	6,8	2,5 – 5,9a
Benzo(a)pyrène (BaP)	252,3	4,0.10 ⁻¹²	0,0038	6,06	57j – 1,5a
Dibenzo(ah)anthracène (DBA)	278,3	4,8.10 ⁻³ (à 25°C)	0,0005	6,84	361j – 2,6a
Benzo(ghi)pérylène (BghiP)	276,3	2,7 10 ⁻² (à 20°C)	0,002	6,50	0,25a – 1,8a
Indéno(1,2,3,cd)pyrène (InP)	276,3	2,9.10 ⁻²	0,0008	6,58	1,6 – 2 a

Il en résulte que les HAP sont caractérisés par leur hydrophobie et leur persistance (capacité à ne pas être dégradés) (NEFF, 1979 ; DOUBEN, 2003). Généralement, ces tendances s'accroissent lorsque la masse molaire augmente, alors que leur solubilité et leur volatilité diminuent (FERREIRA, 2001). Signalons que la persistance des HAP

sera également fonction de leur temps de demi-vie, lequel est plus important pour les HAP les plus lourds donc les moins solubles.

Les caractéristiques énoncées font que les HAP ont tendance à s'adsorber sur les matrices solides, notamment les matières organiques (sédiments et organismes vivants) (CHEFETZ, 2000 ; ACCARDI-DEY, 2002 ; ZHOU, 2004). De plus, leur caractère lipophile leur permet d'être facilement transférés dans les différents compartiments de la chaîne alimentaire (BAUMARD *et al.*, 1998 et MULLER *et al.*, 2001), et atteindre l'homme suivant des cycles de complexité variée (céréales-homme ; herbe-vache-lait-homme) (SMITH *et al.*, 2002 ; GROVA *et al.*, 2005).

2.1.2. Propriétés chimiques

Les HPA peuvent être classés en trois groupes basés sur le nombre de cycles aromatiques qu'ils contiennent et leurs masses molaires moléculaires :

- HPA de faibles masses molaires moléculaires (de l'ordre de 152-178 g/mol, soit 2 à 3 cycles) : naphthalène, acénaphthylène, acénaphthène, fluorène, anthracène et phénanthrène. Ils présentent une solubilité et une volatilité les plus élevées,
- HPA de masses molaires moléculaires intermédiaires (de l'ordre de 202 g/mol, 4 cycles) : fluoranthène, pyrène ;
- HPA à masses molaires moléculaires élevées (de l'ordre de 228-278 g/mol, soit 4 à 6 cycles): benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, dibenzo(ah)anthracène, benzo(k)fluoranthène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3, cd)pyrène. Leur sorption est la plus forte.

2.2. Propriétés mutagènes et cancérigènes

Les HAP constituent une classe de contaminants dangereux à la fois pour l'homme et l'environnement, et ce, du fait de leurs propres caractéristiques, notamment de par leur accumulation et leur persistance, et du fait des nombreuses sources d'exposition. Les HAP ont des propriétés toxiques, mutagènes et cancérigènes (WILD *et al.*, 1992) (Tableau 4). Ils sont d'ailleurs considérés comme la première source de cancer en zone urbaine (BINKOVA *et al.*, 1996).

Les propriétés cancérigènes des HAP dépendent essentiellement de la structure du composé considéré. Plusieurs facteurs favorisent le caractère cancérigène : le nombre de cycles (ce sont les HAP à 4 noyaux aromatiques ou plus qui sont

généralement cancérigènes), l'arrangement stérique de la molécule (les molécules planes sont moins toxiques). De plus, pour être cancérigène, la molécule d'HAP doit posséder une région baie et être dissymétrique (Figure 10). Cette configuration gouverne les modalités d'oxydation de la molécule en raison des zones de concentration en électrons.

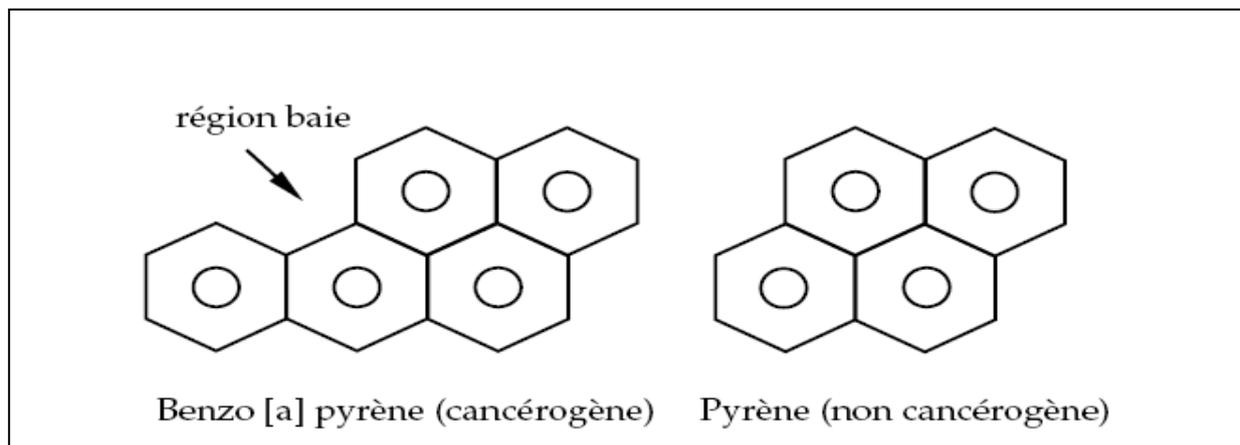


Figure 10. Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérogène) et du pyrène (non cancérogène) FOAN, 2012).

Les propriétés cancérigènes des HAP n'ont été prouvées que pour le benzo(a)pyrène (ALBERT *et al.*, 1991), le chrysène (HORTON et CHRISTIAN, 1974), le dibenzo(a,h)anthracène (PLATT *et al.*, 2005), le naphthalène (AJOA *et al.*, 1988), le benzo(b)fluoranthène (Weyand *et al.*, 1990), le benzo(k) fluoranthène (LaVoie *et al.*, 1980), et l'indéno(1,2,3-cd)pyrène (DEUTSCH-WENZEL *et al.*, 1983). Pour les autres HAP, il semble qu'ils ne sont pas classifiables quant à leur effet cancérigène pour l'homme.

Des effets mutagènes ont été prouvés pour le chrysène (JOCE, 2004); le benzo(a)pyrène (Cavalieri *et al.*, 1988), et le benzo(b)fluoranthène (Amin *et al.*, 1984); (Takemura, *et al.*, 1980); (HERMANN, 1981).

La formation d'adduits à l'ADN semble être le mécanisme principal de la cancérigénèse (Figure 11). Le pouvoir mutagène des HAP se manifeste suite à leur oxydation dans l'organisme par le cytochrome P-450, puis à la fixation du produit d'oxydation sur l'ADN et donc à la formation d'un adduit, provoquant une mutation et l'initiation d'un cancer (GLATT *et al.*, 1993). DENISSENKO *et al.* (1996) ont montré récemment que le benzo(a)pyrène se liait préférentiellement au gène suppresseur humain p53 dans les cellules épithéliales bronchiques. Ce gène suppresseur est

alors muté et s'exprime anormalement. Il perd alors son rôle protecteur contre la prolifération de cellules malignes.

Les HAP associés aux sédiments peuvent également induire le développement d'adduits à l'ADN et éventuellement des lésions aux poissons (Hylland, 2006).

Tableau 4. Toxicité des HAP.

HAP	Cancérogenèse	Mutagenèse	Référence
NAP	Non confirmée		EPA-TSCA
ACP		Constatée	EPA-TSCA
ACPY		Constatée	EPA-TSCA
FL		Constatée	EPA-TSCA, IARC
PHE		Constatée	EPA-TSCA, IARC
ANT		Constatée	EPA-TSCA, IARC
FL	Non confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC
PY	Non confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC
B(a)A	Confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC
CHR	Confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC
B(b)FL	Confirmée	Constatée	IARC
B(b)FL	Confirmée	Constatée	IARC
B(a)P	Confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC
B(e)P	Non confirmée	Constatée *	IARC
InP	Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Bg,h,iP	Non confirmée	Constatée	IARC
DB(a,h)A	Confirmée	Constatée *	EPA-TSCA, IARC

* Mutagène pour l'homme

IARC : Centre International de Recherche sur le Cancer

EPA-TSCA : Environmental Protection Agency-Toxic Substances Control Act

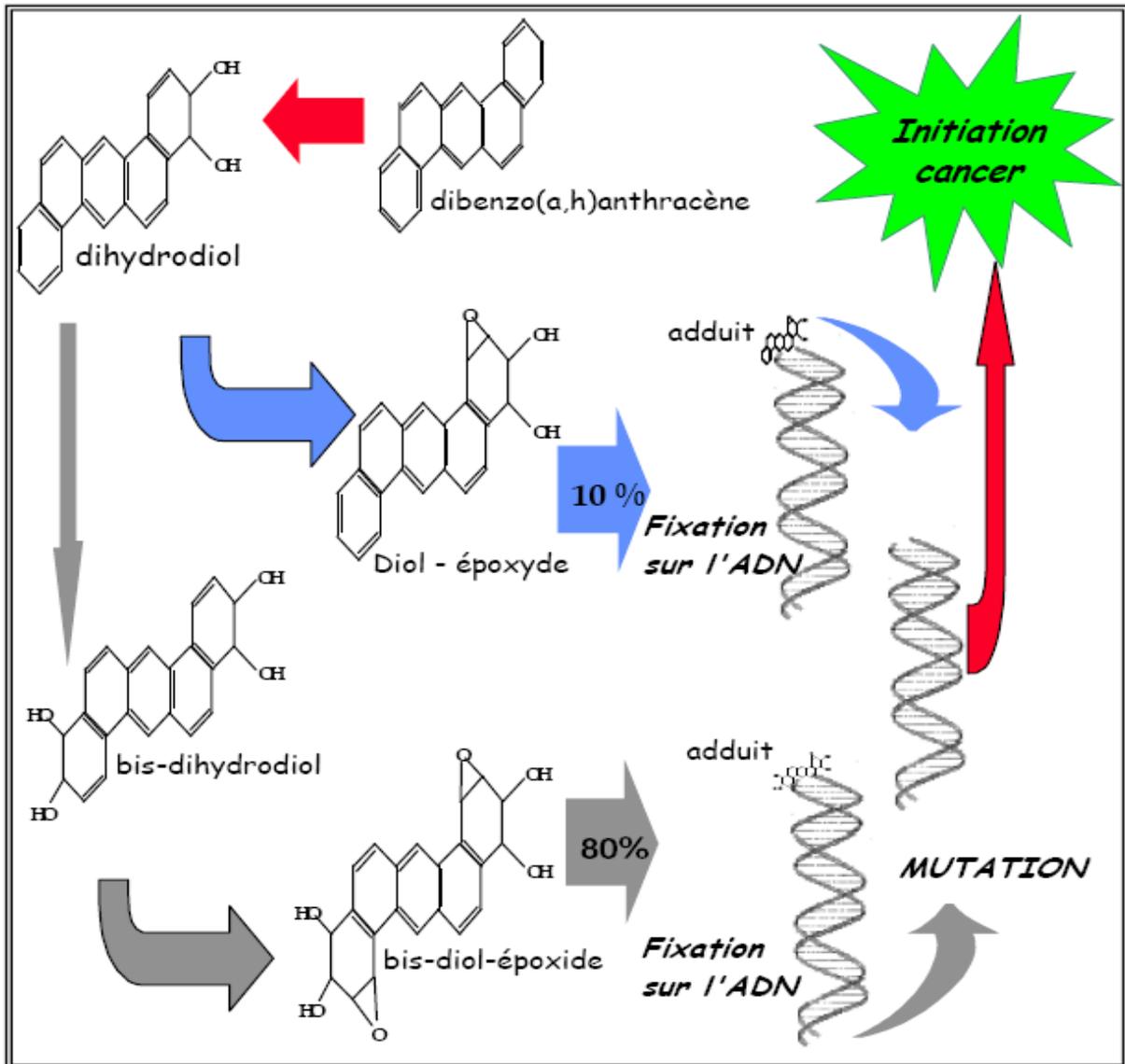


Figure 11. Activation métabolique des HAP en agent mutagène Selon (LECOQ, 1993)

2.3. Identification des différentes sources des HAP

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) qui arrivent dans l'environnement peuvent avoir plusieurs origines, naturelles ou anthropiques (NEFF, 1979). Ils sont principalement générés par la combustion incomplète de la matière organique (origine pyrolytique). Ils sont ainsi formés lors des feux de forêts (naturels ou brûlage volontaire) et de la combustion des produits pétroliers, du charbon, du bois (origine pétrogénique). Les HAP sont aussi présents dans le pétrole brut (origine pétrolière). Dans ce cas, ils sont diffusés dans l'environnement lors de fuites de pétrole et lors du transport routier et fluvial (Tableau 5).

Tableau 5. Sources et utilisation de quelques HAP.

HAP	Sources d'exposition		Utilisation	Référence
	Naturelles	Anthropiques		
Nap		Pyrolytique : chauffage au bois ; sublimation pour répulsifs ; fumée de tabac ; production et distillation du charbon	Phtalates ; plastifiants ; résines ; teintures ; répulsifs pour insectes ; tannages, tensioactifs	INERIS, 2005h
AcP	Pétrole brut, éruptions volcaniques, incendies	Pyrolytique : combustion du charbon ; échappements des moteurs (diesel) ; raffinage du pétrole ; distillation du goudron ; distillation de charbon Pétrogénique : pétrole		
AcPy		Pyrolytique : chauffage au bois		ASTDR, 1995
Flu	Combustibles fossiles	Pyrolytique : combustion d'huile, d'essence, de fioul, de charbon de bois ; fumée de tabac, échappements automobiles, incinération d'ordures ménagères, raffinage du pétrole Pétrogénique : combustibles fossiles	Formation de radicaux pour la fabrication de résine et de teinture ; certains médicament	INERIS, 2005f
Phe	Eruptions volcaniques, incendies	Pyrolytique : combustion incomplète de composés organiques (e.g. bois), de combustibles fossiles ; fumée de tabac ; échappements des moteurs (diesel); viandes grillées au charbon de bois ; huiles de moteur usagée ; incinération d'ordures ménagères	Industrie des matières colorantes ; explosifs ; produits pharmaceutiques ; substances conductrices	ASTDR, 1995; INERIS, 2006d
Ant	Combustibles fossiles	Pyrolytique : échappements des moteurs (diesel); émissions des fours à charbon et à fioul ; préparation d'asphalte ; fumée de charbon de bois ; raffinage du pétrole ; combustion de pneumatiques Pétrogénique : combustibles fossiles (fioul, essence) ; huiles d'imprégnation du bois	Intermédiaire pour la fabrication de résines, de teintures ; insecticide ; fongicide ; électrophotographie	ASTDR, 1995; INERIS, 2005b
FL	Eruptions volcaniques, incendies	Pyrolytique : émission des fours à bois, incinération d'ordures ménagères, production de goudron et asphaltes, craquage du pétrole; échappements des moteurs (diesel); utilisation de compost et fertilisants Pétrogénique : usine de traitement du bois	revêtement interne pour réseau d'eau potable ; intermédiaire de la fabrication de teinture ; fabrication d'huiles, de colles ; certains médicament	ASTDR, 1995; INERIS, 2008
Pyr	Combustibles fossiles	Pyrolytique : combustion incomplète de charbon, produits pétroliers (e.g. huile, essence, fiouls) ; échappements des moteurs ; goudron ; production de métaux, de fonderie ; fumée de tabac ; incinération de déchets Pétrogénique : essence, fioul, huiles brutes	intermédiaire de la fabrication de teinture ; optique ; isolation électrique	ASTDR, 1995; INERIS, 2005i

BaA		Pyrolytique : incinération d'ordures ménagères et hospitalière		ASTDR, 1995
Chr	Combustibles fossiles (huile brute et lignite)	Pyrolytique : incinération d'ordures ménagères ; appareils ménagers au gaz naturel ; chauffage au bois		INERIS, 2005e
BbFL		Pyrolytique : combustion d'hydrocarbures et de charbon ; raffinage du pétrole, cokéfaction du charbon, échappements des moteurs ; asphalte		INERIS, 2005c
BkFL	Combustibles fossiles	Pyrolytique : fumées de tabac ; échappements des moteurs ; Combustion de charbon, d'huiles ; goudron de charbon ; lessivage par la pluie de stock de charbon ; raffinerie de pétrole : fumée Pétrogénique : combustibles fossiles, huiles de moteur, raffinerie de pétrole : eaux usées	Recherche	INERIS, 2005d
BaP	Combustibles fossiles ; éruptions volcaniques ; incendies ; Biosynthèse par plantes, bactéries, algues	Pyrolytique : raffinerie de pétrole, du schiste ; utilisation du goudron, charbon, coke, kérosène ; sources d'énergie, chaleur ; revêtement routiers ; fumées de tabac ; échappements des moteurs ; aliments fumés ou grillés au charbon de bois, Pétrogénique : combustibles fossiles ; huiles de moteur ; carburants; graisses ; huiles ; margarines	Produits étalons	INERIS, 2006a
DBA	Combustibles fossiles	Pyrolytique : échappements des moteurs ; fumées de tabac ; chauffage au bois ; fours a coke ; goudron. Pétrogénique : combustibles fossiles ; huiles usagées		INERIS, 2006c
BghiP	Eruptions volcaniques, incendies	Pyrolytique : échappements des moteurs ; raffinerie de pétrole ; distillation du charbon ; combustion du bois, de charbon, d'huile, de propane, de fioul ; incinération d'ordures ménagères et hospitalières; résidus d'incinération Pétrogénique : effluents industriels ; boues d'épuration		ASTDR, 1995; INERIS, 2006b
InP	Combustibles fossiles ; huiles brutes ; huiles de schiste ; biosynthèse (tabac, algues) ; terreau ; fumier ; éruptions volcaniques ; incendies	Pyrolytique_: combustion du bois, de charbon, de carburants ; four à bois ; incinération d'ordures ménagères; fumées industrielles ; aliments grillés au charbon de bois; fumées de cigarettes ; goudron de charbon ; échappements des moteurs Pétrogénique : combustibles fossiles ; huiles de moteur	Recherche	ASTDR, 1995; INERIS, 2005g

La généralisation de la combustion des produits pétroliers fait que les HAP constituent une pollution semi-diffuse de l'environnement. Ils sont prédominants dans les zones urbaines où se concentrent les usages de produits pétroliers (automobiles, industrie, chauffage). Citons encore certaines sources très minoritaires mais importantes pour leur impact sur la santé humaine comme la fumée de cigarettes ou la fumaison des aliments.

2.4. Sources de contamination du milieu marin

Le milieu aquatique constitue le réceptacle privilégié des HAP. L'introduction des HAP en milieu marin peut être due soit à des phénomènes naturels soit aux activités anthropiques. Les sources naturelles en milieu marin sont principalement des suintements sous-marins qui ont lieu lorsque des gisements libèrent des hydrocarbures dans la colonne d'eau (NRC, 2003a).

Mais la source majoritaire des HAP provient des activités anthropiques suivantes (ASTDR, 1995 ; NRC, 2003a) :

- extraction du pétrole, qui s'accompagne d'un rejet de pétrole brut et de produit de raffinerie ;
- transport du pétrole, qui peut conduire à deux types de déversements de faible ampleur résultant de l'activité (e.g. nettoyage de cuve), et des déversements accidentels d'ampleur variable (e.g. marées noires telles que *Exxon Valdez*, *Prestige*, *Erika*).
- utilisation du pétrole, qui s'accompagne d'autant de rejets différents qu'il y a d'activités (e.g. bateaux individuels, transporteurs maritimes, activités en milieu terrestre ; NRC, 2003a).

Ainsi, la grande majorité de la contamination anthropique par les HAP en milieu marin est issue du domaine terrestre et transmise par le biais des dépôts atmosphériques et des apports des bassins versants (e.g. fleuves, rejets d'eaux usées lessivage des sols (ASTDR, 1995; NRC, 2003a).

En 1979, NEFF estimait à 230 000 tonnes la quantité de HAP atteignant chaque année le milieu aquatique. Les concentrations sont très variables selon les milieux et les HAP considérés, les plus légers ayant des teneurs de l'ordre du µg/l alors que les plus lourds de l'ordre du ng/l.

De plus, en raison de leur hydrophobie, les HAP se fixent préférentiellement sur les particules et se concentrent dans les sédiments. Ce phénomène est d'autant plus accentué que les HAP sont lourds et hydrophobes et que les HAP sont souvent déjà fixés sur des particules au moment de leur émission (particules dans les fumées d'échappement par exemple).

2.5. Devenir des HAP en milieu marin

Du fait de la très faible solubilité des hydrocarbures dans l'eau et de leur densité qui est légèrement inférieure à l'unité, les hydrocarbures rejetés dans les océans s'étalent à la surface avant de subir une série de modifications suite à l'action de facteurs abiotiques et biologiques. L'action simultanée de ces différents facteurs aboutira à l'élimination de cette pollution (BERTRAND et MILLE, 1989 ; US. Congress, Office of Technology Assessement, 1991).

– **Evaporation.** Ce phénomène touche les fractions de faible poids moléculaire et dépend des conditions atmosphériques (vent, vagues, température,...). Les hydrocarbures les plus légers (telle l'essence automobile), ayant de 4 à 12 atomes de carbone (T° d'ébullition $< 270^{\circ}\text{C}$), qui représentent généralement près de 50% des hydrocarbures totaux d'un brut moyen, sont éliminés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère.

– **Solubilisation.** La solubilité des hydrocarbures dans l'eau de mer est très faible. Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore.

– **Emulsification.** Deux types d'émulsions peuvent se former : eau-dans-huile appelée «mousse au chocolat» et huile-dans-eau. Les émulsions eau-dans-huile sont constituées par des hydrocarbures de haut poids moléculaire. Ces émulsions difficilement dégradables sont les précurseurs des résidus goudronneux retrouvés sur les plages, alors que les émulsions huile dans eau facilitent l'élimination des hydrocarbures.

– **Sédimentation.** La sédimentation est le passage du pétrole de la surface vers le fond. Ce phénomène concerne les résidus goudronneux constitués de la fraction

pétrolière la plus lourde et dont la densité est supérieure à celle de l'eau de mer. La sédimentation conduit à la constitution d'agrégats de haute densité difficilement dégradable par voie naturelle.

– **Photo-oxydation.** La photo-oxydation est observée au niveau de la surface de l'eau où l'air (oxygène) et la lumière (radiations solaires) sont présents pour la transformation des hydrocarbures (PAYNE et PHILLIPS, 1985). L'efficacité de ce phénomène dépend de la nature des hydrocarbures et de la présence de composés non hydrocarbonés (BERTRAND et MILLE, 1989). La photo oxydation touche plus particulièrement les composés aromatiques qui sont plus photosensibles que les composés aliphatiques (RONTANI et GIUSTI, 1987).

La photo-oxydation conduit à la formation de composés solubles dans l'eau (acides, alcools, cétones, peroxydes et sulfoxides) et certains travaux de recherche ont montré leur toxicité pour les communautés microbiennes (PAYNE et PHILLIPS, 1985 ; LARSON *et al.*, 1979; MAKI *et al.*, 2001) alors que RONTANI *et al.* (1987 ; 1992, ont montré l'existence d'interactions entre la photo-oxydation et la biodégradation pour l'élimination des alkyl benzènes et de l'antracène. L'action simultanée de ces deux phénomènes permet une élimination plus rapide de ces deux familles de composés.

Biodégradation. La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement marin. Les microorganismes en sont responsables, en particulier les bactéries. La biodégradation des hydrocarbures se fait dans des milieux aérobies et anaérobies grâce à des microorganismes : bactéries (DAGLEY, 1978), champignons (MIDDLEHOVEN) (1993) et microalgues (SEMPLE *et al.*, 1999).

2.6. Impact écologique et écotoxicité

Les effets des hydrocarbures sur l'environnement sont variés et complexes. Certains se manifestent immédiatement, d'autres après une période plus longue, ils affectent à des titres divers le règne animal et végétal de la surface et à l'intérieur de la mer (Figure 11). La toxicité aiguë des HAP est rarement observable dans les milieux aquatiques en deçà de leur solubilité, car ces molécules ont principalement des effets cancérigènes et mutagènes de long terme. Les HAP peuvent en effet présenter une toxicité aiguë même si des concentrations relativement élevées doivent alors être rencontrées dans le milieu aquatique (GOURLAY, 2004). L'exposition prolongée à des doses plus faibles de contamination peut également

engendrer des effets chroniques irrémédiables, difficilement observables rapidement, et surtout plus difficiles à relier aux concentrations en polluants dans le milieu. La commission européenne a publié en 2003 dans un rapport intitulé «Système de référence d'impact », dans lequel elle conclut que les propriétés générales des hydrocarbures déterminent leur impact écologique (Tableau 6).

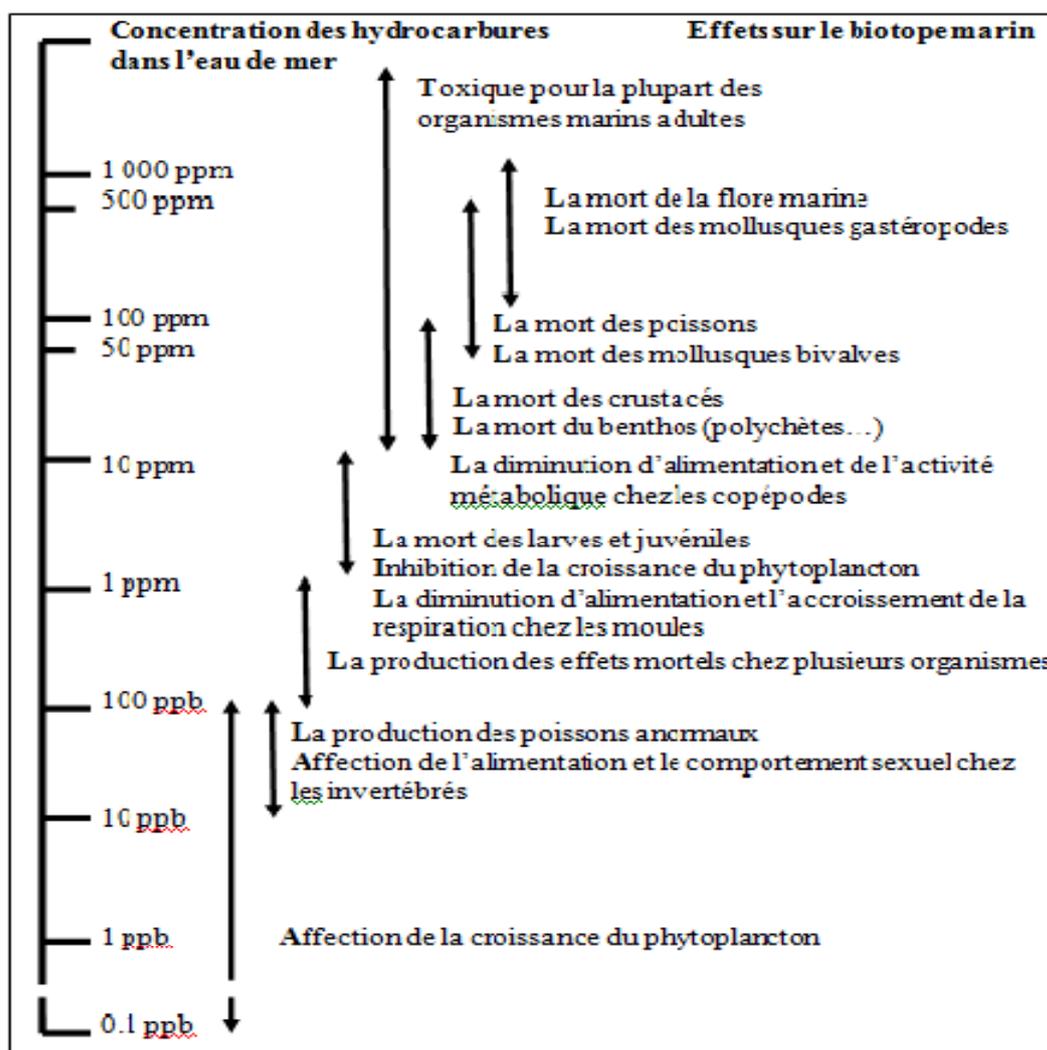


Figure 12. Description schématique de susceptibilité des organismes marins aux hydrocarbures suivant leurs concentrations (en particulier les hydrocarbures aromatiques solubles) (O'SULLIVAN et JACQUES, 2001 in BOCARD, 2008).

■ **Impact sur les communautés vivantes de la colonne d'eau.** Lorsqu'une pollution survient, les hydrocarbures s'évaporent, se dispersent et se dissolvent. Ces deux derniers processus sont ceux qui affectent la colonne d'eau. Plus la hauteur d'eau est faible, plus les risques qui pèsent sur les communautés sont importants, car il y a une grande concentration.

Tableau 6. Classification des hydrocarbures en fonction des propriétés générales qui déterminent leurs impacts écologiques (CEE, 2003).

Type d'hydrocarbure	Volatilité	Solubilité dans l'eau	Dispersion naturelle	Viscosité	Nocivité biologique
Léger volatil	Elevée	Elevée	Bonne dispersion	Nulle	Hautement toxique
Moyen à lourd	Jusqu'à 50%	Moyenne	Seulement de quelques composés	Légère à moyenne	Toxicité variable
Lourd	> 50%	Faible	Faible dispersion	Très visqueuse	Etouffement, encrassement
Résiduaire	Nulle	Très faible	Nulle	Très visqueuse à solide	Etouffement, faible toxicité

■ **Impact sur le phytoplancton.** Les nappes d'hydrocarbures commencent par réduire la photosynthèse et donc la croissance. Par contre, en faible quantité et selon certains types d'hydrocarbures, l'effet peut être stimulant (HSIAO, 1978 *in* FATTAL, 2008). Les premiers effets d'un déversement par hydrocarbures sont le piégeage et l'engluement des organismes situés dans les premiers centimètres d'eau par les nappes. Les organismes concernés par cet impact sont les œufs, les larves de poisson et le plancton temporaire (PETERSON *et al.*, 2003 *in* FATTAL, 2008). L'engluement et la toxicité provoquent des mortalités qui dépendent de la sensibilité des espèces et de leur stade de développement. Les organismes pélagiques adultes ne sont que peu touchés par la pollution (LEJEUNE, 2005 *in* FATTAL, 2008).

■ **Impacts sur les bactéries.** Certaines espèces peuvent proliférer à la faveur d'autres, inhibées par la présence des hydrocarbures. Celles qui se développent sont les bactéries qui puisent dans les hydrocarbures le carbone et l'énergie. Certaines bactéries comme *Flavobacterium* ou *Vibrio alginoluticus* ont des capacités de dégradation du polluant (BUCKLEY, 1980, *in* FATTAL, 2008).

■ **Impacts sur le zooplancton.** L'impact sur la communauté zoo planctonique est moins évident, car il est difficile de distinguer des phénomènes anormaux d'une variabilité naturelle qui est liée aux conditions écologiques comme le brassage ou la saisonnalité. Toutefois, comme ces organismes sont dépourvus de systèmes enzymatiques (hydrolases), l'accumulation des HAP est plus prononcée

Par exemple, un an après la catastrophe de l'*Amaco Cadiz* et malgré le fort taux de renouvellement du zooplancton, celui-ci a continué à connaître des perturbations dans les zones côtières (CEDRE, 2000 *in* FATTAL, 2008).

■ Impact sur le milieu benthique

– **Sur le phytobenthos.** Les algues benthiques ont une faible sensibilité aux hydrocarbures. Les effets à court terme, spectaculaire, se traduisent par l'englue ou la brûlure des tissus dans le cas d'un contact direct avec le pétrole. Les effets à long terme sont peu importants. En général, une bonne restauration des champs d'algues est constatée quelque temps après la disparition de la perturbation (BODENNEC *et al.*, 1983 in SELLALI, 1996).

– **Sur le zoobenthos.** Cet écosystème est le plus fragile. Le pétrole peut détruire rapidement les organismes benthiques par immobilisation, asphyxie, intoxication et narcose. Les espèces sessiles sont les plus sensibles que les espèces douées d'une relative mobilité. En raison de piégeage des hydrocarbures dans les sédiments, les mortalités sont plus fortes pour la macrofaune des substrats meubles que pour celle des milieux rocheux. A plus long terme, les mortalités sont probables mais difficiles à évaluer. Toutefois une pollution des peuplements macrobenthiques, due à l'inégale vulnérabilité spécifique, se traduit par l'apparition d'espèces opportunistes et indicatrices de pollution (BODENNEC *et al.*, 1983 in SELLALI, 1996).

2.7. Surveillance de la contamination par les HAP dans les organismes

Les principaux organismes étudiés semblent être les végétaux terrestres et les moules *Mytilus galloprovincialis* (L) Lamarck et *Mytilus edulis* Linnae (BAUMARD *et al.*, 1999a et b ; WETZEL & VAN VLEET, 2004; BIHARI *et al.*, 2007).

En zone forestière, la canopée joue le rôle d'un filtre en retenant les particules et les HAP qui y sont liés, ce qui influence les teneurs des feuilles situées en dessous (HOWSAM *et al.*, 2000). Alors qu'en milieu marin, les moules placées dans la zone d'interface accumulent principalement des HAP de bas poids moléculaires à l'inverse de celles près du sédiments (BAUMARD *et al.*, 1999a).

Les études ont démontré que les teneurs en HAP mesurées dans les organismes dépendaient principalement de la distance à une source de contamination. Ainsi pour les végétaux terrestres, les sites de contrôle présentent des concentrations moins élevées que les sites urbains, ou ceux proches d'usines ou de routes (WAGROWSKI & HITES, 1997; LODOVICI *et al.*, 1998 ; BAKKER *et al.*, 2000; HOWSAM *et al.*, 2000 ; ALFANI *et al.*, 2001; De NICOLA *et al.*, 2005). Plus précisément, les sites de contrôle sont dominés principalement par les HAP de faible poids moléculaires et les sites urbains

par ceux de poids moléculaires élevés (WAGROWSKI & HITES, 1997 ; LODOVICI *et al.*, 1998; MEHARG *et al.*, 1998; BAKKER *et al.*, 2000 ; HOWSAM *et al.*, 2000; ALFANI *et al.*, 2001; De NICOLA *et al.*, 2005). De même, en milieu marin, les teneurs en HAP dans les moules sont plus importantes dans les zones urbanisées ou à proximité des ports que dans les milieux protégés (BAUMARD *et al.*, 1998a ; BAUMARD *et al.*, 1999a ; STELLA *et al.*, 2002). Cette variabilité de répartition des HAP en fonction de leur poids moléculaire est utilisée avec des ratios pour déterminer les sources de contamination.

2.8. Réglementation existante et valeurs cibles

En Europe, les seuils de concentrations en HAP dans l'eau potable sont de 100 ng/l pour la somme de tous les HAP, et de 10 ng/l pour le benzo(a)pyrène (BaP). L'Organisation Mondiale pour la Santé définit les limites pour l'eau potable à 5 µg/l pour le fluoranthène et 0,7 µg/l pour le BaP. En Algérie, la loi n°83-17 du 16 juillet 1983 relative à la protection de l'environnement (portant sur le code des eaux) pose le principe que l'eau doit être protégée contre la pollution et la surexploitation. La loi n°2003-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable (*Journal officiel* n°43 du 20 juillet 2003- Chapitre 3- Sections 1 et 2) énonce les prescriptions de protection de l'eau et des milieux aquatiques.

Le Tableau 7 présente les teneurs d'hydrocarbures disponibles se rapportant aux rejets et à la qualité des eaux conformément aux normes algériennes.

Tableau 7. Normes algériennes se rapportant aux concentrations seuil des hydrocarbures pouvant être contenues dans les rejets et les eaux de consommation.

Cible	Compartiment	Hydrocarbure	Valeur cible	Réglementation
Rejets	Effluents liquides industriels	Hydrocarbures totaux	10 mg/l (15)*	Décret n°06-141 du 19-04-2006 (Section 3 Annexes 1 et 2)
	Raffinage du pétrole	Hydrocarbures totaux	5 g/t (10)*	
	Cokéfaction	HAP	0,08 mg/l (0,1)*	
	Industrie mécanique	Hydrocarbures totaux	15 mg/l (20)	
Qualité	Eau potable	HAP	1 µg/l eaux superficielles	Décret n°11-222 du 19-06-2011 (Annexe)
			0,2 µg/l eaux souterraines	

*() : tolérance aux valeurs limites / anciennes installations

Chapitre 3



Matériels

&

Méthodes

3. Matériel et méthodes

Dans le but d'évaluer dans quelle mesure *Posidonia oceanica* pourrait constituer un bioindicateur de la pollution organique, 15 (sur les 16) hydrocarbures aromatiques polycycliques recommandés par l'US EPA ont été dosés au niveau de six compartiments de la partie épigée de la plante (faisceau foliaire).

3.1. Description des stations

Pour la réalisation de ce travail, deux stations soumises à des niveaux de pressions anthropiques différents ont été choisies : une station située à proximité d'une zone portuaire dans la baie de Bou Ismaïl (Ouest) et une autre en centre urbain dans la baie de Zemmouri (Est) (Figure 13). Les deux baies constituent les extrémités de la zone côtière algéroise (PAC, 2005). Les stations choisies sont localisées de façon très précise et les coordonnées sont exprimées en degrés décimaux sous le système de référence géodésique WGS84.

3.1.1. Baie de Zemmouri

La baie de Zemmouri, située à 25 km à l'Est d'Alger, est soumise au transfert de polluants par le jeu des courants à dominance Est et Nord-Est à partir de la baie d'Alger (PAC, 2005). Elle est également soumise aux pollutions liées à l'explosion démographique, l'urbanisation anarchique, en particulier au niveau de son littoral, ainsi qu'aux activités industrielles (zone industrielle importante de Rouiba-Réghaïa) et touristiques.

■ **Station Ile Agueli (AG)** (φ : 36°47'38.16"N / λ : 3°21'7.91"E). Cette station est située à 900 m de la côte face à l'embouchure du lac Réghaïa, classée réserve naturelle protégée (PAC, 2005). Le site est menacé par la pollution urbaine (rejets d'eaux usées sans traitement préalable), industrielle (polluants chimiques hautement toxiques), agricole et l'extraction illégale du sable de plage (PAC, 2005). L'herbier est implanté sur roche recouverte par du sable grossier, entrecoupé de chenaux de sable grossier marqué par des ripple-marks, témoignant du fort hydrodynamisme qui caractérise la région.

3.1.2. Baie de Bou Ismaïl

Cette baie, située à 50 km à l'Ouest d'Alger, est considérée comme l'une des plus importantes de la côte algérienne. La région de Bou Ismail est une zone à vocation touristique et agricole ; sa frange côtière est soumise principalement aux rejets domestiques des villes et des complexes touristiques qui se déversent directement dans le milieu naturel sans aucun traitement préalable dans la plupart des cas, s'accroissant en période estivale (BACHARI, 2009). A cela s'ajoutent les rejets d'eaux usées véhiculées par les oueds qui traversent les centres urbains et qui se déversent en mer, drainant les eaux de ruissellement des terres agricoles, des effluents urbains et industriels; en plus de la pollution due à l'activité de la pêche (LEM, 1998).

■ **Station de Khemisti Port (PK)** ($\varphi : 36^{\circ}38'34.74''N / \lambda : 2^{\circ}40'5.88''E$). Cette station est située à proximité du port de pêche de Khemisti. L'herbier se développe sur substrat dur et les rhizomes présentent un déchaussement important. La présence de ripple-marks, d'intermattes recouvertes de litière ainsi que de matte morte y est notée. Une riche flore et faune y est observée : girelles, badèches, mérours, sardines, castagnoles noires, algues vertes et rouges associées à l'herbier, ainsi que des oursins et gorgones. Cette station est caractérisée par un fort ensablement et une pollution organique et inorganique.



Figure 13. Localisation des deux zones d'étude (Google Earth, 2015).

3.2. Prélèvements et traitement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués en scaphandre autonome durant les mois d'août et septembre 2013, à une profondeur de 15 m environ selon les protocoles standardisés (PERGENT-MARTINI, 2005). Au niveau de chaque station, 30 faisceaux orthotropes sont collectés sur une large surface (cercle d'une dizaine de mètres de diamètre environ). Les faisceaux prélevés sont distants d'un mètre environ les uns des autres (PERGENT, 1987) de façon à collecter des faisceaux indépendants. Ils sont cassés manuellement au niveau du sédiment ou à 2-3 cm en dessous et placés dans un sac de plongée (Figure 14). Ils sont transportés au laboratoire (Station de recherche de l'ENSSMAL de Sidi Fredj) tout en étant maintenus au frais dans une glacière.



Figure 14. Récolte des faisceaux de *Posidonia oceanica* en scaphandre autonome.

3.2.1. Traitement phénologique des échantillons

Au laboratoire, les 30 faisceaux sont immédiatement séparés de manière aléatoire en 3 lots de 10. Chaque faisceau foliaire est décortiqué en respectant l'ordre distique d'insertion des feuilles, selon le système de classification de GIRAUD (1977b ; 1979) : Adulte 1 (Ad1-la feuille adulte la plus âgée), Adulte 2 (Ad2), les autres feuilles adultes (AA), les feuilles intermédiaires (FI). Les limbes des feuilles adultes 1 et 2 sont à leur tour séparés des pétioles (P1 et P2 respectivement) (Figure 15). Les feuilles sont raclées sur leurs deux faces au moyen d'une lame de verre, afin d'en

séparer les épiphytes. Les six compartiments obtenus sont congelés jusqu'à leur analyse afin d'éviter les pertes.

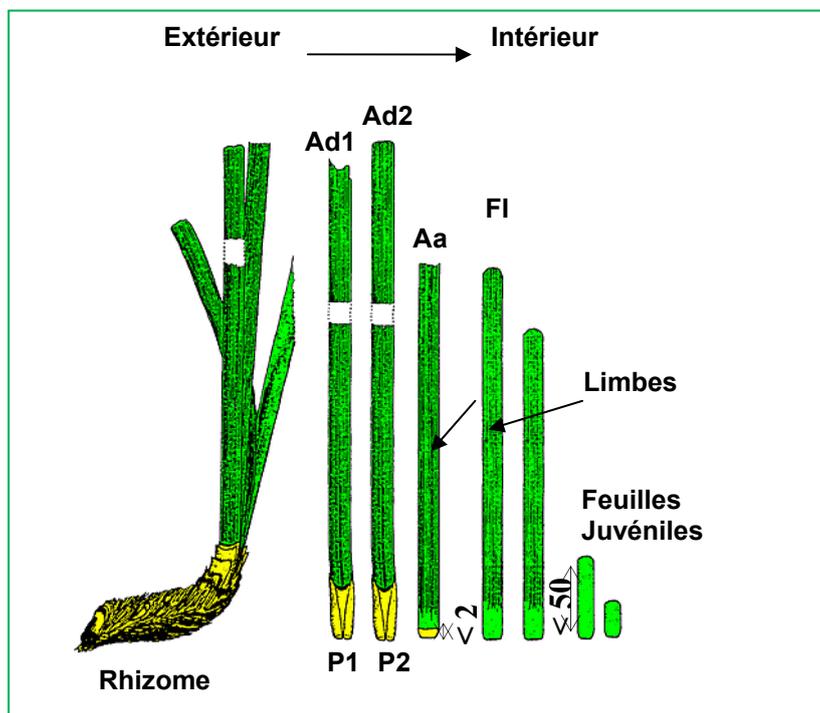


Figure 15. Dissection d'un faisceau foliaire (d'après PERGENT, 1987 ; modifiée).

3.3. Etude des teneurs en HAP

3.3.1. Préparation des échantillons avant analyse

Du fait de la nature complexe des matrices dans lesquelles les composés d'intérêt sont présents, la préparation d'échantillon, la détection et l'identification des composés à des niveaux de trace sont des aspects importants des méthodes analytiques.

L'objectif de la préparation de l'échantillon avant analyse est d'obtenir un échantillon représentatif dans lequel la concentration en polluant est aussi proche que celle présente dans la matrice d'origine.

Les échantillons ainsi congelés sont lyophilisés pendant 72 h à une température de (-50 C° à -60 C°) et sous pression réduite (10^{-1} bar) (lyophilisateur modèle CHRIST-Beta 1-8). La lyophilisation est une déshydratation des échantillons par sublimation qui s'effectue par la libération de l'eau de l'échantillon en passant de la phase solide à la phase vapeur sans passer par la phase liquide. Ce moyen de déshydratation est préférable à celui de l'évaporation à l'étuve qui présente un risque de perte de certains composés volatils et une source d'altération de l'échantillon.

Les échantillons lyophilisés sont ensuite réduits en poudre fine à l'aide d'un mixeur en verre afin d'éviter toute contamination. Le broyage a pour but d'homogénéiser l'échantillon et de favoriser la mise en solution des éléments à analyser (augmenter la surface spécifique du matériau).

Ces derniers sont remis dans des piluliers en verre et conservés sans disposition particulière pendant des années.

3.3.2. Extraction des échantillons et purification des extraits

■ Extraction

L'extraction des échantillons a pour but de mettre en solution tout ou partie des polluants avant analyse.

Dans ce travail, nous avons réalisé une extraction dite totale pour laquelle plusieurs méthodes sont disponibles sans toutefois qu'il y ait une méthode standardisée. Mais la méthode de référence est l'extraction au Soxhlet indiquée dans l'extraction des HAP.

Les extractions de matrice solide par Soxhlet a pour principe le partage des composés entre la phase liquide et la matrice solide qui se produit lorsque les analytes passent de la matrice d'échantillon vers le solvant judicieusement choisi.

L'extraction de type Soxhlet permet le traitement de solides de toute taille avec des solvants en phase liquide. La matrice solide est introduite dans une cartouche de cellulose fixée sur un réservoir de solvant qui est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant chauffé est vaporisé puis condensé au niveau du réservoir et reste en contact avec le solide. Quand le volume du solvant condensé dans le réservoir atteint un certain niveau, le solvant repart dans le chauffe-ballon par un phénomène de siphon pour être à nouveau décondensé tout en entraînant les composés d'intérêt dans le ballon où ils seront finalement concentrés après plusieurs cycles d'extraction (Figure 16). Cette méthode permet d'obtenir des rendements satisfaisants pour de nombreux composés.

Le solvant utilisé dans cette étude est un mélange à 80% d'heptane (pour analyse-Fluka) et 20% d'acétone (Supra Pur, Sigma-Aldrich) (LABBE, 2009 ; PERGENT *et al.*, 2011). L'extraction se fait en de 6 cycles en une durée de temps de 8h.

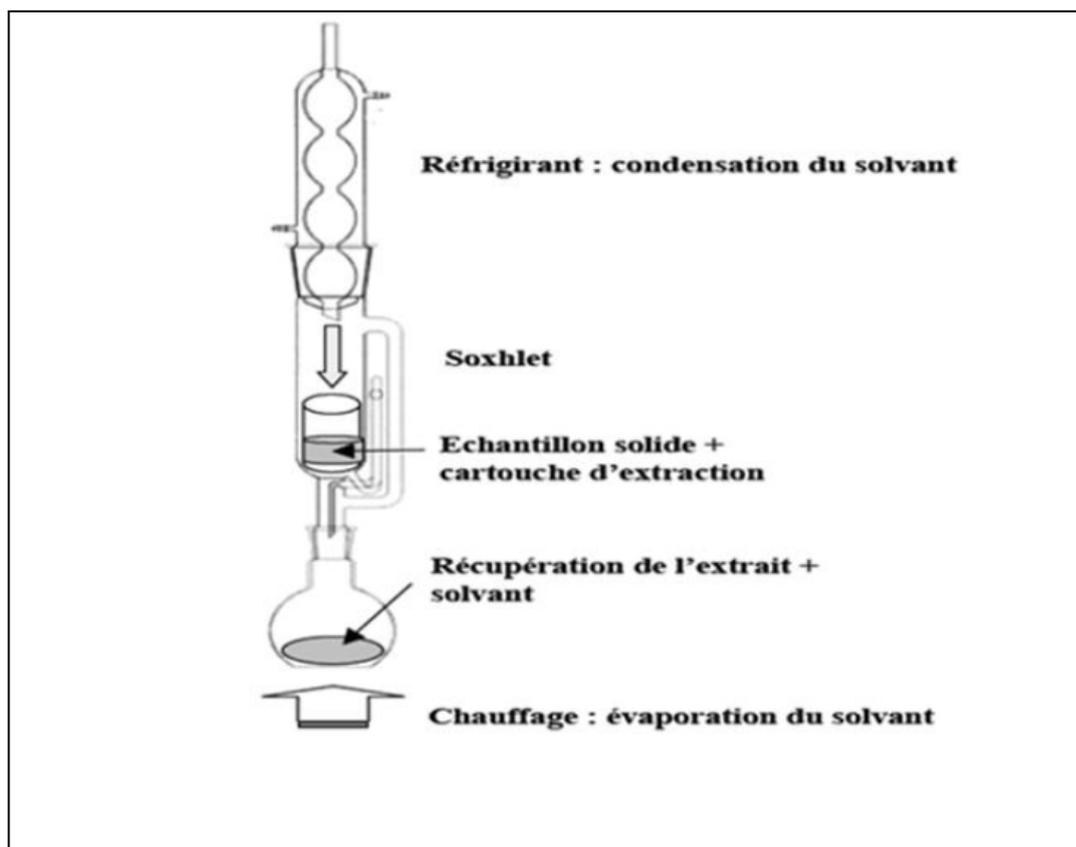


Figure 16. Système d'extraction par Soxhlet.

L'évaporation du solvant utilisé lors de l'extraction est réalisée dans un évaporateur rotatif (Rotavapor, Laborato 4000 – Efficient H eidolph) Figure 17). Cet appareil est utilisé afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (tout le solvant est enlevé) une solution ou une suspension. Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide (partielle). La solution est mise en rotation pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, puis la pression est diminuée grâce à une trompe à eau. La solution est chauffée pour accélérer l'évaporation puis la température est maintenue à 40°C sous une pression : 1,5 bar (la température du bain-marie ne doit pas dépasser 69°C qui est la température d'ébullition de l'heptane). L'extrait est ainsi réduit à 10 ml, puis concentré sous jet d'azote (N₂) jusqu'à un volume de 2 ml.

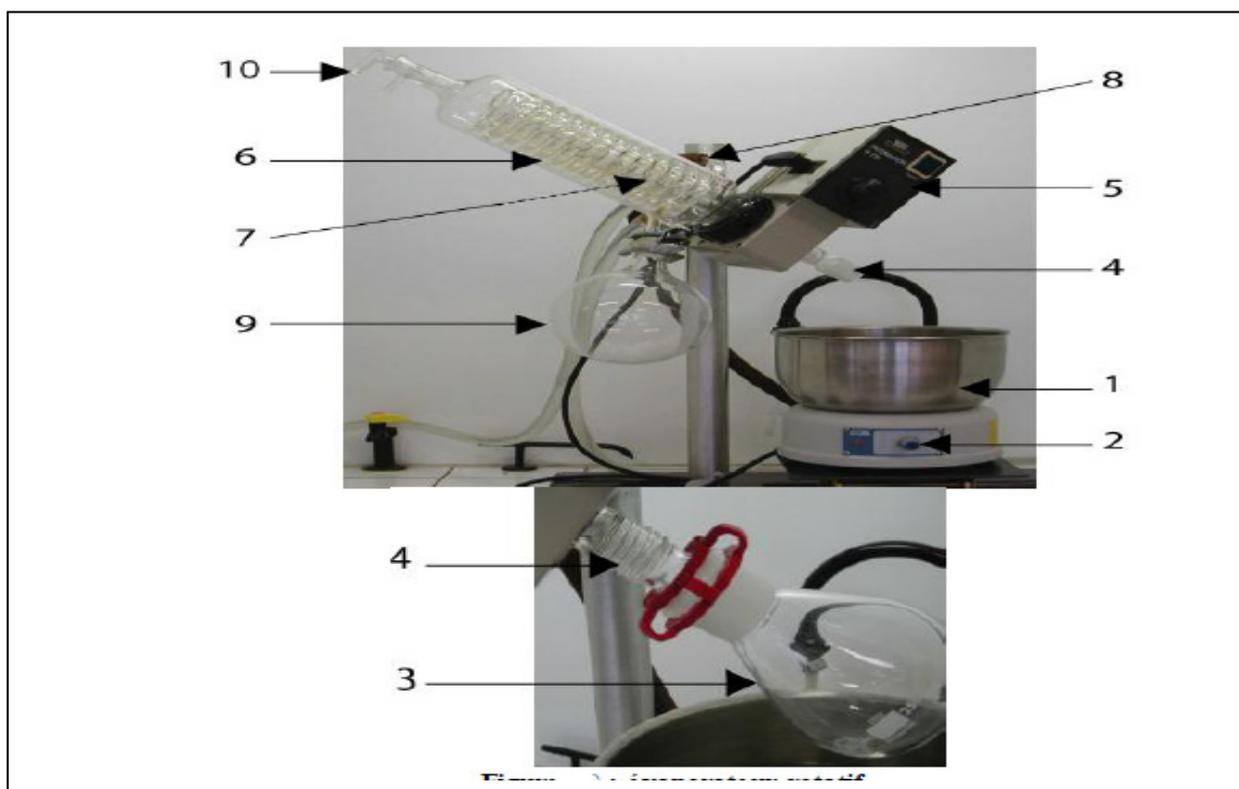


Figure 17. Evaporateur rotatif.

1. Bain-marie d'eau distillée
2. Thermostat
3. Ballon contenant le solvant à extraire
4. Conduit de vapeur
5. Bouton pour le réglage de la vitesse de rotation du ballon
6. Réfrigérant
7. Entrée et sortie d'eau du réfrigérant
8. Connexion à la trompe à eau : notice trompe à eau
9. Ballon récepteur du solvant extrait
10. Robinet de mise sous vide

■ Purification

L'étape de purification permet d'éliminer une partie des composés extraits pouvant représenter une source potentielle de bruit de fond lors de l'analyse. La méthode couramment utilisée pour les HAP est la purification sur colonne ouverte.

L'extraction liquide-solide est basée sur la distribution des composés entre la phase liquide représentative de l'échantillon et la phase solide qui est un adsorbant. Elle s'apparente à un processus chromatographique dans lequel l'adsorbant joue le rôle de phase stationnaire et l'échantillon percolé constitue la phase mobile.

En effet, si le soluté présente une forte affinité vis-à-vis de l'adsorbant, alors il y restera totalement fixé au cours de la percolation de l'échantillon. La matrice de l'échantillon peut alors être éliminée en partie ou totalement grâce à une étape de

lavage. Les composés d'intérêt sont ensuite élués par un solvant de grande force éluante.

Avant de procéder à la purification, l'activation du gel de silice et de l'alumine a été opérée pendant 8h à 120°C puis désactivée partiellement par l'addition de 3% de poids d'eau bidistillée.

Nous avons réalisé la purification des extraits selon la procédure suivante :

Une burette (colonne) de 50 ml de contenance, de 0,1 ml de diamètre interne et munie d'un robinet en téflon est remplie selon la méthode humide, successivement par :

- de la laine de verre afin de retenir les deux adsorbants (gels de silice et alumine)
- 4 ml d'heptane sont utilisés pour le conditionnement de la burette.

Première purification au gel de silice :

- 5 g de gel de silice mélangé dans l'heptane sont mis dans la colonne. Après décantation, l'heptane est récupéré sans laisser la colonne sécher.
- élution de l'échantillon avec 10 ml d'heptane.

Une pincée de sulfate de sodium anhydre est ajoutée afin d'éliminer les traces d'eau.

- l'éluant récupéré est réduit à 2 ml.

Purification avec l'alumine

- 10 g d'alumine mélangé dans l'heptane sont mis dans la colonne.
 - la colonne est rincée avec 4 ml d'heptane et 4 ml d'un mélange heptane-dichlorométhane dans les proportions 20/80 (Figure 18).
- L'échantillon est élué avec 8 ml du mélange (heptane- dichlorométhane) puis repris avec 1 ml d'acétonitrile.

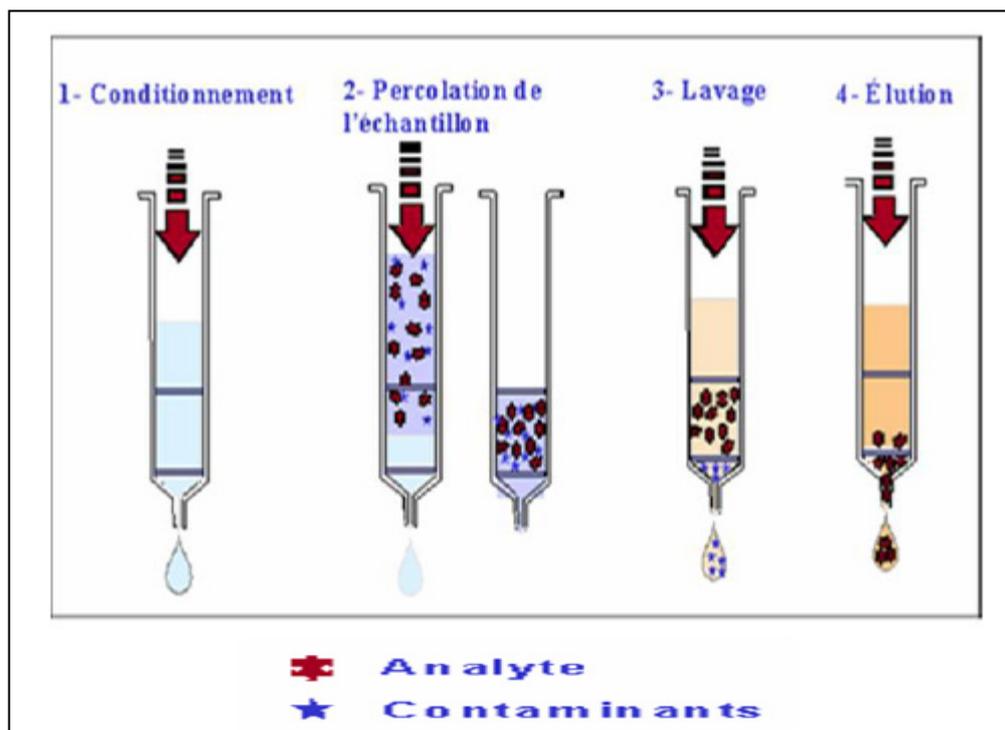


Figure 18. Principe de l'extraction sur colonne ouverte.

3.3.3. Analyse des échantillons

Afin d'identifier et de quantifier les composés en HAP dans notre matrice végétale, l'analyse des échantillons a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV (HPLC-UV). En effet, en raison de sa polyvalence et du vaste domaine de ses applications, la chromatographie liquide haute performance est actuellement la plus utilisée de toutes les techniques de séparation. Les dosages ont été réalisés au Laboratoire HSE (Health, Security and Environment) de l'Institut algérien du pétrole (IAP-Boumerdès) du 15 mars 2015 au 20 mai 2015.

■ Principe de l'HPLC

Un appareil d'HPLC comprend différents modules : un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un système de pompage permettant d'effectuer des éluions graduées, un injecteur, une colonne, un détecteur et un système d'acquisition de données (Figure 19).

En HPLC, la séparation des composés se fait par des interactions avec la phase stationnaire et avec la phase mobile. Ces interactions sont primordiales. Une bonne séparation d'un mélange dépendra donc d'une bonne adéquation soluté-phase stationnaire-phase mobile.

L'échantillon à doser est injecté dans une colonne de fine granulométrie (phase stationnaire) puis il est poussé dans la colonne à l'aide d'un mélange de solvants (phase mobile). Les différents constituants du mélange sont inégalement retenus par la colonne en raison de différences d'affinité avec la phase solide. Il en résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et avec les vitesses de déplacement différentes ; ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Le détecteur placé en sortie de colonne permet d'obtenir un chromatogramme.

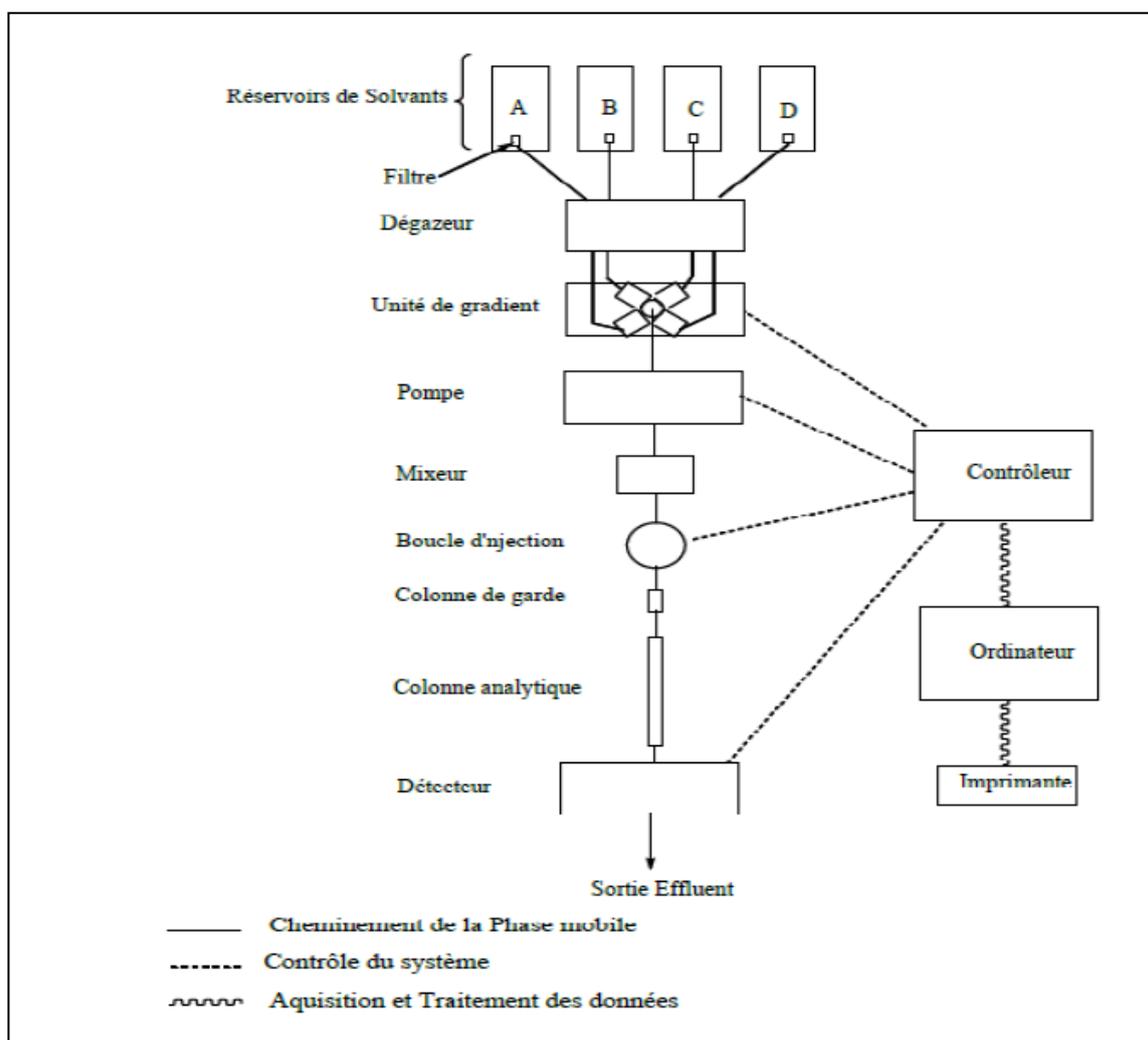


Figure 19. Diagramme du système HPLC utilisé.

■ Conditions chromatographiques

– Méthode

Chromatographie liquide phase inverse (RP-HPLC), type **Waters 2695 XE Separator Module**

Détection UV : **Waters 2487**

– **Colonne RP-HPLC :**

Silice greffé : C18.

Longueur : 25 cm.

Diamètre interne : 4,5 mm.

Diamètre des particules : 5 μm .– **Longueur d'onde** : 254 nm– **Quantité injectée** : 10 μl – **Eluant** : eau–acétonitrile, en mode gradient.■ **Préparation des solutions étalons**

Afin, d'identifier les composés de HAP dans nos échantillons nous avons procédé à la préparation d'un étalon mix (mélange) composé des 15 étalons de HAP dont les concentrations sont celles données par l'IAEA-MEL/MESL (2001). (Annexe 1).

La dilution est faite dans une solution d'acétonitrile pure pour analyse.

Tableau 8. Concentrations des 15 HAP pour la préparation du mix.

Ordre d'élution	Composés	Concentrations
1	Naphtalène	31.61 ng / μl
2	Acénaphène	24.52 ng / μl
3	Acénaphthylène	34.05 ng / μl
4	Phénanthrène	36.67 ng / μl
5	Anthracène	33.34 ng / μl
6	Fluoranthène	20.86 ng / μl
7	Pyrène	30.35 ng / μl
8	Chrysène	28.04 ng / μl
9	Fluorène	38 ng / μl
10	Benzo (a) Anthracène	100 μl
11	Dibenzo (a.h) Anthracène	100 μl
12	Benzo (k) Fluoranthène	36.6 ng / μl
13	Benzo (b) Fluoranthène	28 ng / μl
14	Benzo (g.h.i) Pérylène	100 μl
15	Benzo (a) Pyrène	22 ng / μl

* : Les étalons en poudre sont exprimés en ng/ μl et les solutions en μl .

■ Optimisation de la méthode

L'optimisation de la méthode consiste à faire varier trois paramètres au niveau de l'appareillage : la température, le flux (ml/min) et le pourcentage du mélange (acétonitrile et eau). Cette étape est longue et plusieurs essais sont nécessaires, mais néanmoins indispensable pour une bonne séparation des pics obtenus. Les conditions optimales obtenues pour ces paramètres sont présentées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Conditions opératoires du chromatographe HPLC-UV.

Colonne C18	T° = 30°C
Gradient binaire	Solvant A : eau 15% Solvant B : acétonitrile 85%
Débit	0,5 ml / minute

* : la température de la salle de travail est maintenue à 26°C.

3.4. Dosage des lipides totaux

En raison de la forte solubilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les lipides, nous avons essayé de rechercher une corrélation entre les teneurs en lipides totaux et les HAP ciblés.

Les analyses ont été effectuées dans les laboratoires de l'ENSSMAL (Dély Ibrahim) et ont porté sur les tous les compartiments de *Posidonia oceanica* des deux sites pris en compte dans l'analyse des HAP.

3.4.1. Principe de la méthode utilisée

Les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour extraire les lipides dans le but de mesurer leur concentration. Dans ce travail, l'extraction des lipides totaux est réalisée par l'appareil Soxhlet, selon la méthode de SALGHI (2004) modifiée par AISSOU (2008).

■ Extraction

L'extraction est réalisée à l'aide d'un extracteur Soxhlet. 0,5 g de poudre est introduit dans une cartouche en cellulose (28 mm x100 mm). L'extraction se fait comme suit :

- 160 ml d'éther-éthylique sont versées dans chaque matras puis refermés et mis à chauffer.
- Dans un premier temps, la température de la plaque chauffante est réglée à 100°C. Dès ébullition du solvant, la température est réduite à 60°C de sorte à maintenir une ébullition stable du solvant.
- Pour l'épuisement complet du solide, une durée de temps de 2h30 est suffisante pour une extraction complète des lipides. Par la suite, le système est arrêté et les ballons sont laissés à refroidir.

■ Concentration des extraits

- Environ 120 ml de l'extrait récupéré est concentré à sec avec l'évaporateur rotatif «BuchiRotavapor R.210» (Température : 40°C, Pression : 1,5 bars une vitesse de rotation de 6 à 7 tours/mn).
- Les ballons sont séchés en étuve à 37°C, puis laissés refroidir dans un dessiccateur et pesés. Soit P ce poids.

Le calcul de la teneur en lipides se fait par la formule suivante :

$$\% \text{ en lipides} = \frac{M}{m} * 100$$

M : quantité des lipides (P-P0) en g.

P : poids du ballon rempli de lipides en g.

P0 : poids de ballon vide en g.

m : poids de l'échantillon en g.

Chapitre 4



Résultats

&

Discussion

4. Résultats et discussion

4.1. Résultats du dosage des HAP

Sur les 16 HAP recommandés par l'US EPA, seuls 15 ont été dosés (l'indéno[1,2,3]pyrène n'a pas été analysé faute d'étalon standard au laboratoire).

L'analyse par HPLC-UV a porté sur les 15 étalons pris d'abord individuellement (Annexe II-1 et 2) afin de pouvoir par la suite les identifier après analyse du mélange en fonction du temps de rétention des pics obtenus sur les chromatogrammes.

L'injection du mélange préparé à partir des 15 HAP a été testée à plusieurs reprises afin d'essayer d'obtenir des pics d'absorbance les plus clairs possibles (Annexe II-1). Bien que les chromatogrammes obtenus n'étaient pas satisfaisants, nous avons pris comme graphique de référence pour ce travail les pics indiqués dans la Figure 21.

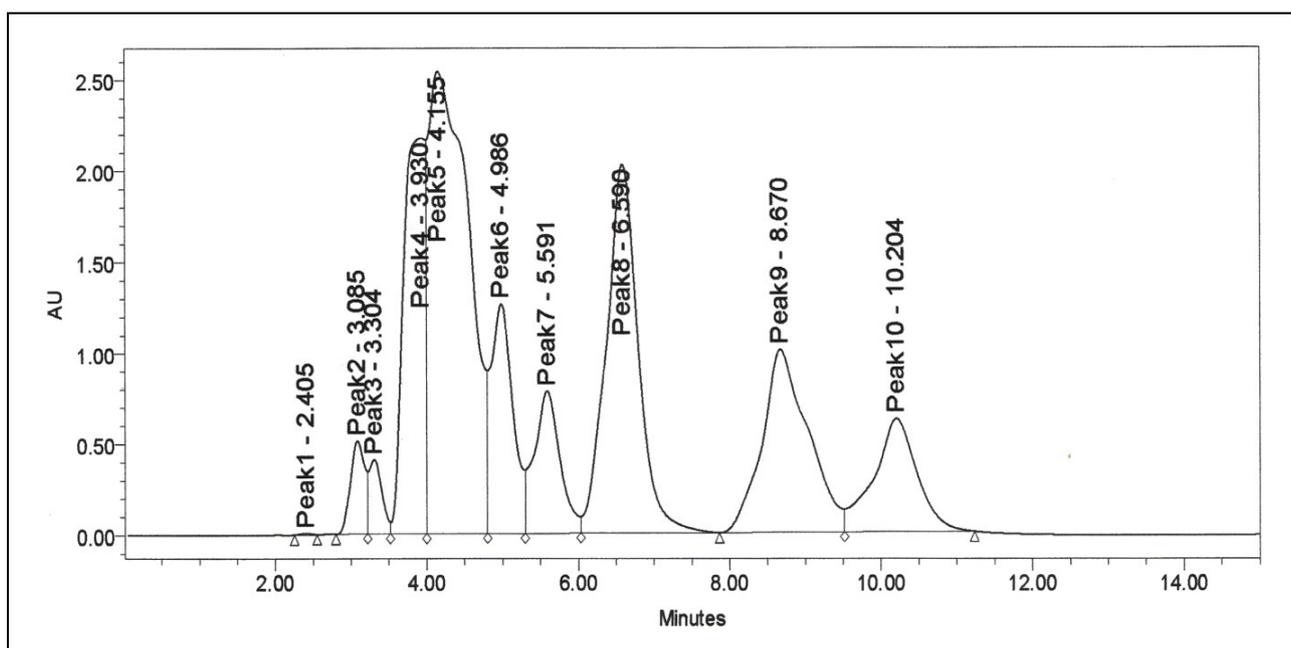
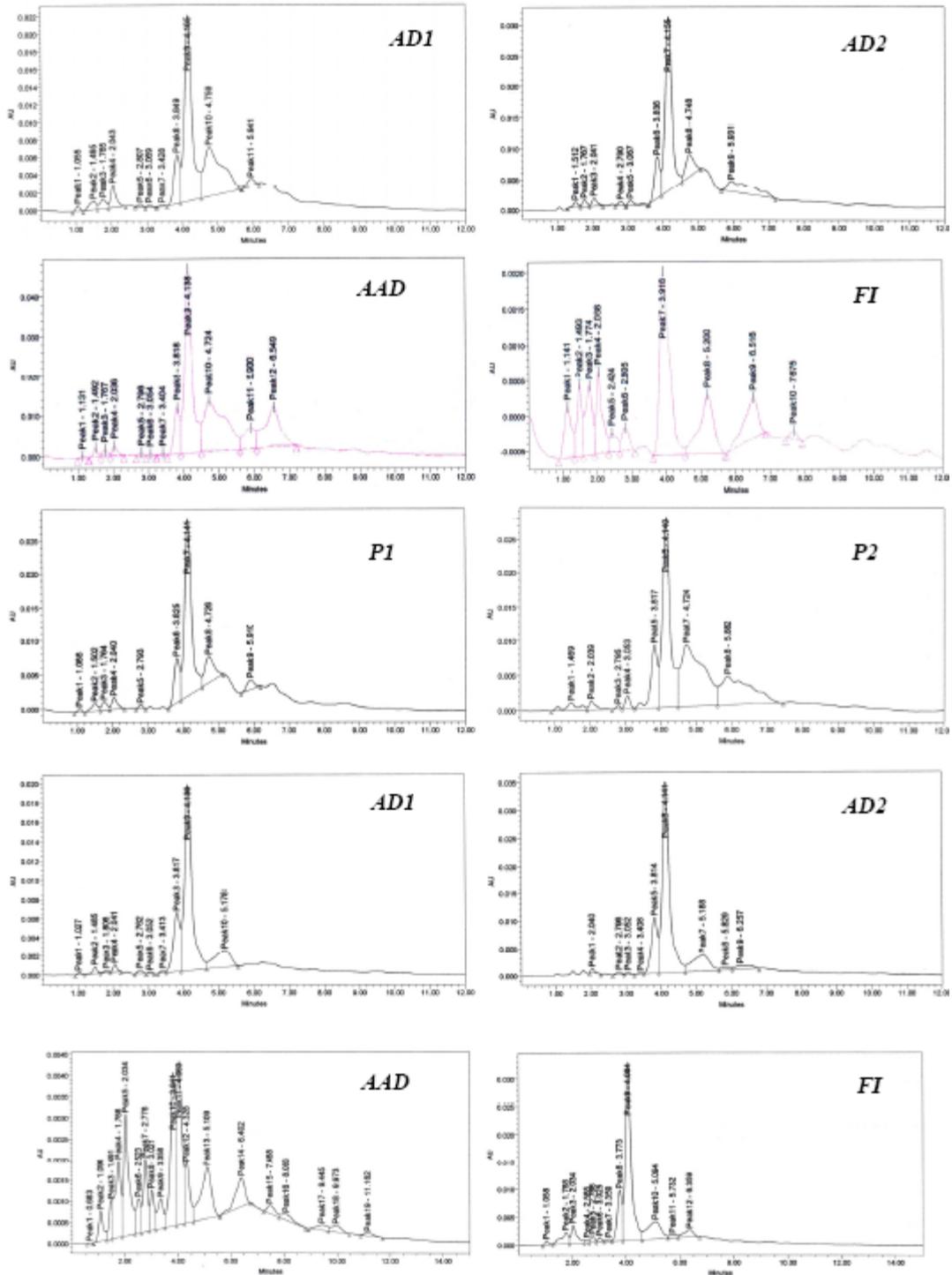
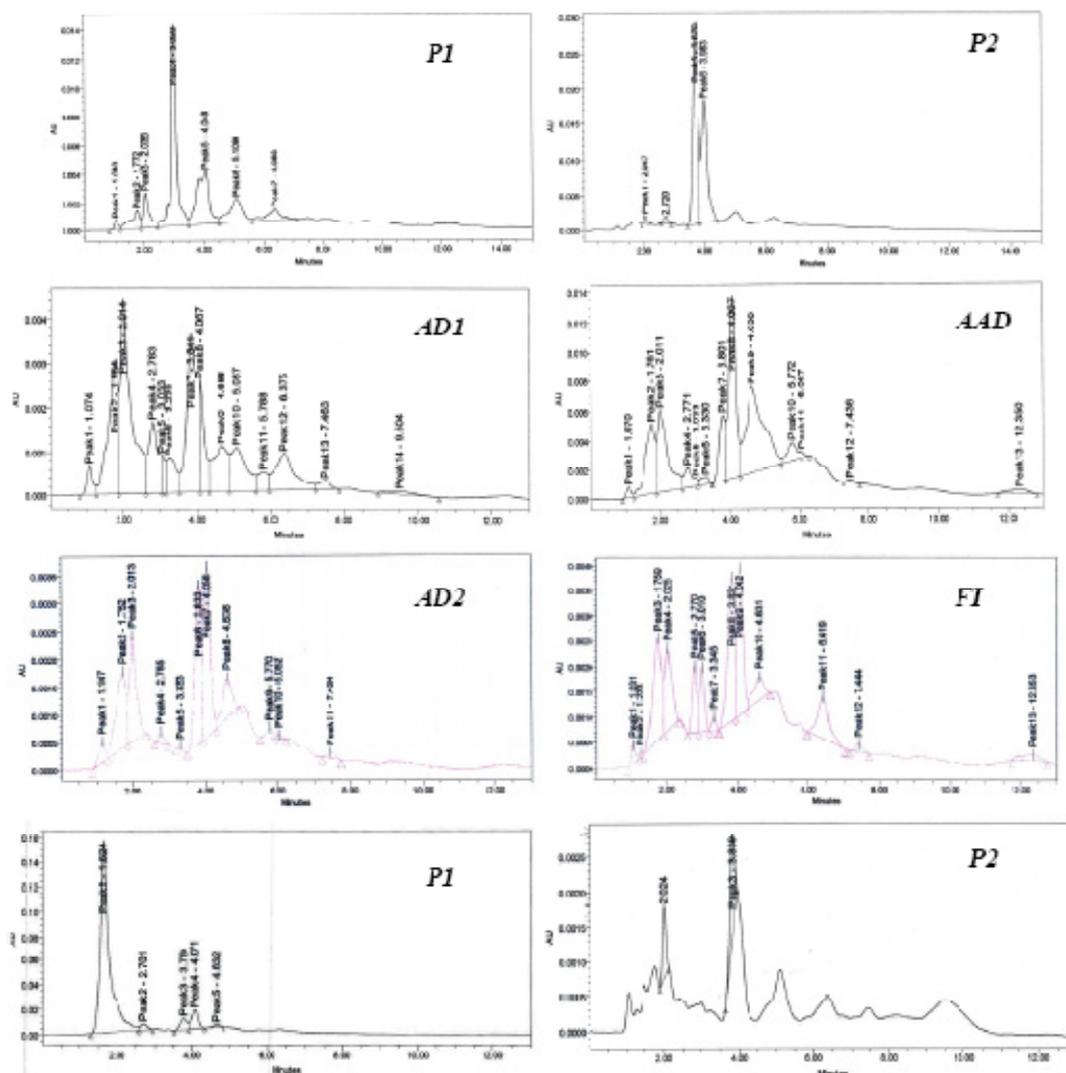


Figure 21. Chromatogramme obtenu par injection de l'étalon mix.

Ce chromatogramme n'a révélé que 9 HAP (le premier se confond avec la ligne de base, donc ne peut être pris en compte) qui seront identifiés par leurs temps de rétention grâce au dosage des HAP individuellement. Par ailleurs, les pics d'absorbance ne sont pas bien séparés, ce qui rend impossible le calcul des aires d'absorbance. Ces éléments nous amènent à ne réaliser qu'une étude qualitative de nos échantillons. Les figures 22 et 23 et les tableaux 10 et 11 résument les résultats des dosages effectués sur *P. oceanica* dans les deux stations d'étude.



AD = Feuille Adulte ; AAD = Feuille Adulte Autre ; FI = Feuille Intermédiaire ; P = Pétiole

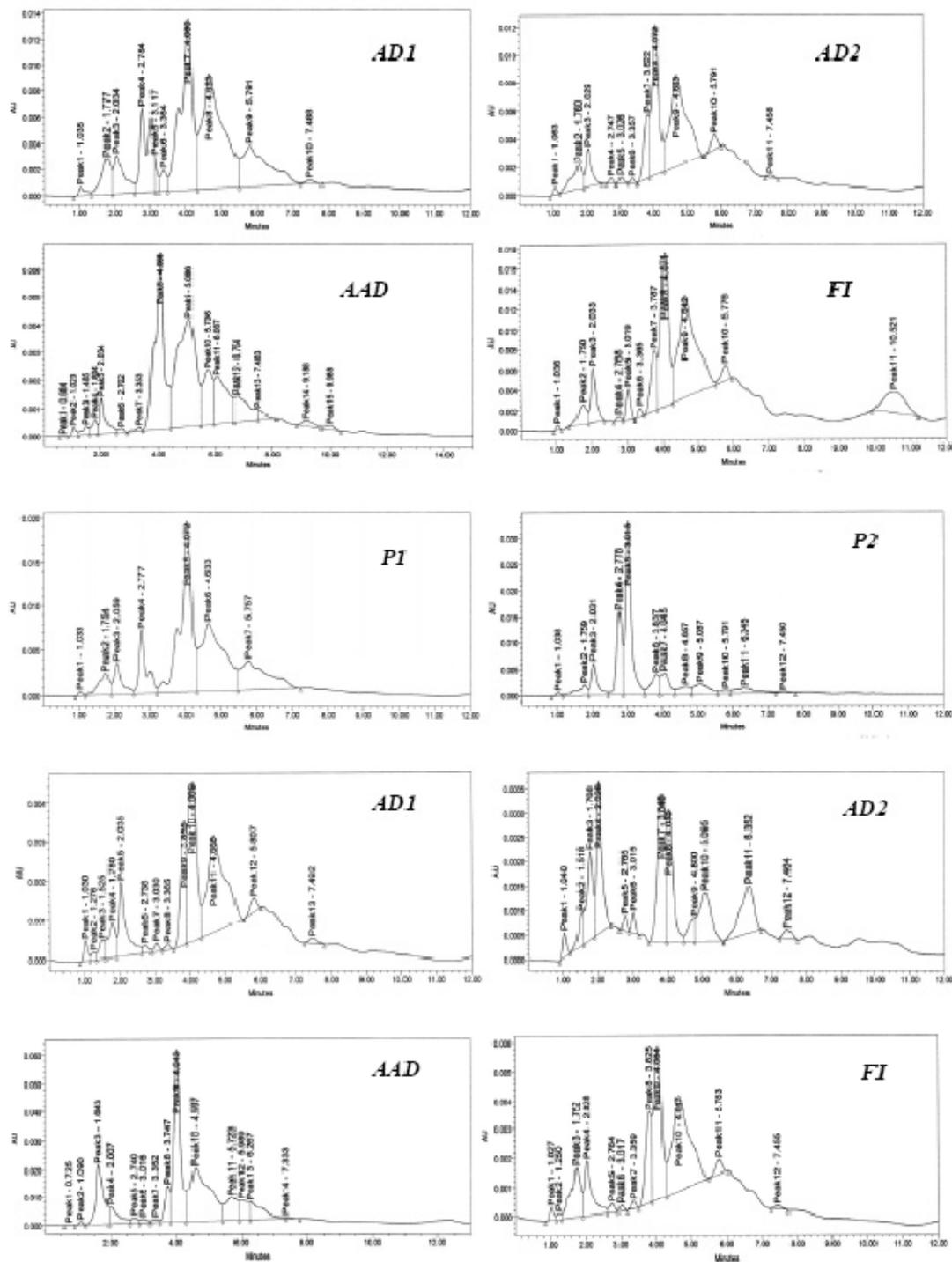


AD = Feuille Adulte ; AAD = Feuille Adulte Autre ; FI = Feuille Intermédiaire ; P = Pétales

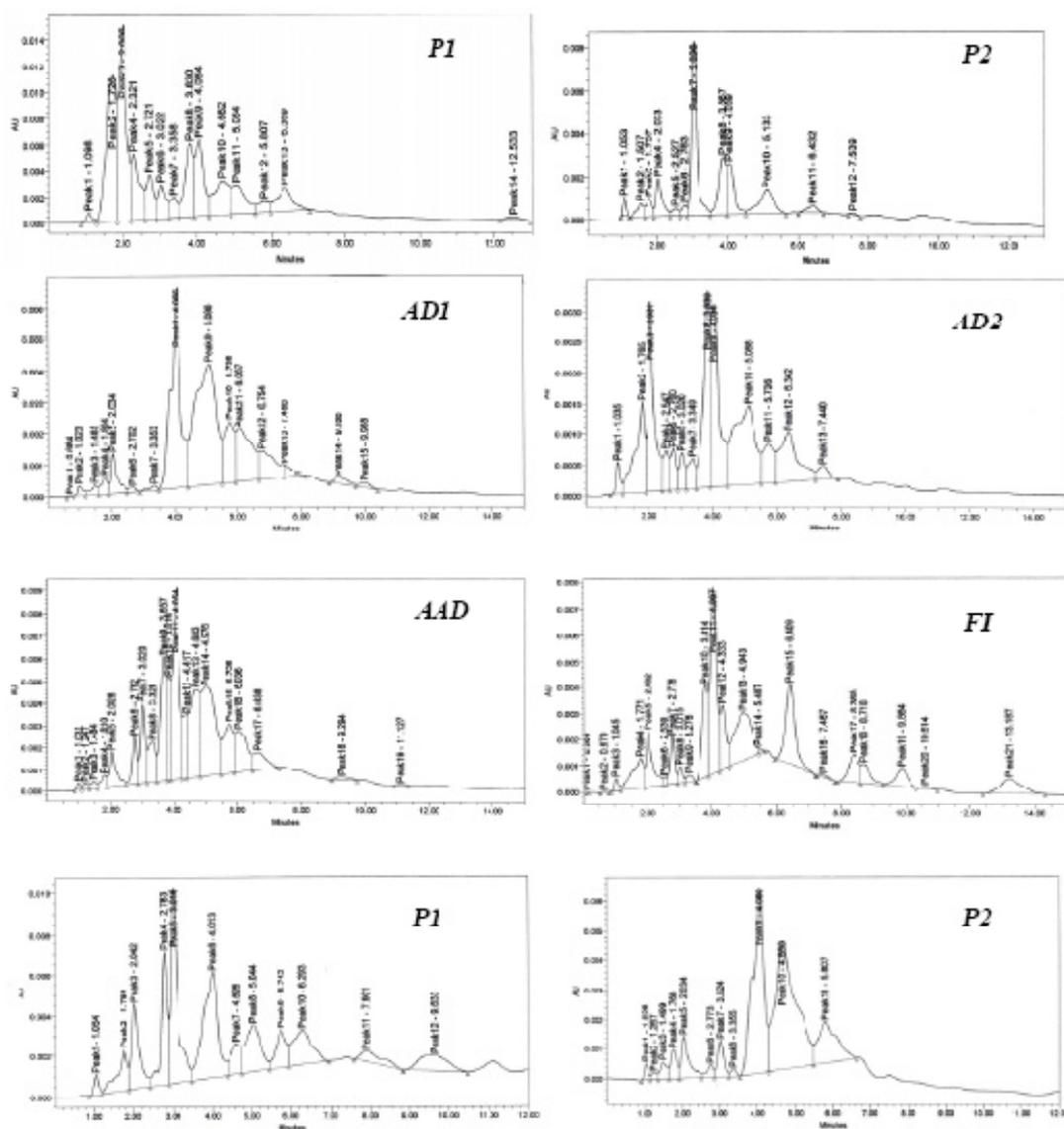
Figure 22. Chromatogramme des échantillons de l'île Agueli.

Tableau 10. Comparaison entre les temps de rétention (TR) des pics obtenus par l'étalon mix et les échantillons de l'Ile Agueli (AG) (L 1: lot 1, L2 : lot 2, L3 : lot 3, P : présent).

TR du mix	2.4 (AcPy)	3.1 (Nap)	3.3 B[K]Flt)	3.9 (FL)	4.16 (Phe)	4.98 B (ghi)P	5.6 (Pyr)	8.7 B[b]Flt	10.2 D(ah)A
Ad1									
L1	P	P	P	-	-	-	-	-	-
L2	P	P	P	-	-	-	-	-	-
L3	P	P	P	P	P	-	p	-	-
Ad2									
L1	P	P	P	P	P	-	-	-	-
L2	P	P	P	P	p	-	-	-	-
L3	p	p	p	p	p	-	-	-	-
AA									
L1	P	P	P	P	P	-	-	-	-
L2	P	P	P	P	P	-	-	-	-
L3	p	p	p	p	p	-	-	-	-
FI									
L1	P	P	P	P	-	-	P	-	-
L2	P	P	P	P	-	-	P	-	-
L3	p	p	p	p	-	-	-	-	-
P1									
L1	P	P	P	P	-	-	-	-	-
L2	P	P	P	P	-	-	-	-	-
L3	p	P	P	p	-	-	-	-	-
P2									
L1	P	P	-	P	P	-	-	-	-
L2	-	p	-	-	-	-	-	-	-
L3	-	P	P	p	-	-	-	-	-



AD = Feuille Adulte ; AAD = Feuille Adulte Autre ; FI = Feuille Intermédiaire ; P = Pétiole



AD = Feuille Aûle ; AAD = Feuille Aûle Aurre ; FI = Feuille Intermédiaire ; P = Périole

Figure 23. Chromatogramme des échantillons du Port de Khemisti

Tableau 11. Comparaison entre les temps de rétention (TR) des pics obtenus par l'étalon mix et les échantillons du Port de Khemisti (PK) (L1 : lot 1, L2 : lot 2, L3 : lot 3, P : présent).

TR du mix	2.4 (AcPy)	3.1 (Nap)	3.3 B[K]Flt)	3.9 (FL)	4.16 (Phe)	4.98 B (ghi)P	5.6 (Pyr)	8.7 B[b]Flt	10.2 D(ah)A
Ad1									
L1	P	P	P	-	-	-	P	-	-
L2	P	P	P	P	P	-	P	-	-
L3	P	P	P	-	-	-	p	-	-
Ad2									
L1	P	P	P	P	-	P	-	-	-
L2	P	P	P	P	-	P	-	-	-
L3	p	p	p	p	-	P	P	-	-
AA									
L1	P	P	P	-	-	-	P	-	-
L2	P	P	P	P	-	-	P	-	-
L3	p	p	p	-	-	P	P	-	-
FI									
L1	P	P	P	-	-	-	P	-	-
L2	P	P	P	-	-	-	P	-	-
L3	p	p	p	p	P	P	-	P	P
P1									
L1	P	-	-	-	-	-	P	-	-
L2	P	P	P	P	-	-	P	-	-
L3	p	-	-	-	-	-	P	-	-
P2									
L1	P	P	p	P	-	-	P	-	-
L2	P	p	p	P	-	-	P	-	-
L3	P	P	P	-	-	-	P	-	-

Synthèse des observations et discussion

Les 9 HAP détectés au niveau du mélange sont : acénaphthylène ; naphtalène ; fluoranthène ; pyrène ; Benzo[k]Fluoranthène ; benzo[ghi]pérylène ; Benzo[b]Fluoranthène ; phénanthrène et le dibenzo[ah]anthracène. Une meilleure optimisation de la méthode, qui aurait nécessité plus de temps, aurait permis de détecter le reste des HAP.

Les résultats récapitulés dans les tableaux 10 et 11 montrent une non-homogénéité entre les trois lots pour certains échantillons. Ces lots peuvent avoir été altérés (pertes ou contaminations) lors de leur manipulation. Les différences observées entre les trois lots pourraient également refléter la variabilité qui existe d'un individu à l'autre (Pergent, 1987

Les HAP ont pu être détectés dans toutes les parties du faisceau foliaire. Ce résultat est conforté par l'étude de PERGENT *et al.* (2011) qui souligne la capacité de *Posidonia oceanica* à bioaccumuler les HAP au même titre que les métaux traces. L'absorption des HAP par la partie épigée (feuilles et pétioles) suggère que la contamination se fait à partir de la colonne d'eau.

Trois HAP (acénaphthylène, naphtalène et Benzo[k]Fluoranthène) sont détectés dans les tous les compartiments des deux stations.

Le naphtalène et l'acénaphthylène ont une origine anthropique (pyrolytique). Leur détection pourrait s'expliquer dans les deux stations au vu des activités industrielles qui caractérisent les deux zones, notamment de teinture, tannage et autres. Ces deux HAP font partie des composés à faible poids moléculaire (LMW). Les HAP de faible poids moléculaire (ceux ayant 2 à 3 cycles) peuvent plus facilement pénétrer dans les feuilles que ceux de plus haut poids moléculaire. Toutefois, ces HAP peuvent être adsorbés à l'intérieur de la plante, mais ne semblent pas s'y accumuler de façon très importante ((FISMES *et al.*, 2002) ; CCME, 2008).

En ce qui concerne le naphtalène, il semble que la source de contamination soit persistante dans la mesure où il a été détecté dans les deux stations, alors qu'il présente une durée de vie très courte (demi-vie = 16 à 48 jours) et une capacité de bioaccumulation la plus petite ($\log K_{ow} = 3.3$).

En revanche, le pyrène est détecté majoritairement au Port de Khemisti. Ce composé a également une origine anthropique (pyrolytique et pétrogénique), ce qui pourrait bien refléter l'état de contamination de cette station.

Le fluoranthène semble être beaucoup plus présent à la station de l'île Agueli. Ce composé peut avoir une origine naturelle qui proviendrait d'incendies (l'échantillonnage ayant été réalisé en été), ou une origine anthropique suite à l'utilisation de compost et de fertilisants utilisés en agriculture, vocation qui caractérise la zone étudiée. Par ailleurs, ce composé est détecté au niveau de tous les compartiments de *Posidonia oceanica*, à l'exception des limbes des feuilles adultes de rang 1. En effet, ces feuilles sont les plus âgées et sont situées à la périphérie du faisceau, donc les plus exposées à la lumière. Une photodégradabilité du composé pourrait être suggérée.

La même observation est faite pour le phénanthrène à l'île Agueli. Notons que ce composé à faible poids moléculaire n'est pas détecté au niveau des feuilles intermédiaires ni dans les pétioles et qu'il présente la durée de vie la plus courte (demi-vie = 16 à 20 jours).

Parmi les composés à poids moléculaire élevé (HMW), seul benzo[ghi]pérylène a été retrouvé dans les limbes des feuilles adultes de rang 2 du Port de Khemisti, et ce, dans les trois lots. Ce composé a une origine naturelle (incendies) ou anthropiques, notamment pétrogénique due aux effluents industriels et aux boues d'épuration. En effet, une station d'épuration est installée dans la région. Sa disparition au niveau des limbes des feuilles adultes pourrait aussi s'expliquer par une éventuelle photodégradabilité.

Globalement, à l'exception de l'indéno[1,2,3,cd]pyrène (non étudié dans ce travail) qui a la demi-durée de vie la plus longue, les autres HAP sont caractérisés par des durées de vie pas très longues, ce qui rend leur suivi difficile.

Par ailleurs, le fait de ne pas pouvoir disposer des concentrations des HAP ne permet pas d'établir des niveaux d'accumulation.

De plus et d'après la littérature, certains HAP seraient beaucoup plus à même d'être décelés par d'autres méthodes (HPLC-FL, NIOSH, 1998), ce qui rend la détection, particulièrement pour les molécules lourdes, et la comparaison (entre les méthodes) difficiles.

4.2. Teneurs en composés lipidiques chez *Posidonia oceanica*

Les mesures réalisées sur les lipides totaux sont condensées sous la forme de quelques paramètres (moyenne, écart-type) représentés dans les Figures 24 et 25.

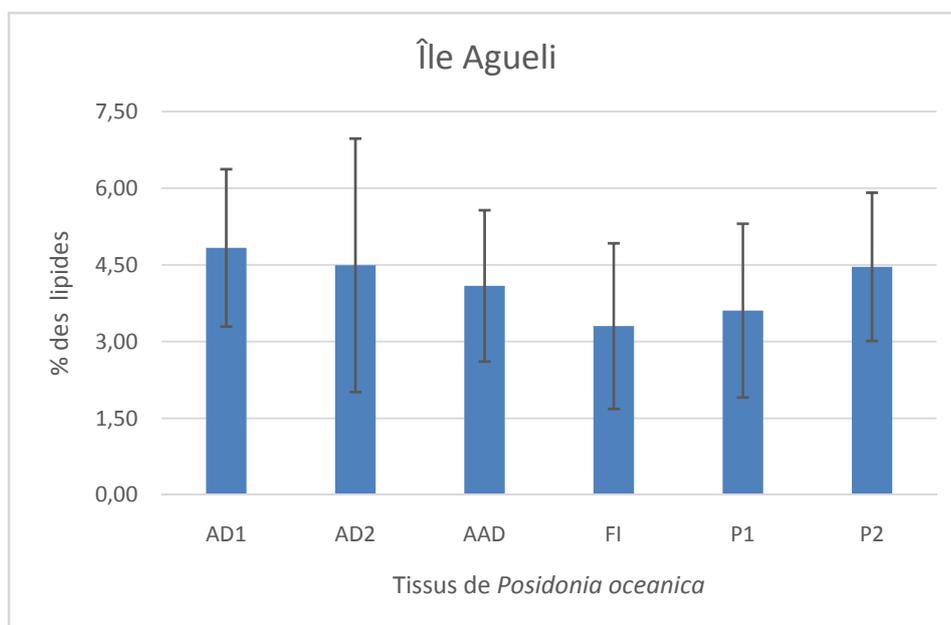


Figure 24. Pourcentage moyen des lipides totaux en fonction de la nature du tissu de *Posidonia oceanica* de l'île Agueli.

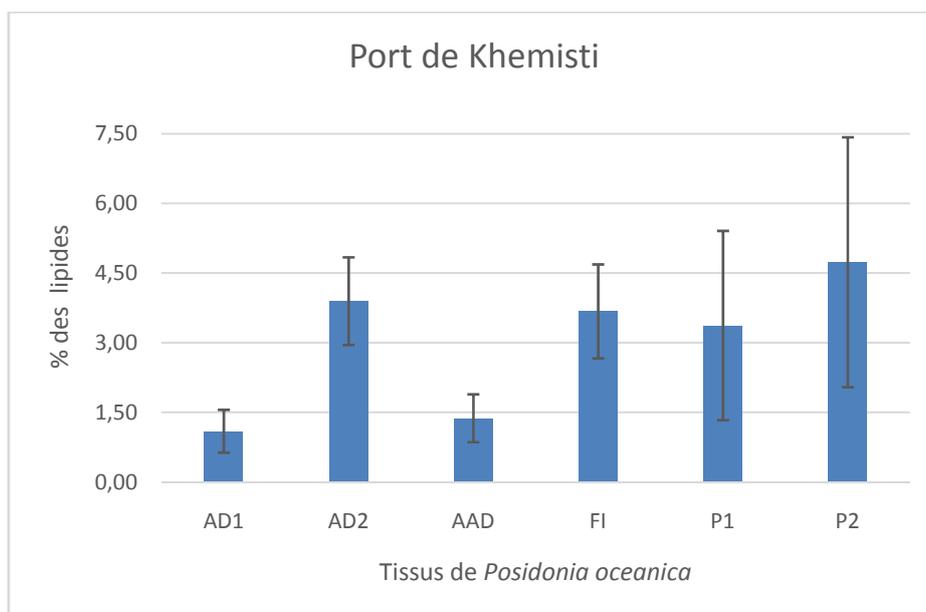


Figure 25. Pourcentage moyen des lipides totaux en fonction de la nature du tissu de *Posidonia oceanica* du Port de Khemisti.

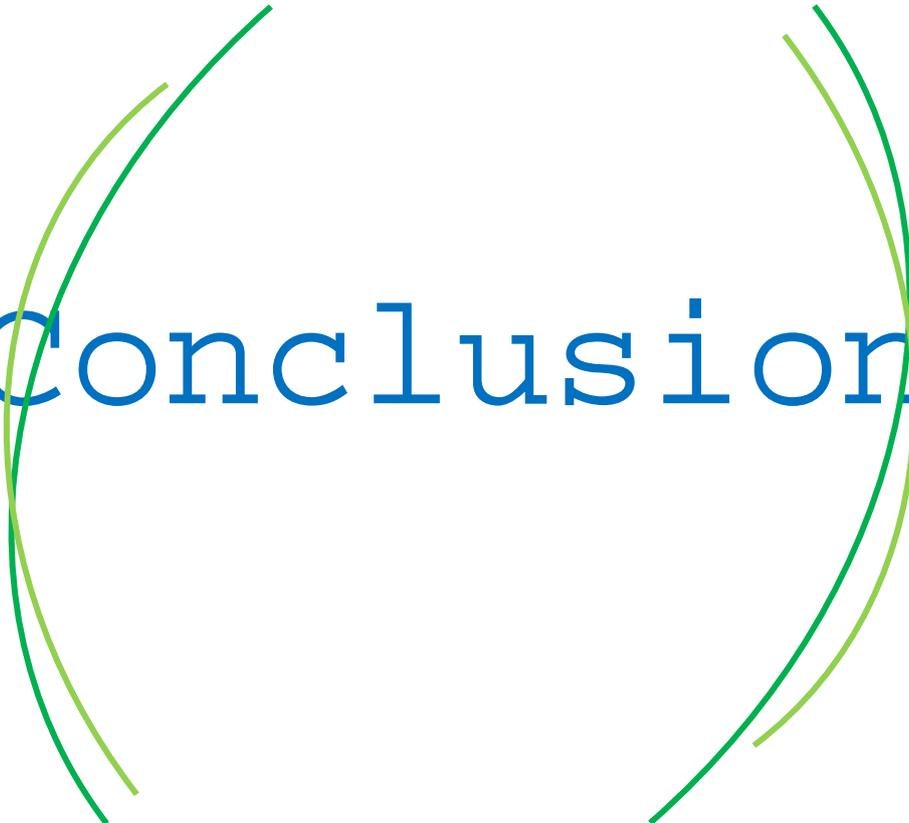
Les composés lipides ont été retrouvés dans tous les compartiments étudiés du faisceau foliaire. Toutefois, les teneurs diffèrent entre les stations et une variabilité tissulaire est observée.

Au niveau de la station de l'île Agueli, les taux moyens les plus élevés sont mesurés au niveau des feuilles adultes ($4,47 \pm 0,30$), puis des feuilles intermédiaires ($3,30 \pm 1,62$) et enfin les pétioles de *Posidonia oceanica* ($4,04 \pm 0,43$). Tandis qu'au Port de Khemisti les pétioles présentent les teneurs les plus élevées ($4,05 \pm 0,68$) suivies des feuilles intermédiaires ($3,67 \pm 1,01$) puis des feuilles adultes ($2,12 \pm 1,26$).

Cette accumulation préférentielle des lipides totaux enregistrée à l'île Agueli peut être mise en relation avec une plus grande vitalité de la plante. En effet, PIRC (1985) remarque que c'est durant la période estivale que la plante dispose de plus d'énergie (e.g température des eaux plus élevées, durée de la photopériode plus longue et intensité lumineuse plus forte) pour constituer et accumuler des réserves, qui seront utilisées durant l'hiver.

Nos résultats sont comparables à ceux de Gobert *et al.* (1995) qui fournissent une valeur moyenne (annuelle) de 3% pour les bases (les bases de toutes les feuilles adultes).

Par ailleurs, aucune corrélation ne peut être mise en évidence entre les teneurs en lipides totaux et les HAP identifiés, dans la mesure où nous ne disposons pas des concentrations.



Conclusion

Conclusion

L'enjeu majeur auquel nous avons à faire face aujourd'hui est la protection et la préservation de l'environnement marin face à la pollution anthropique.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude devant aboutir à définir les niveaux de contamination par les hydrocarbures aromatiques polycyclique de la Magnoliophyte marine endémique de la Méditerranée *Posidonia oceanica* (L.) Delile.

Le travail a été réalisé dans deux stations présentant des conditions environnementales différentes : une station dans la baie de Zemmouri (site sensible) : Ile Agueli, et une station dans la baie de Bou Ismaïl (site soumis anthropisé) : Port de Khemisti.

15 HAP (sur les 16) habituellement contrôlés (US EPA) ont été analysés grâce à la technique de chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplé à un détecteur UV.

Les résultats obtenus n'ont pu révéler que 9 HAP. Ce résultat montre la complexité de doser les HAP sur une matrice végétale aquatique (GRACIA *et al.*, 1992).. En effet, les caractéristiques des HAP, notamment leur volatilité (pour les plus légers), leur photodégradabilité, leurs faibles concentrations, leurs biodégradabilité font qu'ils sont difficiles à détecter. De plus, il semblerait que l'HPLC-UV à elle seule ne permet pas la détection de tous les HAP, du moins sans l'optimisation de la méthode. D'autres techniques, telles la GC-MS et à un moindre degré la l'HPLC-FL, pourraient donner de meilleurs résultats, notamment pour la première technique citée.

Toutefois et malgré le caractère préliminaire de cette étude, quelques tendances ont été relevées.

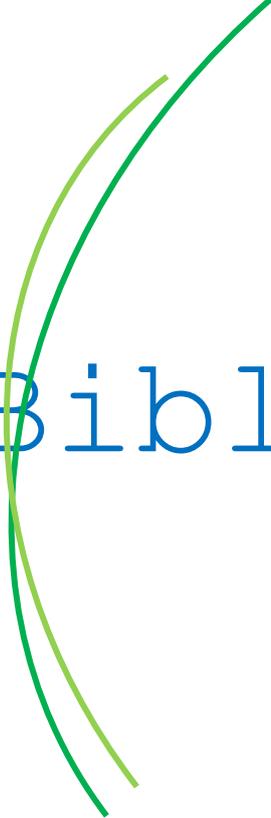
Les HAP, tout comme les éléments traces métalliques (ETM), composés inorganiques, se bioaccumulent dans les feuilles de *Posidonia oceanica*.

Les composés organiques identifiés dans les deux stations d'étude ont une origine anthropique. Le Pyrène a été détecté seulement dans la station anthropisée.

Enfin, cette étude aurait été fructueuse si les concentrations en HAP avaient pu être obtenues afin d'avoir des niveaux de base pour ces polluants pour le Sud de la Méditerranée. Cela nous aurait également permis d'établir des corrélations avec les teneurs en lipides.

Ce travail mérité d'être suivi, à condition de prendre en ligne de compte les éléments suivants :

- L'optimisation de la méthode reste une étape cruciale dans le dosage par HPLC-UV, dans la mesure où elle permet d'obtenir des pics bien séparés ainsi que des aires bien délimitées.
- Augmenter le nombre de réplicats à 5, comme cela se fait dans certaines études afin d'avoir une meilleure reproductibilité.
- Réaliser des comparaisons avec d'autres méthodes d'analyse (HPLC à fluorescence, GC-MS).
- Les HAP étant photodégradables, leur manipulation devrait se faire dans des conditions strictes, en particulier pour les manipulations qui demandent beaucoup de temps, telle l'extraction.
- Pour ce qui est des lipides, il serait plus judicieux de travailler directement sur les phospholipides.



Bibliographie

Références bibliographiques

- Ajoa, O. G., Adenuga, M. O et Lapido, J. K. (1988). Colorectal carcinoma in patients under the age of 30 years: A review of 11 cases. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh*. 33: 277-279.
- Accardi-Dey, A. et Gschwend, P.M. (2002). "Assessing the Combined Roles of Natural Organic Matter and Black Carbon as Sorbents in Sediments." *Environmental Science and Technology*. 36: 21-29.
- Albro P.W., 1976. In: *Chemistry and biochemistry of natural walls* (Colattukudy, P.E., Eds). Elsevier, Amsterdam.
- Anonyme, 2001. *Projet de lignes directrices pour les études d'impact sur les herbiers marins*. PNUE. CAR/ASP édit., UNEP(DEC)/MED WG.177/8, Tunis: 1-49.
- ASTDR, 1995. *Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. US Public Health Service pub., Atlanta, 487p.
- Augier H., 1985. L'herbier à *Posidonia oceanica*, son importance pour le littoral méditerranéen, sa valeur comme indicateur biologique de l'état de santé de la mer, son utilisation dans la surveillance du milieu, les bilans écologiques et les études d'impact. *Vie marine*, 7: 85-113.
- Augier H., Boudouresque C.F., 1979. Premières observations sur l'herbier de Posidonies et le détritique côtier de l'île du Levant (Méditerranée, France), à l'aide du "sous-marin" Griffon de la Marine Nationale. *Tr av. sci. Parc nation. Port-Cros*, 5: 141-153.
- Augier H., Maudinas B., 1979. Influence of the pollution on the photosynthetic pigments of the marine Phanerogam *Posidonia oceanica* collected from different polluted areas of the Region of Marseille (Mediterranean sea, France). *Oecologia Plantarum*, 14(2): 169-176.
- Augier H., Monnier-Besombes G., Sigoillot G., 1984b. Influence des détergents sur *Posidonia oceanica* (L.) Delile. In: Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A., Olivier J. edits. *International Workshop on Posidonia oceanica beds*, GIS Posidonie publ., Fr., 1: 407-418.
- Augier H., Robert P., Maffre R., 1980. Étude du régime thermique annuel des eaux au niveau des peuplements de Phanérogames marines de la baie de Port-Cros (îles d'Hyères, Méditerranée, France). *Tr av. sci. Parc nation. Port-Cros*, 6: 69-131.
- Augier H., 1987. *Herbier de Posidonies et pollution*. Centre d'Etudes, de Recherche et d'Informations sur la Mer (CERIMER). Faculté des sciences de Luminy : 1-16.
- Augier H., Santimone M., 1982. Studies on ash, carbon, hydrogen, nitrogen, proteins and aminoacids composition of the marine phanerogam *Posidonia oceanica* Delile, in various ecological conditions. *Acta Oceanologica, Plantarum*, 3(17) : 203 – 218.
- Bachari. Houma.F., 2009. *Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire*. Thèse de doctorat. Université du Val de Marne Paris XII 272 p.
- Barbera-Cebrian C., Sanchez-Jerez P., RamoS-EspLA A., 2002. Fragmented seagrass habitats on the mediterranean coast, and distribution and abundance of mysid assemblages. *Marine Biology*, 141 (3) : 405-413.
- Baumard, P., Budzinski, H., and Garrigues, P. 1997. *Fresenius J Anal Chem* 359(6): p. 502- 509.
- Bayne B. L., Anderson J., Engel D., Gilfilan E., Hoss D., Illoyd R., Thuberg F. P., 1980. Physiological techniques for measuring the biological effects of pollution in the sea. Physiological panel report. *Rapp. P. V., Réun. Commiss. internation. Explor. sci. Médit.*, : 88-89.

Bay D., 1978. Etude in situ de la production primaire d'un herbier de Posidonies (*Posidonia oceanica* (L.) Delile) de la baie de Calvi-Corse. Progr. Rép. Stn. Océanogr. Stareso, Univ. Liège, Belg., 18: 6 p non num. + 1-251.

Bellan, G., 1993. Les indicateurs biologiques du milieu marin - Remarques introductives. In : "Qualité du milieu marin" - Indicateurs biologiques et Physico-chimiques. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C. edits. GIS Posidonie pub., Rencontres Scientifiques de la Cote Bleue, Marseille, 35-42.

Belkhatir., H., 2013. Evaluation du taux de contamination par HAP de la Flore aux alentours des centres de stockage et de distribution des hydrocarbures. Mémoire de master en chimie. Univ. ABOUBEKRE BELKAID –TLEMCEN .81p.

Berne F., et Cordonnier J., 1991. Traitement des eaux : Epuration des eaux résiduaires et raffinage. Conditionnement des eaux de réfrigération (Technip, Eds), 306p.

Ben Alaya H., 1972. Répartition et conditions d'installation de *Posidonia oceanica* Delile et *Cymodocea nodosa* Ascherson dans le golfe de Tunis. Bull. Inst. Océanogr. Pêche Salammbô, 2(3): 331-416.

Bertrand J.C., et Mille G., 1989. Devenir de la matière organique exogène. Un modèle: les hydrocarbures. In: Bianchi, M., Marty, D., Bertrand, J.C., Caumette, P. et Gauthier, M.J. (Eds.), Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Masson (Paris), Chapitre 13, pp. 343-385.

Blanc J. J., Jeudy De Grissac A., 1978. Recherches de géologie sédimentaire sur les herbiers à Posidonies du littoral de la Provence. Centre nation. Exploit. Océans, edit., Fr., i-vii,: 1-185 + 42 pl. h.t.

Blumer M., Guillard R.R.L., and Chase T., 1971. Hydrocarbons of Marine Phytoplankton. Marine Biology 8, 183-189.

Blumer.M., 1976.Polycyclic aromatic compounds in nature. Sci Am. 1976 Mar; 234(3):35-45.

Bocard C., 2008. Marine oil spills and soils contaminated by hydrocarbons: Environmental Stakes and Treatment of pollutions. Edts TECHNIP. 285 p.

Bocquene, G., Chantereau, S., Clerendeau, C., Beausir, E., Menard, D., Raffin, B., Minier, C., Burgeot, T., Leszkowicz, A.P., Narbonne, J.F., 2004. Biological effects of the "Erika" oil spill on the common mussel (*Mytilus edulis*). *Aquatic Living Resources* 17, 309-316

Bouchez M., Blanchet D., Haeseler F. et Vandecasteele J.P., 1996. Les hydrocarbures aromatiques Polycycliques dans l'environnement – Propriétés, origines, devenir. *Revue de l'Institut Français du Pétrole*. Vol. 51, N° 3.

Boudouresque C.F., 1983. Les Posidonies. In Biomasse actualités, 12 (suppl les végétaux aquatiques):14-16. Catalogue des engins de pêche du Maroc.

BOUDOURESQUE C. F., 2000. Restauration des écosystèmes côtiers. Actes de colloque, IFREMER, 65-85. Contribution à l'étude de l'accumulation et de la mémorisation des métaux traces (Hg, Zn et Cu) par *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile dans la baie de Bou Ismaï

- Boudouresque C.F., 2003. The erosion of Mediterranean biodiversity. In: Rodríguez-Prieto C., Pardini G. edits. *The Mediterranean Sea: an overview of its present state and plans for future protection*. Servei de Publicacions de la Universitat de Girona: 53-112.
- Boudouresque C.F., Bernard G., Bonhomme P., Charbonnel E., Diviacco G., Meinesz A., Pergent G., Pergent-Martini C., Ruitton S., Tunesi L., 2006. Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. edit., RAMOGE publ. : 1-202.
- Boudouresque C.F., Blanconi C.H., Meinesz A., 1990. Live *Posidonia oceanica* in a coralligenous algal bank at Sulana, Corsica. Rapp. P.V. Réunion. Commiss. internation. Explor. sci. Médit. 32(1): 11.
- Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Molenaar H., Pergent G., Vittello P., 1995. L'herbier à *Posidonia oceanica* en Méditerranée : Protection légale et gestion. In: Pour qui la méditerranée au 21^{ème} Siècle - Villes des rivages et environnement littoral en Méditerranée. Actes du colloque scientifique Okeanos, Maison de l'Environnement de Montpellier publ., Fr.: 209-220.
- Boudouresque C.F., Jeudy De Grissac A., 1983. L'herbier à *Posidonia oceanica* en Méditerranée : les interactions entre la plante et le sédiment. J. Rech. océanogr., 8(2-3): 99-122.
- Boudouresque C.F., Meinesz A., 1982. Découverte de l'herbier de Posidonie. Cah. Parc nation. Port-Cros, Fr., 4: 1-79.
- BOUDOURESQUE C.-F., JEUDY DE GRISSAC A., MEINESZ A., 1984. Relation entre la sédimentation et l'allongement des rhizomes orthotropes de *Posidonia oceanica* dans la baie d'Elbu (Corse). *International Workshop on Posidonia oceanica Beds*, BOUDOURESQUE C.-F., JEUDY DE GRISSAC A. & OLIVIER J. edit Posidonie publ., Fr., 1 : 185-191.
- Boudouresque, C.F., 2006. Les herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L. edits., RAMOGE pub., France, 10-24.
- Boudouresque, C. F., Bernard, G., Pergent, G., Shili, A., & Verlaque, M., 2009. Regression of Mediterranean seagrasses caused by natural processes and anthropogenic disturbances and stress: a critical review. *Botanica Marina*, 52(5), 395-418
- Bouloubasi I., et Saliot A., 1992. Stratégie d'échantillonnage et d'analyse appliquée à l'étude des polluants organiques dans les eaux côtières. *Hydroécol. Appl.*, tome4, Vol.2. 9-21 p
- Boumaza S., 2003. Biodiversité des habitats à phanérogames marines des côtes algériennes. In *Biodiversité marine et littorale algériennes*, dir GRIMES S., ED-Diwan, Alger, PP 95-108
- BOURCEREAU, L 2006.-Accumulation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) dans les sédiments de la rivière Doubs Rapport Final.54P
- Brisou J.F. et Denis F., 1980. *Techniques de surveillance de l'environnement maritime*. Edit. Masson. p206.
- Bucalossi, D., Leonzio, C., Casini, S., Fossi, M.C., Marsili, L., Ancora, S., Wang, W., Scali, M., 2006. Application of a suite of biomarkers in *Posidonia oceanica* (L.) delile to assess the ecotoxicological impact on the coastal environment. *Marine Environmental Research* 62, S327-S331.

Calmet D., Boudouresque C.F., Meinesz A., 1988. Memorization of nuclear atmospheric tests by rhizomes and scales of the mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile. *Aquat. Bot.* 30(4): 279-294.

Calmet, D., Charmasson, S., Gontier, G., Meinesz, A., Boudouresque, C.F., 1991. Chernobyl Radionuclides in the Mediterranean Seagrass *Posidonia-Oceanica*, 1986-1987. *Journal of Environmental Radioactivity* 13, 157-173.

Campey ML, Waycott M and GA Kendrick (2000). Re-evaluating species boundaries among members of the *Posidonia ostenfeldii* species (Posidoniaceae) – morphological and genetic. *Aquat Bot* 66: 41-56.

Cavalieri, E. L. et Rogan, E. G. (1992). "The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis the central role of radical cations in metabolic activation." *Pharmacology & Therapeutics*. 55: 183-199.

Caye G., 1980. Sur la morphogénèse et le cycle végétatif de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. Thèse Doct., Univ. Aix-Marseille 2, Fr.: 1-121.

CCME, 2008. Canadian soil quality guidelines - Carcinogenic and other polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Environmental and Human Health Effects) - Scientific supporting Document. Canadian Council of Ministers of the Environment. 210 pages,

CE, 2001. Décision n° 2455/2001/CE du parlement européen et du conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste de la substance prioritaire dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/CE. *Journal officiel des Communautés européennes* L331, 1-5.

Hellou, J. and Payne, J. F. 1987. *Environmental Toxicology and Chemistry* 6: p. 857-862.

Hermann, M. (1981). "Synergistic effects of individual polycyclic aromatic hydrocarbons on the mutagenicity of their mixture." *Mutation Research*. 90: 399-409.

Chefetz, B., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G. et Guthrie, E.A. (2000). "Pyrene Sorption by Natural Organic Matter." *Environmental Science and Technology*. 34: 2925-2930.

C.O.I., 1982. La détermination des hydrocarbures pétroliers dans les sédiments. Manuels et guides, 11, *Commission Océanographique intergouvernementale de l'Unesco*, 31p.

DEN HARTOG C., 2000. Procedures for the restoration of lost seagrass beds. *Biol. Mar. Medit.*, 7 (2) : 353-356.

Doornaert, B ; Pichard, A., 2003. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs). Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique – FET) et approche par mélanges. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Rapport INERIS DRC-03-47026-ETSC.

Elkalay K., Frangoulis C., Skliris N., Goffart A., Gobert S., Lepoint G., Hecq J.H., 2003. A model of seasonal dynamics of biomass and production of the seagrass *Posidonia oceanica* in the Bay of Calvi (Northwestern Mediterranean). *Ecol. Model.* 167: 1-18.

Ferrat, L., Pergent-Martini, C., Romeo, M., 2003. Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses. *Aquatic toxicology* 65, 187-204.

Fernex F. E., Migon C., Chisholm J. R. M., 2001. Entrapment of pollutants in Mediterranean sediments and biogeochemical indicators of their impact. *Hydrobiologia* 450 (2001) 31–46.

Fismes, J., Perrin-Ganier, C., Empereur-Bissonnet, P., et Morel, J. L., 2002. Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J. Environ. Qual.*

Francour P., Ganteaume A. & Poulain M. 1999. Effects of boat anchoring in *Posidonia oceanica* seagrass beds in the Port-Cros national park (North-Western Mediterranean sea). *Aquatic Conservation : marine and freshwater ecosystems* 9: 391-400

Gambi M.C., Bula M.C., Casola E., Scardi M., 1989. Estimates of water movement in *Posidonia oceanica* beds: a first approach. In: Boudouresque, C.F., Meinesz A., Fresi E., Gravez V. edits. International workshop on *Posidonia* beds. GIS Posidonie publ., Fr., 2: 101-112.

Gamulin Brida H., 1974. Biocénoses benthiques de la mer Adriatique. *Acta Adriatica* 15(9): 1-102 + 1 cartes.

Gamulin-Brida H., Pozar A., Simunovic A., Span A., 1973. Les conséquences biologiques de la pollution des eaux marines sur les biocénoses benthiques. Groupement des biocénoses benthiques de la mer Adriatique du point de vue de pureté des eaux. *Atti Coll. internazion. Oceanogr. medit.* 5: 137-159

Glatt, H., Wameling, C., Elsberg, S., Thomas, H., Marquardt, H., Hewer, A., Phillips, D. H., Oesch, F., and Seidel, A. 1993. *Carcinogenesis* 14(1): p. 11-19.

Gobert S., Belkhira S., Dauby P., Havelange S., Soullard M., Bouquegneau J.M., 1995. Variations temporelles de la phénologie et la composition biochimique de la phanérogame marine *Posidonia oceanica* en baie de Calvi. *Bull. Soc. Royale Sci. Liège*, 64(4-5) : 263-284.

Goriaux M., 2006. Etude des artefacts de prélèvement et de la distribution gaz- particules des HAP. Thèse Doctorat, Univ. Provence Aix-Marseille I, Fr.: 1- 191.

Gourlay C., Tusseau-Vuillemin M-H., Garric J., Mouchel J-M. 2003. The ability of dissolved organic matter (DOM) to influence benzo[a]pyrene bioavailability increases along DOM mineralization. In prep for *Ecotoxicology and Environmental Safety*

Grova, N., Monteau, F., Le Bizec, B., Feidt, C., Andre, F., and Rychen, G. 2005. *Journal of analytical toxicology* 29(3): p. 175-181.

Guitouninouninou et F. Palluy pour le GIS Posidonie, 2001. <http://www.manon.org/polmar/posidoni.htm>

Han J., and Calvin M., 1969. Hydrocarbon distribution of algae and bacteria and microbiological activity in sediments. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 64, 436-443.

HEMMINGA M. A., 1998. The root/rhizome system of seagrasses : an asset and a burden. *J. Sea Res.* 39 : 183-196.

IAEA-MEL/MESL, 2001. Détermination des composés organochlorés et des hydrocarbures pétroliers dans l'environnement. Monaco. 1-148.

INERIS (Institut National de l'environnement industriel et des risques). Fiches de données toxicologiques et environnementales - <http://www.ineris.fr/recherches/fiches/fiches.htm>.

INERIS (2005). "Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques". <http://www.ineris.fr> Site consulté le: 31 octobre 2006.

INERIS, 2005a. Acénaphthène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 39p.

INERIS, 2005b. Anthracène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 41p.

INERIS, 2005c. Benzo(b)fluoranthène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 36p.

INERIS, 2005d. Benzo(k)fluoranthène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 40p.

INERIS, 2005e. Chrysène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 36p.

INERIS, 2005f. Fluorène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 38p.

INERIS, 2005h. Naphtalène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 61p.

INERIS, 2005i. Pyrène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 36p.

INERIS, 2006a. Benzo(a)pyrène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 44p.

INERIS, 2006b. Benzo (g,h,i)pérylène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 38p.

INERIS, 2006c. Dibenzo (a,h)anthracène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 37p.

INERIS, 2006d. Phénanthrène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 36p.

INERIS, 2008. Fluoranthène. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 39p.

ITOPF., 2013. Effets de la pollution par les hydrocarbures sur l'environnement. Guide d'informations techniques. 13p.

Jongeneelen, F.J., A guidance value of 1-hydroxypyrene in urine in view of acceptable occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol. Lett.* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.001>.

Khoury C., 1984. Éthologies alimentaires de quelques poissons de l'herbier de posidonie du parc national de Port-Cros. *Gis posidonie*, 1 :335-347.

Kipopoulou, A. M., E. Manoli, *et al.* (1999). "Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in industrial area." *Environ Poll* 106: 369-380.

Krahn, M. M., Moore, L. K., and McLeod, W. D., Standard Analytical Procedures of the Noaa National Analytical Facility, 1986 : *Metabolites of Aromatic Compounds in Fish Bile.*, US Department of Commerce, S., Editor. 1986, NOAA Technical Memorandum NMFS F/NWC-102.

Krahn, M. M., Myers, M. S., Burrows, D. G., and Malins, D. C. 1984. *Xenobiotica* 14(8): p. 633-646.

Kuo J., Den Hartog C., 2001. Seagrass taxonomy and identification key. In "Global Seagrass Research Methods", F. T. Short and Coles (editors) : 31-58

Labbé C., 2009. Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile en tant que biointégrateur des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Thèse de doctorat. Université de corse, 122p.

Lacaze J. C., 1993. La dégradation de l'environnement côtier : Conséquences écologiques. Edit. Masson, Paris, 130p.

Lafabrie C., 2007. Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bioindicateur de la contamination métallique. Thèse de doctorat. Université de corse, 158p.

LaVoie, E. J., Amin, S., Hecht, S. S., Furuya, K. et Hoffmann, D. (1980). "Identification of mutagenic dihydrodiols as metabolites of benzo(j)fluoranthene and benzo(k)fluoranthene." *Cancer Research*. 40: 4528-4532.

Leriche A., 2004. La structure à méga-, méso- et micro-échelles des herbiers à *Posidonia oceanica* (L.) Delile fournit-elle des outils pour leur gestion ? Thèse Doctorat, Univ. Aix-Marseille II, Fr.: 1-232.

Molinier R., Picard J., 1952. Recherches sur les herbiers de phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Ann. Inst. Océanogr. Paris*, 27 : 157-234.

Middlehoven, W.J. (1993) Catabolism of benzene compounds by ascomycetous and basidiomycetous yeasts and yeast-like fungi. *Antonie van Leeuwenhoek* 63, 125-144

Neff J M. 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment: Sources, Fate and Biological Effects. London, Applied Science Publishers LTD.

NRC, 2003a. Oil in the sea III : inputs, fates, and effects. National Academic Press edit., Washington, DC, 280p.

Orth TIM J. et al. 2006. A Global Crisis for Seagrass Ecosystems. www.biosciencemag.org. Vol. 56 No. 12. 987-996p.

Pellegrini M., Riouall R., 1973. Contribution à l'étude biochimique des phanérogames marines et d'eaux saumâtres (acides aminés protidiques). Rapp. P.V. Réu. Commss. internation. Explor. sci. Mer médit., 22, Rome ; 1p.

Peres J.M., Picard J., 1975. Causes de la raréfaction et de la disparition des herbiers de *Posidonia oceanica* sur les côtes françaises de la Méditerranée. *Aquat. Bot.* 1(2): 133-139.

Perez T., Sartoretto S., Soltan D., Capo S., Fourt M., Dutrieux E., VACELET J., HARMELIN J.G., Rebouillon P. (2000). Étude bibliographique sur les bio indicateurs de l'état du milieu marin. Système d'évaluation de la Qualité des Milieux littoraux – Volet biologique. Rapport Agences de l'Eau, 4 fascicules, 642 pp. + 1 Cd-rom.

Pergent G., 1991a. Les indicateurs écologiques de la qualité du milieu marin en Méditerranée. *Oceanis*, 17 (4) : 341-350.

Pergent G., 1991b. La protection légale de la Posidonie en France: Un outil efficace. Nécessité de son extension à d'autres pays méditerranéens. In : Boudouresque C.F., Avon M., Gravez V. édits. Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée, Rencontres scientifiques de la Côte Bleue. GIS Posidonie publ. Fr., 2: 29-34.

Pergent G., 1993. L'herbier à *Posidonia oceanica* (L.) Delile : approche structurale fonctionnelle et appliquée. Diplôme d'Habilitation à diriger des recherches, Univ., Corte, Corse : 1-158.

Pergent G., Pergent-Martini C., 1990. Some applications of lepidochronology analysis in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Botanica marina*, 33 : 299-310.

Pergent G., Pergent -Martini C., 1995. Indicateurs biologiques : Posidonies. In: Etat des connaissances opérationnelles sur la contamination et les indicateurs de pollution chimique toxique du milieu marin. Résumé des contributions. IARE publ. Fr.: 123-135.

Pergent -Martini C., 2000. Protection des habitats d'herbiers de Phanérogames marines de Méditerranée. Les études d'impacts en milieu marin. CAR/ASP Tunis & EqEL pub. 1-49 + Ann.

Pergent -Martini C., Rico-Raimondino V., Pergent G., 1995. Nutrient impact on *Posidonia oceanica* sea grass meadows: preliminary data. vol. 5, no2, pp. 3-9 (1 p.1/4)

Pergent-Martini C., Rico-Raimondino V., Pergent G., 1996. Impact des nutriments sur les herbiers à *Posidonia oceanica*. Données préliminaires. *J. Rech. océanogr.* 21(1-2): 35-39.

Pergent G., Pergent-Martini C., 1999a. Mercury levels and fluxes in *Posidonia oceanica*. *Environmental Pollution*, 106: 33-37

PERGENT-MARTINI C., LEONI V., PASQUALINI V., ARDIZZONE G.D., BALESTRI E., BEDINI R., BELLUSCIO A., BELSHER T., BORG J., BOUDOURESQUE C.F., BOUMAZA S., BOUQUEGNEAU J.M., BUIA M.C., CALVO S., CEBRIAN J., CHARBONNEL E., CINELLI F., COSSU A., DI MAIDA G., DURAL B., FRANCOUR P., GOBERT S., LEPOINT G., MEINESZ A., MOLENAAR H., MANSOUR

H.M., PANAYOTIDIS P., PEIRANO A., PERGENT G., PIAZZI L., PIRROTTA M., RELINI G., ROMERO J., SANCHEZ-LIZASO J.L., SEMROUD R., SHEMBRI P., SHILI A., TOMASELLO A., VELIMIROV B., 2005. DESCRIPTORS OF *POSIDONIA OCEANICA* MEADOWS: USE AND APPLICATION. *ECOLOGICAL INDICATORS*, 5: 213–230.

Pergent G., Bazairi H., Bianchi C.N., Boudouresque C.F., Buia M.C., Clabaut P., Harmelin-Vivien M., Mateo M.A., Montefalcone M., Morri C., Orfanidis S., Pergent- Martini C., Semroud R., Serrano O., Verlaque M. 2012. *Les herbiers de Magnoliophytes marines de Méditerranée : résilience et contribution à l'atténuation des changements climatiques*. Gland, Suisse et Malaga, Espagne : IUCN. 80 pages.

Piazzzi L., Ceccherelli G., Meinesz A., Verlaque V., Akcali B., Argyrou M., Balata D., Ballesteros E., Cinelli F., D'Archino R., Javel J., Mifsud C., Pala D., Panayotidis P., Peirano A., Pergent G., Petrocelli A., Ruitton S., Zuljevic A., 2005. Invasion of *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean Sea: the balance of thirteen years of spread. *Cryptogamie, Agologie* 26: 189-202.

Platt, K. L. and Grupe, S. 2005. *Chemical Research in Toxicology* 18(4): p. 700-710.

Por F.D., 1978. Lessepsian Migrations. The influx of Red Sea biota into the Mediterranean by way of the Suez canal. Springer Verlag publ., Berlin: x + 1-228.

Procaccini G., Bula M.C., Gambi M.C., Perez M., Pergent G., Pergent-Martini C., Romero J., 2003. Seagrass status and extent along the Mediterranean coasts of Italy, France and Spain. In: Green E.P., Short F.T., Spalding M.D. edits. *World Atlas of Seagrass: Present status and future conservation*. University of California Press publ.

Ramade, F., 1993. Discours d'ouverture. In : "Qualité du milieu marin" - Indicateurs biologiques et Physico-chimiques. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C. edits. GIS Posidonie pub., Rencontres Scientifiques de la Cote Bleue, Marseille, 19-30.

Robert P., 1988. Etude du régime thermique des principales biocénoses marines benthiques du Parc national de Port-Cros (Var, France). Diplôme de Recherche universitaire, Univ. Aix-Marseille II, Fr.: 1-209.

Raoux, C., Boyona, J. M., Miquel, J. C., Teyssie, J. L., Fowler, S. W., and Albaiges, J. 1999. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48(5): p. 605-616.

Dachs, J., Bayona, J. M., Raoux, C., and Albaiges, J. 1997. *Environmental Science and Technology* 31(3): p. 682-688.

SALGHI, 2004. Analyses physicochimiques. Notes théoriques. Ecole nationale des sciences appliquées d'Agadir. Filière Génie des Procédés, Energie et Environnement. 1-33

Sellali B., 1996. La pollution par les hydrocarbures pétroliers en méditerranée Sud-Occidentale «contamination de l'eau et des sédiments superficiels des régions littorales centre et ouest de l'Algérie. *Thèse de magistère. ISMAL. Alger*. 118p.

Semple K. T., Cain R. B., Schmidt S., 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS Microbiology Letters* 170 : 291-300.

Semroud R., 1993. Contribution à la connaissance de l'écosystème à *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans la région d'Alger (Algérie, étude de quelques compartiments). Thèse de doctorat en science, USTHB. Alger, 219P.

Smith, C. J., Huang, W., Walcott, C. J., Turner, W., Grainger, J., and Patterson, D. G. 2002. *Anal. Bioanal. Chem* 372: p. 216-220.

Steward, A. R., Zaleski, J., and Sikka, H. C. 1990. *Chemico-Biological Interactions* 74(1-2): p. 119-138

Vaissiere R., Fredj G. , 1963. Contribution à l'étude de la faune benthique du plateau continental de l'Algérie. *Bull. Insti. Océanogr.* Monaco, Fr., 60 (1272) : 1-83 + 5 cartes h.t.

Venkatesan, M. O. 1988. *Marine Chemistry* 25(1): p. 1-27.

Videau C., Merceron M., 1992. Impact de la pisciculture marine intensive sur l'environnement. Revue bibliographique. Direction de l'Environnement et de l'aménagement littoral, Ifremer publ. Fr.: 1-106.

Volkman J.K., Farrington J.W., Gagosian R.P., and Wakeham S.G., 1981. Microbial composition of coastal marine sediments from the Perru upwelling region. *Advances in Organic Geochemistry*, 228-240.

Warnau, M., Fowler, S.W., Teyssie, J.L., 1996. Biokinetics of selected heavy metals and radionuclides in two marine macrophytes: The seagrass *Posidonia oceanica* and the alga *Caulerpa taxifolia*. *Marine Environmental Research* 41, 343-362.

Weyand, E. H. , Patel, S. et LaVoie, E. J. (1990). "Relative tumor initiating activity of benzo(a)fluoranthene, benzo(b)fluoranthene, naphthol(1,2-b)fluoranthene and naphthol(1,2-a)fluoranthene on mouse skin." *Cancer Letters*. 52: 229-234.

Wild, S.R. et Jones, K.C. (1995). "Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment : a preliminary source inventory and budget." *Environmental Pollution*. 88: 91 -108.

WELLMAN C.H., OSTERLOFF P.L., MOHUDDIN U., 2003. Fragments of the earliest land plants. *Nature* 425: 282-285

Wilhem M., et al. 2007. New reference value and the background exposure for the PAH metabolites 1-hydroxypyrene and 1- and 2-naphthol in urine of the general population in Germany: Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Santé* 211 (2008) 447-453 449

Zalokar M., 1942. Les associations "sous-marines" de la côte adriatique au-dessous de Velebit. *Bull. Soc. Bot. Genève* 33: 171-195.

Wild, S. R., Berrow, M. L., McGrath, S. P. et Jones, K. C. (1992). "Polynuclear aromatic hydrocarbons in crops from long-term field experiments amended with sewage sludge." *Environmental Pollution*. 76: 25-32.

Zheng M., Fang M., Wang F., To K.L., 2000. Characterization of the solvent extractable organic compounds in PM_{2.5} aerosols in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 34: 2691-2702.

Zhou, Y., Liu, R. et Tang, H. (2004). "Sorption interaction of phenanthrene with soil and sediment of different particle sizes and in various CaCl₂ solutions." *Journal of Colloid and Interface Science*. 270: 37-46.



Annexes

ANNEXE I. Procédure de nettoyage et d'extraction des HAP

I.1 : Lavage de matériel utilisé pour l'analyse des hydrocarbures

La verrerie utilisée lors de l'analyse et du traitement doit être en verre borosilicaté. Dans le but d'éviter tout risque et source de contaminations, le matériel utilisé doit être lavé et conditionné (UNEP, CIO, IAEA, 1997). Les étapes de nettoyage sont résumées comme suit

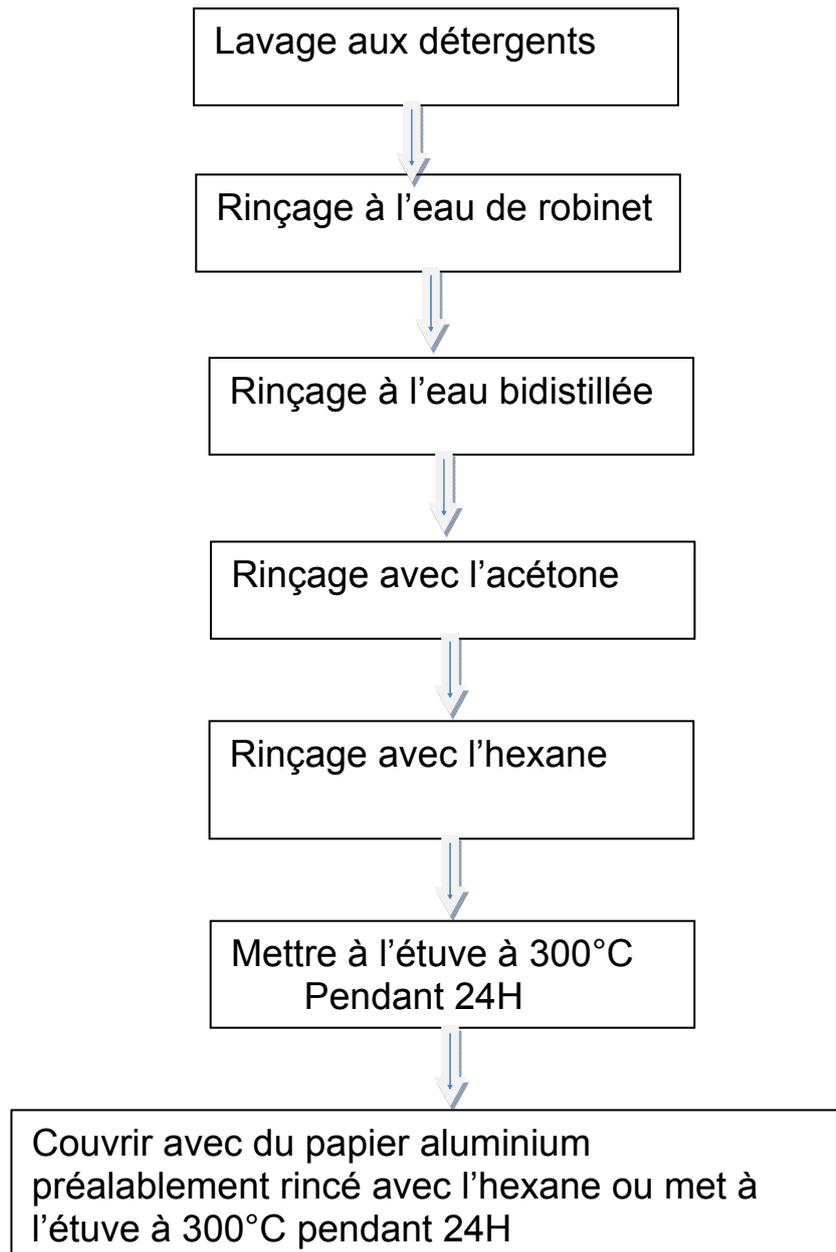


Figure 1: Etapes suivies pour le lavage de matériel utilisé pour l'extraction des Hydrocarbures.

ANNEXE I. Procédure de nettoyage et d'extraction des HAP

I.2 : Procédure d'extraction et d'analyse des Hydrocarbures

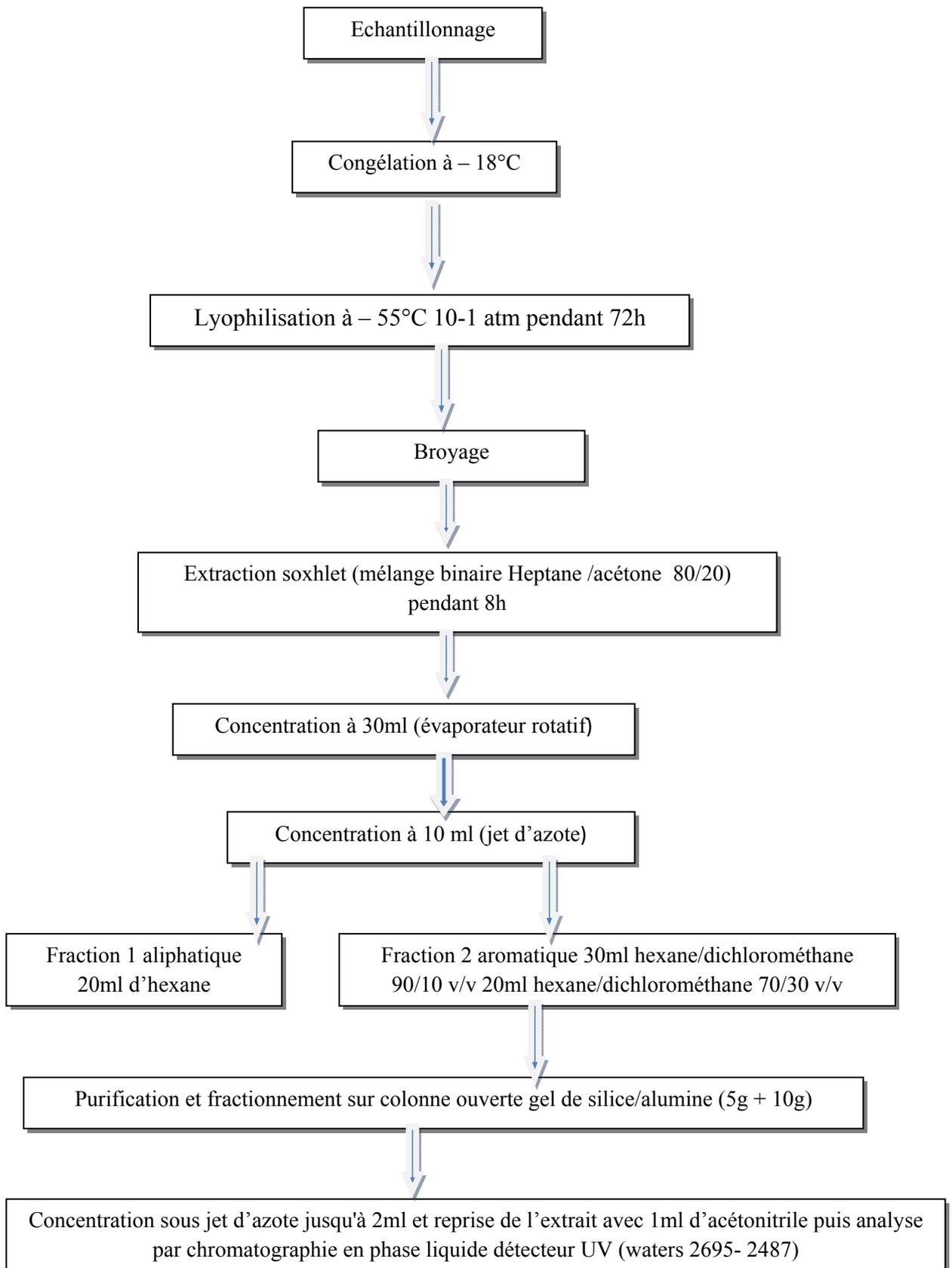
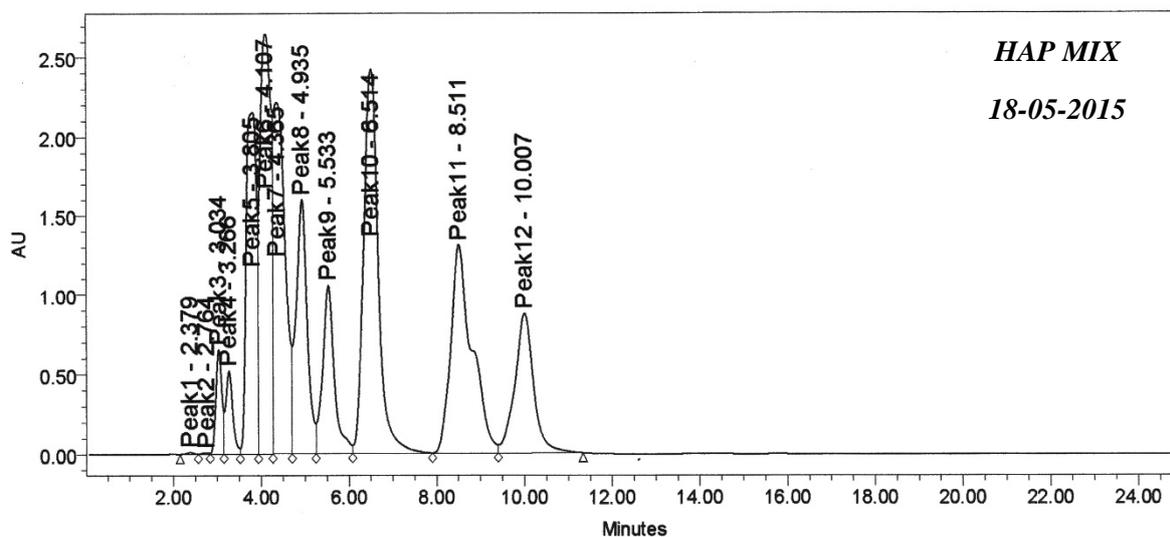
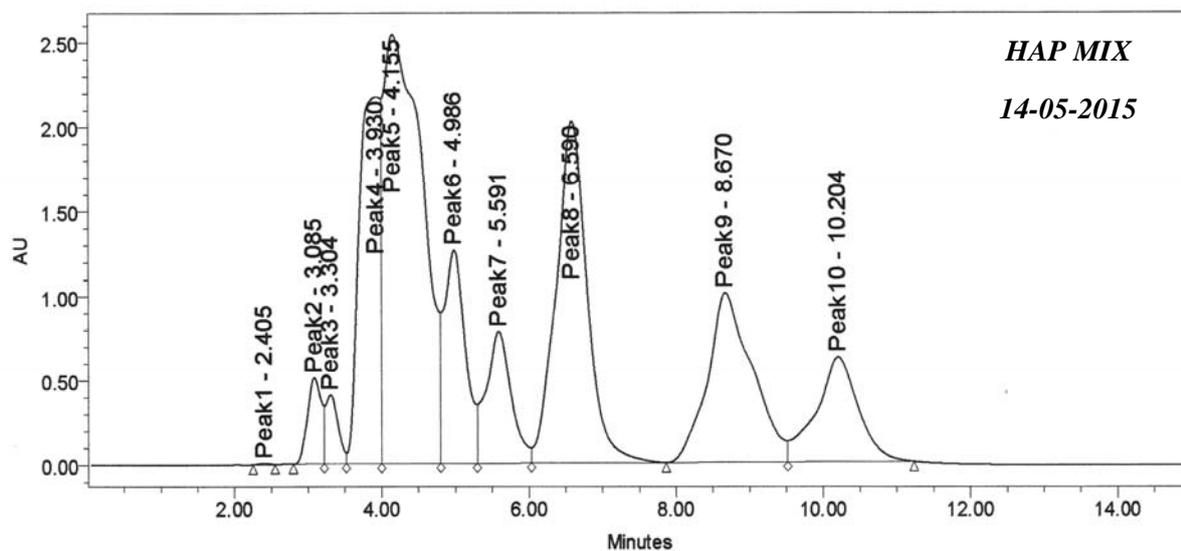
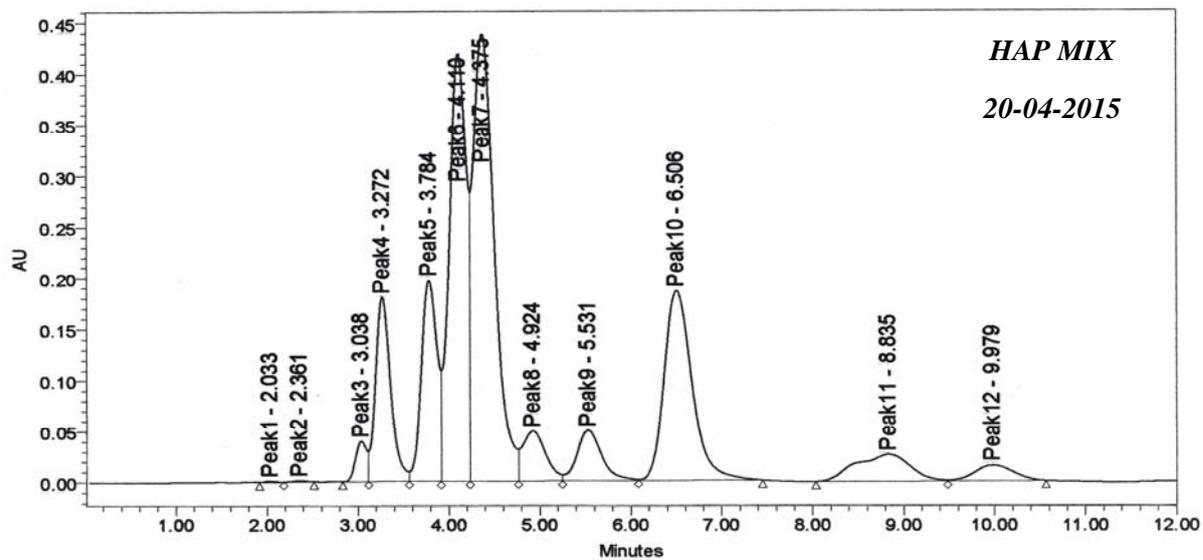


Figure 2 : Procédure d'extraction des hydrocarbures des feuilles et des pétioles de *Posidonie oceanica*

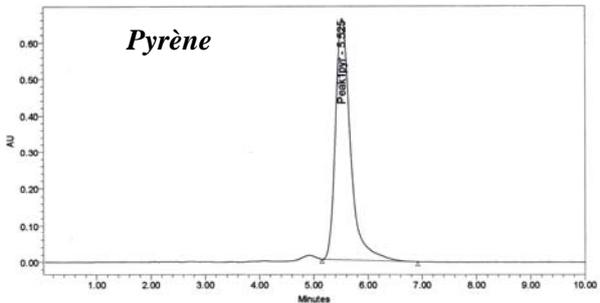
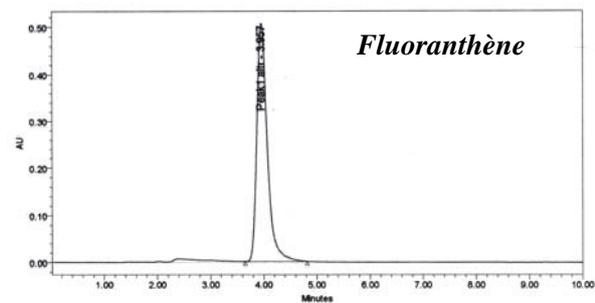
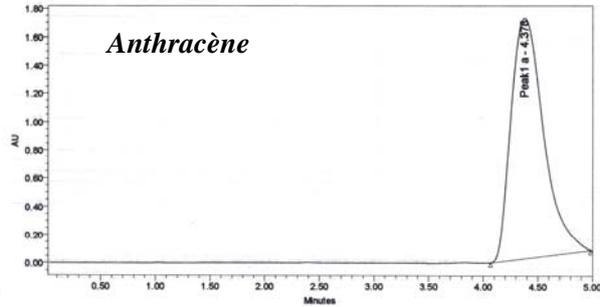
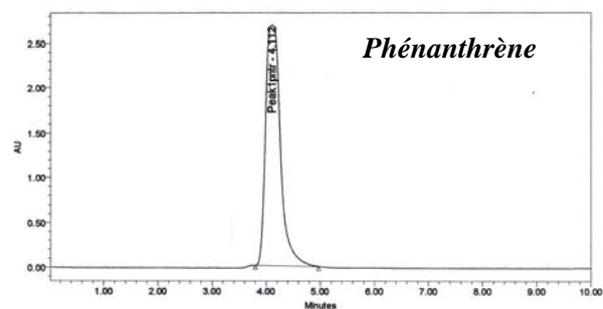
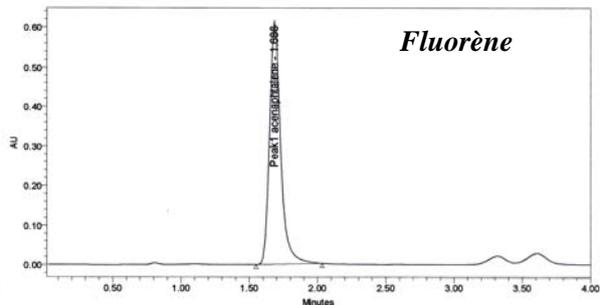
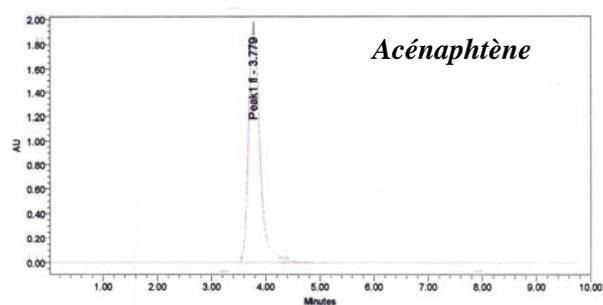
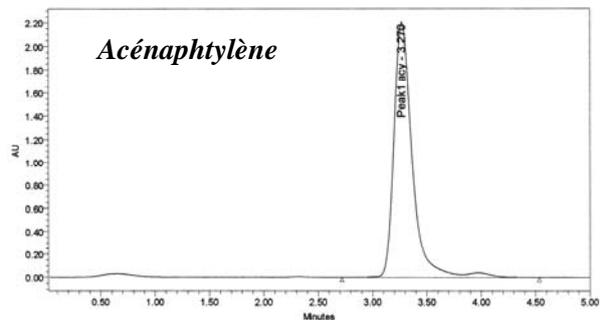
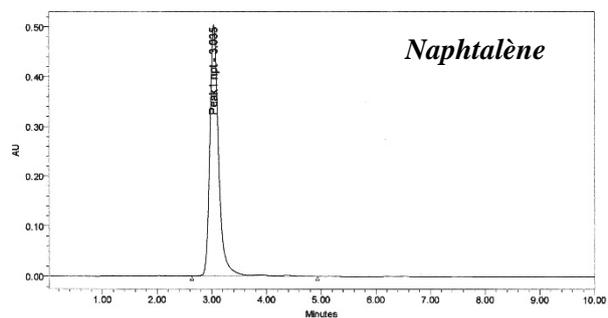
Annexe II. Présentation des chromatogrammes des standards

II.1. Chromatogrammes des standards mix



Annexe 2.2 .Présentation des chromatogrammes des étalons HAP

Chromatogrammes des standards individualisés



Annexe (Suite)

