

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :
Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :
Louise Marie FOAN

le : jeudi 7 juin 2012

Titre :
Biosurveillance des retombées atmosphériques à l'aide de bryophytes :
Suivi des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)
à diverses échelles spatio-temporelles

Ecole doctorale :
Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :
Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET)

Directeur(s) de Thèse :
Dr Valérie SIMON, Maître de conférences, INP-ENSIACET, Toulouse

Rapporteurs :
Dr Ludwig DE TEMMERMAN, Responsable d'unité, CODA-CERVA, Tervuren, Belgique
Pr Joan GRIMALT, IDAEA, CSIC, Barcelone, Espagne
Pr Jacek NAMIEŚNIK, Université de Gdańsk, Dpt. Chimie Analytique, Pologne

Membre(s) du jury :
Pr Patrice CODDEVILLE (Président), École des Mines de Douai, Dpt. Chimie & Environnement
Dr Catherine LIOUSSE (Membre), D.R., Laboratoire d'Aérodologie, OMP, Toulouse
Pr Jesús SANTAMARÍA (Membre), LICA, Université de Navarre, Pampelune, Espagne
Dr Sébastien LEBLOND (Invité), Chercheur, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris

A. Jean-Christophe Fernandes

REMERCIEMENTS

Νῖορ βηρῖς φοαλ μαγτῖ ρῖααῖλ ρῖαμῖ.

(Un mot gentil n'a jamais cassé une dent.)

Citation populaire gaélique

I had a dream...

J'ai fait le rêve de me battre afin d'œuvrer pour que la planète que nous habitons soit traitée avec le respect qu'on lui doit.

I had a dream...

J'ai fait le rêve de montrer que d'être le fruit du multiculturalisme est une force.

I had a dream...

J'ai fait le rêve que toutes les personnes que je porte dans mon cœur, ma famille et mes amis, se rassemblent afin que règne en une journée particulière partage et joie.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à réaliser ces rêves.

Il faudra remonter très loin pour vraiment remercier tous ceux qui ont changé mon destin. Je pense en particulier aux enseignants qui ont presque réussi à étancher ma soif d'apprendre : Mme Calmon pour les nombreuses conversations à la récré avec une petite anglaise de 8 ans un peu bavarde, M. Foissac fin pédagogue qui décrivait le monde mieux que personne, Mme Huc et M. Gros qui ont su me redonner confiance lorsque je nageais en eaux troubles, Mme Feuillade notre maman-poule de l'ENSIL... Merci à Marion Rabiet qui a su me donner le goût de la recherche. J'admire ces personnes et je suis ravie que nos chemins se soient croisés.

Le point final de ma thèse est précédé du mot "Europe", petit clin d'oeil à cette thèse européenne. En ces temps de crise, j'avoue qu'il est plaisant de faire partie d'une telle collaboration, sans bénéfices économiques pour les différents partis, seulement le bénéfice de contribuer à la recherche d'un meilleur environnement pour demain... Je suis très fière et très heureuse d'avoir réalisé cette thèse en collaboration avec l'Université de Navarre et d'avoir été confrontée à un jury venant de divers horizons scientifiques et géographiques.

Je remercie tout d'abord Jesus Santamaría, d'avoir donné le jour à un tel projet, pour ton soutien optimiste tout au long de ma thèse et pour ton accueil chaleureux durant les 4 mois que j'ai passé à Pampelune au sein du LICA.

Je remercie également Valérie Simon d'avoir accepté le pari ambitieux d'aller au bout de l'aventure. Merci d'avoir pris le temps de relire et de corriger le manuscrit. Notre collaboration aura conduit à un bel ouvrage.

Je tiens ensuite à remercier mes rapporteurs pour leur enthousiasme à la lecture de ma thèse. Merci à Joan O. Grimalt d'avoir accepté de rapporter ma thèse tout en sachant que vous ne pourriez assister à la soutenance. Merci à Jacek Namieśnik d'avoir fait le déplacement depuis Gdańsk. Ce fut un réel honneur d'être confronté à une personne avec une telle expérience en chimie analytique. Et merci à Ludwig De Temmerman pour vos solides connaissances en bioindication de la qualité de l'air et une discussion toujours très riche à ce sujet (y compris sous la neige à Brescia où l'on a fini par se perdre!).

Enfin, je remercie vivement les membres de mon jury pour la discussion passionnante que nous avons eu lors de ma soutenance. Merci à Catherine Liousse d'avoir apporté votre avis sur mon travail avec un œil de spécialiste en pollution atmosphérique. J'ai été agréablement surprise par votre engouement pour le sujet et ravie de voir que vos observations concordent avec les nôtres. Merci à Patrice Coddeville d'avoir accepté de présider mon jury et pour l'échange durant la soutenance avec une constance : le sourire. Et merci à Sébastien Leblond. Tu t'es encore fait une joie de me taquiner, mais avec des remarques plus que pertinentes. Je te remercie, ainsi que Laurence Galsomiès, car grâce à vous je me suis sentie moins perdue lors de mon arrivée au sein du PIC-Végétation. Merci aussi d'avoir contribué à ma thèse en réalisant l'échantillonnage en Île-de-France et d'avoir préparé des petites boulettes à Bioemco. Enfin merci pour toutes nos discussions passionnantes sur ces merveilleuses petites plantes que sont les mousses!

En second lieu, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement du projet.

Tout d'abord, merci aux personnes du LICA qui ont donné de leur sueur pour l'échantillonnage à Bertiz, été comme hiver : JoseMi, Nerea et tout particulièrement Raúl ; ainsi qu'à David, Esther, Jesus, Laura et Sheila qui ont contribué aux échantillonnages des mousses en Navarre ainsi qu'au travail sur les mousses historiques. Merci également à Alicia Ederra pour ses précieux conseils de botaniste.

Ensuite, je remercie Lotti Thöni de s'être investie pour nous fournir les échantillons et les méta-données de Suisse.

Merci également à Roland Pesch de m'avoir envoyé les données d'occupation du sol pour l'étude européenne.

Un grand merci à Mathieu Sebilo de m'avoir accueillie à Bioemco et à Véronique Vaury pour les analyses isotopiques des mousses.

Enfin, merci à tout le personnel technique et administratif du LCA. Une pensée spéciale pour Didier Dangla et sa patience d'or, ainsi que pour mes bonnes fées, Emmanuelle et Muriel, qui ont toujours été là quand j'avais besoin d'elles et avec le sourire en prime! Merci également à Audrey et Caroline qui ont contribué à mes premiers travaux de thèse, à Gilles Humbert qui a confectionné de magnifiques collecteurs d'eau de pluie ainsi qu'à Laure et Carlos pour m'avoir guidé et aidé sur les plans d'expériences. Merci à Othmane d'avoir pris le temps de corriger la partie « mousses » de mon manuscrit. Merci à Céline et Claire d'être venues assister à ma répétition de thèse. Merci à Prado, ma petite stagiaire madrilène, qui n'a pas craqué devant la montagne de mousses à trier ou d'eau à analyser! Un grand merci à Christine Raynaud pour tout le temps qu'elle m'a accordée afin de réaliser l'étude statistique des données.

Plus personnellement, je voudrais remercier mes collègues qui ont contribué à rendre au quotidien les longues journées de travail plus supportables!

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du LICA pour l'amitié dont ils ont fait preuve à mon égard : Blanca, Carolina, David, Delia, Esther, Janire, Jesus, JoseMi, Maite, Marisa, Nerea et Raúl. Avec vous, je me suis sentie comme dans une nouvelle famille et j'ai été vraiment triste de devoir partir. J'en profite pour glisser une petite pensée à Delia qui m'a supporté moralement durant mon séjour à Pampelune, une période difficile de ma vie... Gracias a ti Delia, eres un encanto. Je voudrais dire également un merci particulier à Raúl qui m'a fait découvrir les joies des pintxos et des soirées "pelipizzas". ¡Raúl, eres también un encanto!

Je voudrais également remercier tous mes collègues du LCA qui contribuent à rendre l'ambiance de travail agréable.

Merci aux dinosaures de Ranguéil, en particulier Emilie, William et Lupita. Je conserve entre autres d'excellents souvenirs du retour du Beaujolais (tenté en vélouse), des fêtes de Vic (avec des gersois pas gentils et des potes peu téméraires, hein Will!) et d'une balade dans le vieux pot de yaourt de Lupita.

Houssein, merci d'avoir comblé la solitude (en tout bien tout honneur...) de la LCA box, plus connue sous le nom de "salle blanche".

Merci également à Jordan pour les traductions en live des hits de Louse FM, les séances gratuites de psychanalyse et les nombreux fous rires. Je n'oublierai jamais le cri de la baleine dans une ampoule à décanter!

Merci à tous ceux que je connais peu mais avec qui j'ai partagé d'agréables moments : Mike, Jeff, Candice, Elodie M., Claire S., Matthieu S., Audrey B., Claire V., Guillaume B., Bassam, Zaher, Anna, Leslie, Julien B., Julien P., Florent, Jonathan, Julie, Stéphanie, Anthony, Pauline, Matthieu R., Cédric, Benjamin, JB, Cécile ainsi que les stagiaires adorables Camille et Ana.

Merci aux gens vaillants qui m'ont supporté dans leur bureau. Merci à Alla, l'ex-Miss Kiev et ex-chanteuse (à quand le concert ?), qui dissimule sous sa douceur apparente une franchise qui met les nerfs des garçons à rude épreuve! Merci à Nicoleta, notre petite vampire, descendante de Vlad Tepes, pour tes petites attentions et ton écoute. Je sens que je vais regretter notre bureau des filles. Sachez toutes les deux que j'ai vraiment apprécié de travailler à vos côtés et que vous me manquerez. Merci aussi à Christian, Alex, Tian Ming, Bastien et Assad, les garçons successifs du bureau qui ont toujours su entretenir une atmosphère détendue.

Merci à Daphné, mon ex-voisine castanéenne, de m'avoir fait connaître les plaisirs du tea room! Vivement que je vienne vous rendre visite à Caen.

Merci à Elodie C. et Guillaume G. pour les bons moments passés ensemble à Toulouse et à Tarbes. L'avantage d'être collègues sur deux sites, c'est de ne partager que les « bons » moments justement! Elodie, merci d'avoir entretenu nos relations avec tes mails réguliers. J'aurais souvent voulu que tu sois davantage avec nous au labo, mais je me dis que nous pourrions passer encore pleins de bons weekends ensemble. Par contre, s'il y a une chose qu'on ne fera pas, c'est du ski!!!

Merci à Clément, Anaïs et Manon du bureau des plaintes. Clément, merci de comprendre mon engouement pour le "glee-kage". Anaïs, merci pour tous les moments passés ensemble en dehors des murs de l'A7, pour ne citer que les meilleurs : le mix du mercredi avec Rafou, la soirée rose (depuis tes amis m'appellent Mme Salami!), la choré de "ta soeur" sur Waka-waka... Merci Manon d'être toujours pétillante. Tu as été mon petit Padawan en enseignement de chimie ana, mais à mon avis l'élève a vite dépassé le maître. Je n'ai qu'une chose à vous dire à toutes les deux : zumbettes (& friends) forever!

Je voudrais également remercier Sylvain, le papi, de m'avoir souvent enquiné au bureau et de m'avoir poussé à faire des pauses. Tu fais preuve de pudeur dans ton amitié à mon égard, mais tes textos de fin de soirée t'ont souvent trahi. Moi aussi j'espère que nous serons amis pour longtemps!

Merci à Tessa et Laurie, mes copines des fameuses soirées filles, qui ont été là tout au long de ma thèse. Je suis ravie de ne pas avoir « sacrifié ma vie sociale » afin de partager ces moments avec vous. Je pense que je n'aurais pas tenu sans cette valve de décompression!

Enfin (last but not the least!), merci à Dorothée, ma Dothy. Tu rentres dans de nombreuses catégories précédentes : dinosaure de Ranguel, collègue de bureau, copine de soirée fille, zumbette... Mais, avant tout, tu as été une oreille très patiente et attentive. Tu m'as accueillie dès le premier jour et tu m'as soutenue jusqu'au bout, même si souvent ta situation était pire que la mienne. Que de bons moments passés ensemble, de Port Aventura à Bayonne, en passant par le Traouc! Je t'ai même fait visiter mon pays lotois. Je dirais que notre amitié est comme les discussions des soirées filles, intarissable.

Je n'oublie pas les anciens de l'ENSIL : Burno, Guigui, Amélie et Mel. Merci d'être restés mes amis, malgré la distance et les silence-radio, et d'avoir été là dans les bons moments comme les plus difficiles. Merci à Alan et Jérémie d'être venus se joindre à cette joyeuse bande!

Je joins ici une pensée pour Estelle, ma petite étoile. Je pense souvent à toi et t'envoie mes pensées les plus positives... en espérant te revoir bientôt.

Merci à Magali d'avoir toujours insisté lorsque tu m'as appelée et pour les weekends de détente dans le Limousin. Nos vies sont à l'opposé mais j'espère que notre amitié est indemne.

Merci à Amandine d'être resté ma plus fidèle amie.

Bien sûr, je tiens tout particulièrement à remercier mes parents, John et Sue, qui ont fait le choix de s'installer en Irlande, île d'émeraude où j'ai pu grandir au bord des fameux lacs du Connemara (nos balades dans "Suemlou" avec Gypsy restent un de mes plus merveilleux souvenirs), mais aussi d'être venus dans le Lot où nous avons construit ensemble notre "home sweet home". Merci de toujours m'avoir laissé la liberté de suivre ma voie et de ne pas avoir cherché à peser sur mes décisions. Merci de m'avoir donné le goût de la découverte et de la nature, qui m'ont permis, je l'espère, de choisir une belle voie. Je remercie également ma soeur, Emma, qui m'a accompagné depuis le tout début (qui m'a même portée quand je me suis cassé le pied avec un parpaing à l'âge de 2 ans!), et qui, malgré les chemins différents que nous avons suivis, reste ma meilleure amie. Merci de tout mon cœur de m'avoir fait un merveilleux cadeau en décorant mon pot de thèse. Merci à Martin et Emma de m'avoir offert lors de leur union une joie immense (désolée d'avoir fait pleurer la mariée! heureusement qu'il y a eu la bourde de Graham "Vous pouvez ... la mariée" pour détendre l'atmosphère!).

Je finirai ces remerciements par la personne sans qui cette thèse n'aurait jamais abouti. Il est le chouchou de tout le monde et est devenu mon chouchou à moi, je parle bien sûr de Romain. Merci d'avoir su me donner confiance en moi, de m'avoir toujours écoutée et soutenue, de toujours chercher à me surprendre et de me rendre heureuse. Tu es le pôle plus et moi le pôle moins, et ensemble nous formons une belle machine pour avancer dans la vie.

Ne vous inquiétez pas, je continuerai à rêver à vos côtés...

Résumé

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants organiques persistants (POP) émis par les activités humaines suite à la combustion incomplète de la matière organique (industrie, chauffage, trafic routier...). En raison de leur faible taux de dégradation, de leur toxicité, de leur capacité à être transportés sur de longues distances et de leur bioaccumulation dans la matière organique, les HAP font l'objet d'une surveillance atmosphérique (directive cadre européenne 96/62/CE du 27 septembre 1996). Les bryophytes, plus communément appelées mousses, sont utilisées depuis une trentaine d'années pour la biosurveillance de la qualité de l'air. Leurs caractéristiques biologiques font de ces plantes terrestres d'excellents bioaccumulateurs des dépôts de polluants atmosphériques. Cependant, elles ont été peu utilisées pour la biosurveillance des HAP et pour des échelles spatiales et temporelles très limitées.

Dans ce contexte, la thèse a pour objectif de valider l'utilisation de bryophytes comme outils pour la biosurveillance des retombées atmosphériques de HAP à différentes échelles spatio-temporelles. La première phase de ce travail a consisté en un développement analytique afin de valider l'analyse des HAP par chromatographie liquide associée à une détection par fluorescence (CLHP-FLD), l'extraction liquide-liquide des HAP contenus dans les dépôts totaux et l'extraction par liquide pressurisé (PLE) des HAP contenus dans les mousses. Cette dernière a été optimisée, grâce à la réalisation d'un plan d'expériences, et a été complétée par des tests de purification par extraction sur phase solide (SPE). Des études de terrain ont ensuite été réalisées afin d'évaluer les tendances temporelles à l'échelle saisonnière, annuelle et historique, ainsi que les tendances spatiales à l'échelle locale et régionale, des teneurs en HAP dans les mousses. Une étude menée sur des mousses d'herbier prélevées dans le Parc Naturel de Bertiz (Navarre, Espagne) entre 1879 et 2007 a permis d'identifier les sources historiques d'émission des HAP. Les bryophytes apparaissent comme de bons « témoins » de la contamination atmosphérique du passé. Une étude annuelle (2010-2011) de biosurveillance active menée à Bertiz a permis ensuite d'observer des tendances saisonnières des teneurs en HAP dans les mousses *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp., liées aux variations des émissions atmosphériques et des conditions météorologiques, en particulier des précipitations. De plus, l'étude annuelle a révélé un fractionnement lors de l'accumulation par les mousses des HAP contenus dans les dépôts totaux, qui résulte d'une affinité des HAP pour les dépôts liée à leur solubilité et d'une affinité des HAP pour le végétal liée à leur propriété lipophile (K_{OW}). Ainsi, le suivi des flux atmosphériques de HAP dans les dépôts totaux ne permet pas de prévoir *a priori* les teneurs de HAP dans les écosystèmes. Enfin, une analyse multivariée de la distribution spatiale des teneurs en HAP dans l'espèce *Hypnum cupressiforme* Hedw. prélevée en Espagne (Navarre), France (Île-de-France) et Suisse (Plateau Suisse et région de Bâle) a permis de caractériser les sources de contamination atmosphériques des régions étudiées et l'influence de paramètres environnementaux tels que l'altitude et la pluviométrie.

Mots-clés

Pollution atmosphérique, hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP), biosurveillance, mousse, dépôts totaux, pluviollessivats.

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are persistent organic pollutants (POPs) emitted by human activities during incomplete combustion of organic matter (industry, domestic heating, road traffic...). Due to their low degradation rates, toxicity, long-range transport and bioaccumulation in organic matter, PAHs are monitored in the atmosphere (Council Directive 96/62/EC of 27 September 1996). Bryophytes, more commonly called mosses, have been used during the past three decades for biomonitoring air quality. Because of their biological characteristics, these terrestrial plants are excellent bioaccumulators of airborne pollutants. However, few studies concern PAH biomonitoring and they are usually restricted to studies limited in time and space. In this context, the thesis aims to validate bryophytes as tools for biomonitoring atmospheric deposition of PAHs on various space-time scales.

The first step of this work consisted in developing the analytical procedures in order to validate PAH analysis by liquid chromatography associated with fluorescence detection (HPLC-FLD), liquid-liquid extraction of PAHs from bulk deposition and pressurized liquid extraction (PLE) of PAHs from mosses. The latter was optimized with a factorial design and was completed by purification tests with solid phase extraction (SPE). Field studies were then carried out to evaluate temporal trends of PAH levels in mosses at seasonal, annual and historical scales, as well as spatial trends, at local and regional scales. A study undertaken on herbarium mosses sampled in Bertiz Natural Park (Navarra, Spain) between 1879 and 2007 led to the identification of PAH historical emission sources. Bryophytes appear as excellent “witnesses” of the past atmospheric contamination. An annual biomonitoring study (2010-2011) at Bertiz showed seasonal trends of PAH content in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp., which are related to variations of PAH emissions and weather conditions, particularly precipitations. Moreover, the annual study revealed a fractionation of PAHs while they are transferred from total deposition to the mosses, as the affinity of PAHs for deposition samples was related with their solubility and their affinity for the plant was related to their lipophilic property (K_{ow}). Thus, monitoring PAH fluxes in total deposition does not give an *a priori* estimation of PAH contents in the ecosystems. Finally, multivariate analysis of the spatial distribution of PAHs in the species *Hypnum cupressiforme* Hedw. sampled in Spain (Navarra), France (Île-de-France) and Switzerland (Swiss Plateau and Basel area) led to the characterization of the atmospheric contamination sources in the different areas and the influence of environmental parameters such as elevation and pluviometry.

Keywords

Atmospheric pollution, polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH), biomonitoring, moss, bulk deposition, throughfall deposition.

Table des Matières

NOMENCLATURE.....	5
INTRODUCTION GÉNÉRALE	11
CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	15
I.1. LES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES	19
I.1.1. GÉNÉRALITÉS.....	19
I.1.2. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES.....	21
I.1.3. ORIGINE DES HAP DANS L'ENVIRONNEMENT.....	23
I.1.3.1. Mécanismes de formation des HAP	23
I.1.3.2. Principales sources d'émission	24
I.1.4. TRANSPORT ET DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT.....	26
I.1.5. TOXICITE DES HAP.....	27
I.1.5.1. Propriétés toxicologiques.....	27
I.1.5.2. Métabolisme.....	29
I.1.5.3. Impact sanitaire	30
I.1.6. LES HAP DANS L'ATMOSPHÈRE.....	31
I.1.6.1. Distribution dans le compartiment atmosphérique.....	31
I.1.6.1.1. Partition entre les phases gazeuse et particulaire	31
I.1.6.1.2. Distribution granulométrique des HAP particulières	32
I.1.6.2. Réactivité dans l'atmosphère	33
I.1.6.3. Concentrations atmosphériques.....	34
I.1.7. LES RETOMBÉES ATMOSPHÉRIQUES DE HAP.....	39
I.1.7.1. Définitions.....	39
I.1.7.2. Les études de retombées atmosphériques.....	40
I.1.8. CADRE RÉGLEMENTAIRE.....	42
I.2. LES MOUSSES, BIOINDICATEURS DES HAP ATMOSPHERIQUES.....	43
I.2.1. PRÉSENTATION DES MOUSSES.....	43
I.2.1.1. Les bryophytes au sein du règne végétal	43
I.2.1.2. Les mousses.....	46
I.2.1.2.1. Origine.....	46
I.2.1.2.2. Caractéristiques anatomiques et morphologiques	46
I.2.1.2.3. Processus physiologiques impliqués dans le développement	50
I.2.1.2.4. Caractéristiques écologiques.....	52
I.2.2. LA BIOACCUMULATION DES HAP ATMOSPHÉRIQUES.....	54
I.2.3. LA BIOSURVEILLANCE DE LA QUALITÉ DE L'AIR.....	55
I.2.3.1. Définitions.....	55
I.2.3.2. La biosurveillance végétale des HAP atmosphériques	56
I.2.3.3. Études de biosurveillance à l'aide de mousses	57
I.2.3.3.1. Historique de la biosurveillance par les mousses	57
I.2.3.3.2. Caractéristiques des mousses utilisées en biosurveillance	59
I.2.3.3.3. Études de biosurveillance des HAP atmosphériques par les mousses	60
I.3. METHODES D'ECHANTILLONNAGE DES DEPOTS ET DES MOUSSES	64
I.3.1. LES DÉPÔTS ATMOSPHÉRIQUES.....	64
I.3.1.1. Les dépôts secs.....	64
I.3.1.2. Les dépôts humides	66
I.3.1.3. Les dépôts totaux.....	67
I.3.1.3.1. Préconisations normatives et législatives	68
I.3.1.3.2. État de l'art des études de dépôts totaux.....	69
I.3.2. LES MOUSSES.....	74
I.3.2.1. Prélèvement des mousses	74
I.3.2.2. Préparation des mousses.....	75
I.4. PROCEDURES ANALYTIQUES DE QUANTIFICATION DES HAP	78
I.4.1. EXTRACTION DES HAP DES DIFFÉRENTES MATRICES	78

I.4.1.1. Extraction des dépôts liquides et totaux	78
I.4.1.1.1. Extraction liquide-liquide (LLE)	79
I.4.1.1.2. Extraction sur Phase Solide (SPE)	81
I.4.1.1.3. Micro-extraction sur barreau (SBSE)	82
I.4.1.1.4. Micro-extraction en Phase Solide (SPME)	83
I.4.1.1.5. Comparaison des différentes techniques d'extraction	84
I.4.1.2. Extraction des mousses et autres matrices végétales	86
I.4.2. TRAITEMENT DES EXTRAITS	88
I.4.2.1. Concentration	88
I.4.2.2. Purification	89
I.4.3. MÉTHODES D'ANALYSE DES HAP	90

CHAPITRE II. ÉTUDE DES HAP DANS LES DÉPÔTS TOTAUX ET LES MOUSSES : DÉVELOPPEMENTS ANALYTIQUES

93

II.1. MATERIEL ET METHODES	97
II.1.1. SOLVANTS, RÉACTIFS ET ADSORBANTS	97
II.1.2. NETTOYAGE DU MATERIEL	98
II.1.3. PRÉ-TRAITEMENT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS	98
II.1.3.1. Les dépôts totaux	98
II.1.3.2. Les mousses	99
II.1.4. EXTRACTION DES HAP DES ÉCHANTILLONS	100
II.1.4.1. Préparation d'étalons d'extraction	100
II.1.4.2. Extraction des HAP des dépôts totaux	101
II.1.4.3. Extraction des HAP des mousses	102
II.1.4.3.1. Extraction par Soxtec	102
II.1.4.3.2. Extraction par liquide pressurisé (PLE)	103
II.1.5. CONCENTRATION	104
II.1.6. PURIFICATION	105
II.1.7. ANALYSE PAR CLHP-FLD	106
II.2. DEVELOPPEMENT, OPTIMISATION ET VALIDATION ANALYTIQUE	110
II.2.1. VALIDATION DE L'ANALYSE PAR CLHP-FLD	110
II.2.2. VALIDATION DE L'ANALYSE DES DÉPÔTS TOTAUX	111
II.2.2.1. Validation de la procédure analytique	111
II.2.2.2. Influence du stockage	115
II.2.3. OPTIMISATION DE L'ANALYSE DES MOUSSES	116
II.2.3.1. Échantillons	116
II.2.3.2. Extraction par PLE	117
II.2.3.2.1. Choix du solvant d'extraction	117
II.2.3.2.2. Optimisation des paramètres opérationnels	118
II.2.3.2.3. Comparaison avec l'extraction par Soxtec	127
II.2.3.3. Purification par SPE	128
II.2.3.4. Validation avec le matériau de référence	130
II.3. CONCLUSION	133

CHAPITRE III. ÉTUDE HISTORIQUE DE LA QUALITÉ DE L'AIR D'UN SITE FORESTIER PYRÉNÉEN

135

III.1. HISTORIQUE DU PARC NATUREL DE BERTIZ	139
III.2. METHODOLOGIE	140
III.2.1. SPÉCIMENS DE MOUSSES D'HERBIER	140
III.2.2. PROCEDURE ANALYTIQUE	141
III.2.2.1. Préparation des échantillons	141
III.2.2.2. Extraction et analyse des HAP	141
III.2.2.3. Analyses élémentaires et isotopiques de C et N	143
III.2.2.3.1. Principe de l'analyse isotopique	143
III.2.2.3.2. Protocole d'analyse	144
III.3. RESULTATS ET DISCUSSION	145
III.3.1. ANALYSES ÉLÉMENTAIRES ET ISOTOPIQUES DE C & N	145
III.3.1.1. Concentrations des mousses en C et N	145
III.3.1.2. Signatures isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ des mousses	146
III.3.2. TENEURS HISTORIQUES DES MOUSSES EN HAP	149

<i>III.3.3. ANALYSE MULTIVARIÉE AVEC LES MÉTAUX LOURDS</i>	154
<i>III.3.4. LIMITES DE L'UTILISATION DE MOUSSES D'HERBIER</i>	156
III.4. CONCLUSION	158

CHAPITRE IV. ÉTUDE ANNUELLE DES RETOMBÉES ATMOSPHÉRIQUES DE HAP SUR UN SITE FORESTIER PYRÉNÉEN..... 161

IV.1. PRESENTATION DU SITE D'ETUDE : LE PARC NATUREL DE BERTIZ	165
IV.2. PROTOCOLE DE L'ETUDE DES DEPOTS TOTAUX DE HAP	169
IV.2.1. ÉCHANTILLONNAGE DES DÉPÔTS TOTAUX	169
IV.2.1.1. Sites d'échantillonnage	169
IV.2.1.2. Matériel et protocole d'échantillonnage	171
IV.2.1.3. Blancs de terrain et de laboratoire.....	173
IV.2.2. SUIVI DE PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX	174
IV.2.2.1. Suivi des paramètres météorologiques	174
IV.2.2.2. Étude de la couverture végétale	176
IV.2.3. ANALYSE DES HAP DANS LES DÉPÔTS TOTAUX	177
IV.2.4. ÉVALUATION DES FLUX DE HAP ATMOSPHÉRIQUES	178
IV.3. PROTOCOLE DE BIOSURVEILLANCE DES HAP AVEC LES MOUSSES	179
IV.3.1. BIOSURVEILLANCE ACTIVE DES DÉPÔTS DE HAP	179
IV.3.1.1. Prélèvement des mousses dans le Massif d'Aralar	179
IV.3.1.2. Mise en place du dispositif expérimental à Bertiz	180
IV.3.1.3. Échantillonnage des mousses durant l'année.....	182
IV.3.2. ANALYSE DES HAP DANS LES MOUSSES	182
IV.4. RESULTATS ET DISCUSSION	184
IV.4.1. ÉTUDE DES FLUX DE HAP DANS LES DÉPÔTS TOTAUX	184
IV.4.1.1. Validation du protocole d'échantillonnage des dépôts	184
IV.4.1.2. Etude de l'influence de la canopée forestière	188
IV.4.1.3. Variabilité saisonnière des flux de HAP dans les dépôts	190
IV.4.1.4. Flux de HAP et autres données de qualité de l'air.....	192
IV.4.1.5. Evaluation des flux annuels de HAP atmosphériques	195
IV.4.2. BIOSURVEILLANCE ACTIVE AVEC LES MOUSSES	196
IV.4.2.1. Analyse des échantillons prélevés <i>in situ</i>	196
IV.4.2.2. Variabilité inter-espèces.....	198
IV.4.2.3. Variations saisonnières des teneurs des mousses en HAP	199
IV.4.2.4. Etude de l'influence de la canopée sur les teneurs en HAP	203
IV.4.3. COMPARAISON DES APPORTS ATMOSPHERIQUES DE HAP ET DES TENEURS DANS LES MOUSSES	205
IV.5. CONCLUSION	209

CHAPITRE V. ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION SPATIALE DES RETOMBÉES DE HAP ATMOSPHÉRIQUES EN NAVARRE : COMPARAISON AVEC D'AUTRES REGIONS EUROPÉENNES..... 213

V.1. OBJECTIFS ET CONTEXTE DE L'ETUDE	215
V.2. REGIONS D'ETUDE	219
V.2.1. LA NAVARRE	219
V.2.2. LA SUISSE	221
V.2.3. L'ÎLE-DE-FRANCE	224
V.2.4. COMPARAISON DES RÉGIONS D'ÉTUDE	227
V.3. METHODOLOGIE	229
V.3.1. ÉCHANTILLONNAGE DES MOUSSES	229
V.3.2. ANALYSES	232
V.3.3. VARIABILITE DE L'ÉCHANTILLONNAGE	236
V.4. RESULTATS ET DISCUSSION	237
V.4.1. DISTRIBUTION DES CONTAMINANTS EN NAVARRE	237
V.4.1.1. Teneurs en HAP dans les mousses de Navarre.....	237
V.4.1.2. Signatures isotopiques de C et N des mousses de Navarre	242
V.4.2. COMPARAISON AVEC D'AUTRES RÉGIONS EUROPÉENNES	246
V.4.2. COMPARAISON AVEC D'AUTRES RÉGIONS EUROPÉENNES	246
V.4.2.1. Cas de la Suisse	246

V.4.2.2. Cas de l'Île-de-France	252
V.4.3. ANALYSE MULTIVARIÉE À L'ÉCHELLE EUROPÉENNE	260
V.4.3.1. Caractérisation statistique des sites d'étude	260
V.4.3.2. Influence de l'occupation des sols	266
V.4.3.3. Influence de paramètres environnementaux	269
V.4.3.4. Comparaison avec les données de métaux lourds.....	272
V.4.3.5. Comparaison avec les données de qualité de l'air	274
V.5. CONCLUSION	275
CONCLUSION GÉNÉRALE	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
RÉFÉRENCES	285
LISTE DES FIGURES	313
LISTE DES TABLEAUX	319
ANNEXES	321

NOMENCLATURE

Lettres latines

A	aire du pic chromatographique ($\text{mV}\cdot\text{min}^{-1}$)
b_0	intersection de la régression multilinéaire des rendements obtenus par PLE lors de la réalisation du plan d'expériences (%)
d	densité (-)
F	coefficient de variance obtenu avec le test de Fischer (-)
F_{Fischer}	coefficient de Fischer (-)
k_{H}	constante de Henry ($\text{Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)
$[\text{HAP}]_{\text{D}}$	concentrations individuelles des HAP mesurées dans les échantillons de dépôts totaux dopés ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{HAP}]_{\text{ND}}$	concentrations individuelles des HAP mesurées dans les échantillons de dépôts totaux non dopés ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
K_{ow}	coefficient de partage octanol/eau (-)
$m_{\text{ajoutée}}$	masse théorique de HAP ajoutée (ng)
MM	masse moléculaire ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)
n	nombre de replicas analysés (-)
N	nombre de HAP mesurés (-)
N	nombre de cycles d'extraction statique durant la PLE (-)
R	rapport isotopique (-)
\varnothing	diamètre interne (m)
p	valeur p (<i>p-value</i>) obtenu avec le test de Student (-)
P_{vap}	pression de vapeur (Pa)
sol	solubilité dans l'eau ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)
t	temps total d'extraction durant la PLE (min)
T	température d'extraction durant la PLE ($^{\circ}\text{C}$)
T_{e}	température d'ébullition ($^{\circ}\text{C}$)
T_{f}	température de fusion ($^{\circ}\text{C}$)
t_{s}	durée d'extraction statique durant la PLE (min)
Y	rendement d'extraction (%)

Lettres grecques

δ	composition isotopique (‰)
ϵ_r	permittivité relative ou constante diélectrique (-)
λ	longueur d'onde (nm)
μ	moment dipolaire (en debye avec 1 debye = $3,336 \cdot 10^{-30}$ C.m)
Σ HAP	concentrations totales en HAP ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les dépôts totaux, $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ dans les mousses)

Sigles et acronymes

AASQA	Association Agréée de Surveillance de la Qualité de l'Air
ABA	Acide abscissique
ACE	Acénaphène
ACL	Acénaphylène
ACN	Acétonitrile
ACP	Analyses en Composantes Principales (<i>PCA : Principal Component Analysis</i>)
AIEA	Agence Internationale de l'Énergie Atomique
ANOVA	<i>ANalysis Of VAriance</i> (Analyse de la variance)
ANT	Anthracène
ANT d ₁₀	Anthracène deutéré
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i> (Extraction accélérée par solvant, marque déposée par Dionex [®])
B(a)A	Benzo(a)anthracène
B(a)P	Benzo(a)pyrène
B(a)P d ₁₂	Benzo(a)pyrène deutéré
B(b)F	Benzo(b)fluoranthène
B(ghi)P	Benzo(g,h,i)perylène
B(k)F	Benzo(k)fluoranthène
CAS	Nombre d'identification assigné par le <i>Chemical Abstracts Service</i>
CATAENAT	Charge Acide Totale d'Origine Atmosphérique dans les Ecosystèmes Naturels Terrestres (réseau de l'Office National des Forêts)
CEAEQ	Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec
CEE-ONU	Commission Economique pour l'Europe de l'Organisation des Nations Unies
CHR	Chrysène

CITEPA	Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer (<i>IARC : International Agency for Research on Cancer</i>)
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CMR	Cancérogène, Mutagène et Reprotoxique
CORINE	<i>COoRdination of the INformation on the Environment</i>
COV	Composés Organiques Volatils
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CRB	Carbazole
CTP	Communauté de Travail des Pyrénées
D(ah)A	Dibenzo(a,h)anthracène
DCM	Dichlorométhane
EMEP	<i>European Monitoring and Evaluation Programme</i>
EN	<i>European Norm</i> (Norme européenne)
ENSIACET	École Nationale Supérieure d'Ingénieurs en Arts Chimiques Et Technologiques
EPER	<i>European Pollutant Emission Register</i> (Registre européen d'émission des polluants)
ERI	Excès de Risque Individuel
ERU	Excès de Risque Unitaire
FET	Facteur d'Equivalence Toxique
FLD	Détecteur à Fluorescence
FLR	Fluorène
FTN	Fluoranthène
FTN d ₁₀	Fluorathène deutéré
HAP	Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
HCB	Hexachlorobenzène
HCH	Hexachlorocyclohexane
ICP	<i>International Cooperative Programme</i> → ICP-Vegetation : <i>Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops</i> → ICP-Forests : <i>Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests</i> → ICP-IM : <i>Integrated Monitoring of Air Pollution Effects on Ecosystems</i>
IL-DLLME	<i>Ionic Liquid based Dispersive Liquid-Liquid Micro-Extraction</i> (Micro-extraction liquide-liquide dispersive par liquide ionique)
IND	Indeno(1,2,3)pyrène
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
INP	Institut National Polytechnique

INSEE	Institut National de la Statistique et des Études Économiques
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
ISO	<i>International Standard Organisation</i>
LAI	<i>Leaf Area Index</i>
LCA	Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle
LCSQA	Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air
LD	Limite de détection
LEA	<i>Late Embryogenesis Abundant proteins</i>
LIC	Lieu d'Importance Communautaire
LICA	<i>Laboratorio Integrado de Calidad Ambiental</i>
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> (Extraction liquide-liquide)
LQ	Limite de quantification
MAE	<i>Microwave Assisted Extraction</i> (Extraction assistée par micro-ondes)
MASE	<i>Membrane Assisted Solvent Extraction</i> (Extraction par solvant assistée par membrane)
MOUDI	<i>Micro-Orifice Uniform Deposited Impactor</i>
MS	Masse sèche
NAP	Naphtalène
NC	Non communiqué
NF	Norme Française
NRI	<i>Noll Rotary Impactor</i>
OCF	<i>Organochlorine Pesticides</i> (Pesticides organochlorés)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PBDE	Polybromodiphényléther
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (ACP : Analyses en Composantes Principales)
PCB	Polychlorobiphényle
PCDD	Polychlorodibenzo-p-dioxine
PCDF	Polychlorodibenzo-furane
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PE	Polyéthylène
PeCB	Pentachlorobenzène
PHE	Phénanthrène
PIC	Programme International Concerté → PIC-Végétation : Effets de la pollution atmosphérique sur la végétation naturelle et les cultures

→ PIC-Forêts : Evaluation et suivi des effets de la pollution atmosphérique sur les forêts

→ PIC-Surveillance intégrée des effets de la pollution de l'air sur les écosystèmes

PFE	<i>Pressurized Fluid Extraction</i> (Extraction par fluide pressurisé)
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i> (Extraction par liquide pressurisé) <i>NB</i> : ASE, PFE et PLE désignent la même technique d'extraction
PLS	<i>Partial Least Squares</i> (Régression des moindres carrés partiels)
PM	<i>Particulate Matter</i> (Particules en suspension dans l'air)
PM10	Particules en suspension dans l'air de diamètre inférieur à 10 µm
PM1.0	Particules en suspension dans l'air de diamètre inférieur à 1,0 µm
PM2.5	Particules en suspension dans l'air de diamètre inférieur à 2,5 µm
PNUE	Programme des Nations Unies pour l'Environnement
POP	Polluant Organique Persistant
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PYR	Pyrène
PVC	<i>Polyvinyl chloride</i> (Chlorure de polyvinyle)
SBSE	<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i> (Micro-extraction sur barreau)
SM	Spectrométrie de Masse
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extraction sur phase solide)
SPME	<i>Solid Phase Micro-Extraction</i> (Micro-extraction sur phase solide)
TSP	<i>Total Suspended Particles</i> (Particules totales en suspension dans l'air)
UAE	<i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (Extraction assistée par ultrasons)
UE	Union Européenne
UNECE	<i>United Nations Economic Commission for Europe</i> (Commission Économique pour l'Europe de l'Organisation des Nations Unies)
UNEP	<i>United Nations Environment Programme</i> (Programme pour l'Environnement des Nations Unies)
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agence américaine de protection de l'environnement)
UV	Ultraviolet

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La pollution atmosphérique est devenue en quelques décennies un des problèmes majeurs de notre société. Par la nature et l'étendue de son impact, le rejet d'un grand nombre de polluants dans l'atmosphère représente une grave menace pour la santé humaine mais aussi pour l'environnement. En effet, l'incidence de pathologies liées à une exposition aux polluants atmosphériques, telles que les maladies obstructives chroniques, les cancers et les désordres hormonaux, pose un réel problème de santé publique (Gérin *et al.*, 2003). En outre, la dégradation des écosystèmes par des phénomènes pouvant être liés à la pollution atmosphérique tels que l'acidification, l'eutrophisation, l'oxydation par les polluants photochimiques, ainsi que l'accumulation de polluants persistants dans les chaînes trophiques, constitue un problème environnemental majeur.

L'étude de la qualité de l'air et de son impact sur la santé humaine et les écosystèmes est complexe, car elle nécessite d'une part des techniques de mesure adaptées, et d'autre part elle résulte d'une contamination à différentes échelles spatiales. En effet, une fraction des polluants retombe dans un faible rayon autour du point d'émission, générant une pollution d'ordre locale. Le reste des polluants se disperse dans la basse couche de l'atmosphère, provoquant une contamination atmosphérique à l'échelle régionale. Lorsque les polluants peuvent pénétrer dans les couches plus élevées de l'atmosphère à la faveur de mouvements ascendants, ils sont susceptibles de parcourir des distances allant jusqu'à plusieurs milliers de kilomètres. On parle alors de pollution atmosphérique transfrontière. Les études de pollution transfrontière ont démarré dans les années 1950 lorsqu'un réseau européen a été mis en place pour mesurer le pH des pluies acides qui provoquaient une acidification des milieux aquatiques et un dépérissement forestier à l'échelle globale. En 1979, la Convention sur la Pollution Atmosphérique Transfrontière à Longue Distance (CPATLD), signée à Genève sous les auspices de la Commission Économique pour l'Europe de l'Organisation des Nations Unies (CEE - ONU), a été la première entente internationale à reconnaître à la fois les problèmes environnementaux et de santé dus au mouvement transfrontalier des polluants atmosphériques et le besoin de solutions à l'échelle des continents. Elle vise à réduire les émissions de soufre, d'oxydes d'azote, de composés organiques volatils, de métaux lourds et de polluants organiques persistants (POP), ainsi qu'à encourager la surveillance de leurs teneurs atmosphériques.

Les POP sont réglementés par deux textes internationaux : le protocole d'Aarhus (1998) et la convention de Stockholm (2001). Le protocole d'Aarhus à la CPATLD fut signé en juin 1998 et ratifié par la France le 25 juillet 2003. La convention de Stockholm fut, quant à elle, signée en mai 2001 dans le cadre du Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE), puis ratifiée par la France le 16 février 2004. L'objet de ces textes est de contrôler, de réduire ou d'éliminer les émissions dans l'environnement de POP d'origine industrielle, telles que les substances produites non intentionnellement par des activités humaines (dioxines, furanes, hydrocarbures aromatiques polycycliques), les substances issues de la fabrication et de l'utilisation de produits chimiques (par exemple, les polychlorobiphényles (PCB)) et les substances utilisées comme pesticides. Institués dans la cadre de la Convention PATLD, le programme EMEP (*European Monitoring and Evaluation Programme*) mesure et modélise les émissions et les dépôts de POP en Europe, tandis que le groupe de travail sur les effets (WGE, *Working Group on Effects*) étudie les impacts des POP sur l'environnement et la santé.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), émis lors de la combustion incomplète de la matière organique, forment un important groupe de micropolluants organiques, en raison de leur ubiquité dans l'environnement (atmosphère, eaux, sols, sédiments) et de leurs caractères cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques. L'atmosphère constitue un compartiment important du cheminement des HAP depuis leurs sources d'émission vers les différents écosystèmes terrestres et aquatiques *via* les retombées atmosphériques. Une meilleure connaissance du transfert de ces molécules aux différentes interfaces est donc primordiale. Pour cela, des techniques analytiques fiables sont indispensables.

Les appareils classiques d'analyse de l'air ont un coût d'investissement et d'utilisation élevés, ce qui a pour conséquence une faible représentativité de ces outils, tout d'abord à l'échelle globale puisque non utilisés dans certains pays, mais également à l'échelle locale par l'impossibilité de constituer des maillages. Les polluants non biodégradables tels que les POP sont accumulés tout au long des chaînes trophiques, ce qui amplifie leur effet toxique sur les organismes vivants. Toutefois, le caractère bioaccumulable des polluants persistants peut être utilisé afin de suivre les teneurs en polluants dans l'environnement : des organismes vivants appelés bioaccumulateurs sont donc utilisés. Développée à partir des années 1960, la

biosurveillance végétale de la qualité de l'air présente une alternative intéressante à l'utilisation d'appareils de mesure (Garrec et Van Haluwyn, 2002).

Les bryophytes, appelées plus couramment mousses, présentent notamment l'avantage de ne pas posséder de système racinaire et de ne pas être recouvertes d'une cuticule, et par conséquent absorbent la majorité des nutriments et l'eau par voie aérienne. Les mousses adsorbent donc directement les polluants atmosphériques à leur surface ou absorbent les composés polaires ou lipophiles dans leurs membranes cellulaires (Knulst *et al.*, 1995). C'est pour cette raison que leur utilisation s'est largement développée depuis quelques décennies, notamment pour l'étude des dépôts atmosphériques de métaux lourds. Toutefois, la biosurveillance de POP tels que les HAP et les PCB se limite à l'heure actuelle à des échelles spatio-temporelles peu étendues.

Dans ce contexte, les objectifs de mes travaux de recherche sont d'étudier la pertinence de l'utilisation de bryophytes comme outils pour la biosurveillance des retombées atmosphériques de HAP à différentes échelles spatio-temporelles. Ainsi, les tendances temporelles à l'échelle saisonnière, annuelle et historique, ainsi que les tendances spatiales à l'échelle locale et régionale ont été étudiées.

Pour répondre à cette problématique, les recherches mises en place s'appuient sur trois axes. Le premier concerne l'étude de la faisabilité de l'utilisation d'échantillons de bryophytes conservés dans un herbier pour la reconstruction des variations temporelles des retombées atmosphériques de HAP à l'échelle séculaire et pour l'identification des sources historiques de contamination atmosphérique. Le deuxième axe concerne l'étude des tendances saisonnières de bioaccumulation des HAP par les mousses et de leur relation avec les flux atmosphériques de HAP. Le troisième axe s'intéresse à l'étude des variations spatiales des teneurs en HAP dans les mousses à l'échelle régionale et à la comparaison des niveaux de contamination de trois régions européennes possédant des caractéristiques géomorphologiques, climatiques et d'occupation des sols différentes.

Le manuscrit est ainsi articulé autour de trois parties.

- Le premier chapitre présente le contexte de l'étude à partir d'une synthèse bibliographique concernant les HAP, les bryophytes, les méthodes

d'échantillonnage des dépôts atmosphériques et des mousses ainsi que les méthodes analytiques déployées pour analyser les HAP dans ces matrices.

- Le deuxième chapitre présente les développements analytiques réalisés au laboratoire pour étudier les teneurs en HAP dans les dépôts totaux et les mousses. Les procédures analytiques ainsi développées ont été utilisées ensuite pour les études de terrain.
- Les trois derniers chapitres regroupent les résultats des études réalisées afin de valider l'utilisation de bryophytes comme outils pour la biosurveillance des retombées atmosphériques de HAP à différentes échelles spatio-temporelles. Le troisième chapitre relate l'étude des teneurs en HAP dans des mousses prélevées dans le Parc Naturel de Bertiz sur une période de 130 ans et conservées dans l'herbier de l'Université de Navarre. Le quatrième chapitre présente l'étude de biosurveillance active avec les bryophytes menée durant un an sur le site de Bertiz en parallèle de la mesure des teneurs en HAP dans les dépôts totaux. Enfin, le cinquième chapitre expose les résultats de l'étude de la distribution spatiale des HAP en Navarre, la région au sein de laquelle se situe le Parc de Bertiz, et la comparaison de cette distribution avec celle mesurée dans deux autres régions européennes : l'Île-de-France et le Plateau Suisse.

CHAPITRE I.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

There are an awful lot of scientists today who believe that before very long we shall have unraveled all the secrets of the universe. There will be no puzzles anymore. To me it'd be really, really tragic because I think one of the most exciting things is this feeling of mystery, feeling of awe, the feeling of looking at a little live thing and being amazed by it and how its emerged through these hundreds of years of evolution and there it is and it is perfect and why.

Jane Goodall (1934- ...)

Le premier volet de la synthèse bibliographique concerne les polluants étudiés dans ce travail de thèse : les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Leur origine, leur transport et leur devenir dans l'environnement et plus spécifiquement dans le compartiment atmosphérique sont présentés, ainsi que les grandeurs physico-chimiques qui influencent leur distribution et leur réactivité. Les données disponibles dans la littérature concernant les concentrations atmosphériques et les retombées atmosphériques de HAP sont également répertoriées. Enfin, les caractéristiques toxicologiques de ces molécules sont évoquées ainsi que le cadre réglementaire mis en place au niveau national, communautaire et international afin de limiter leurs émissions et de surveiller leurs teneurs dans l'air ambiant.

Dans un second temps, cette synthèse a pour objectif de présenter les mousses : leurs caractéristiques biologiques tout d'abord, puis leur utilisation dans le cadre de la biosurveillance végétale de la qualité de l'air. Des ouvrages complets sur les bryophytes existent. Toutefois, les études menées jusqu'à présent en biosurveillance n'abordent que superficiellement la morphologie, l'anatomie, la physiologie et l'écologie des mousses, dont la connaissance est pourtant capitale pour comprendre leur interaction avec les polluants atmosphériques. Cette partie permet ainsi d'amener les connaissances des biologistes concernant les mousses à la portée des chimistes qui réalisent des études de biosurveillance de la qualité de l'air. De plus, l'historique de la bioindication de l'air apporte des informations concernant les végétaux utilisés et les polluants étudiés. Un état de l'art concernant les caractéristiques des mousses utilisées en biosurveillance et les teneurs en HAP mesurées est également effectué.

Enfin cette synthèse permet d'une part, de recenser les méthodes d'échantillonnage utilisées afin de déterminer les flux atmosphériques de HAP à partir des dépôts atmosphériques et des mousses, et d'autre part de lister les techniques analytiques utilisées afin de déterminer les teneurs en HAP dans ces matrices. Ces données ont servi de base pour le choix des procédures d'échantillonnage et des méthodes analytiques mises en oeuvre dans notre étude.

I.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

I.1.1. GÉNÉRALITÉS

Les polluants organiques persistants sont des composés organiques :

- possédant un caractère toxique,
- persistants dans l'environnement,
- bioaccumulables,
- capables d'être transportés à l'échelle du globe,
- susceptibles de causer des effets néfastes significatifs sur la santé humaine et l'environnement à proximité et loin de leur source d'émission (UNECE, 1998).

Les POP les plus importants sont les polychlorobiphényles (PCB), les dioxines (polychlorodibenzo-p-dioxines ; PCDD), les furanes (polychlorodibenzofuranes; PCDF), l'hexachlorobenzène (HCB), pesticides organochlorés (e.g. DDT, aldrine), les phénols polycycliques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Jones et de Voogt, 1999).

Ces composés, majoritairement d'origine anthropique, présentent une faible dégradabilité et par conséquent se dispersent dans l'atmosphère jusque dans les zones les plus reculées comme l'Arctique (Ding *et al.*, 2007a ; Ding *et al.*, 2007b ; Ding *et al.*, 2009). Les POP sont transférés dans tous les autres compartiments de l'environnement : dans les précipitations et les eaux de surface (Holoubek *et al.*, 2007a), dans les glaces polaires (Gustafsson *et al.*, 2005), le sol (Holoubek *et al.*, 2007a), les sédiments marins (Cardellicchio *et al.*, 2007) et les sédiments fluviaux (Holoubek *et al.*, 2007a), mais également dans la biosphère du fait de leur bioaccumulation dans les végétaux (Holoubek *et al.*, 2007a) et les animaux marins et terrestres (Rigét *et al.*, 2010). En effet, étant à la fois résistants au métabolisme et absorbés dans les graisses du fait de leur propriétés lipophiles, les POP sont facilement accumulés dans les chaînes trophiques (Jones et de Voogt, 1999).

Une majorité des POP présente un caractère toxique pour l'être humain et certains sont classés comme cancérogènes, mutagènes, repro-toxiques et/ou tératogène (Belpomme *et al.*, 2007). Leur écotoxicité a également été mise en évidence dans les écosystèmes marins (Leipe *et al.*, 2005) et terrestres (Smith *et al.*, 2007 ; Oguntimehin *et al.*, 2008).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont une famille de POP qui regroupe plusieurs centaines de composés chimiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène. Leur structure comprend deux ou plusieurs cycles benzéniques juxtaposés qui peuvent être substitués. Des composés aromatiques polycycliques contenant des hétéroatomes (soufre, azote, oxygène) sont également présents en quantités importantes dans l'environnement. Parmi les HAP, seize sont recensés depuis 1976 sur la liste des polluants organiques prioritaires de l'Agence Américaine pour la Protection de l'Environnement (USEPA) (Figure I-1).

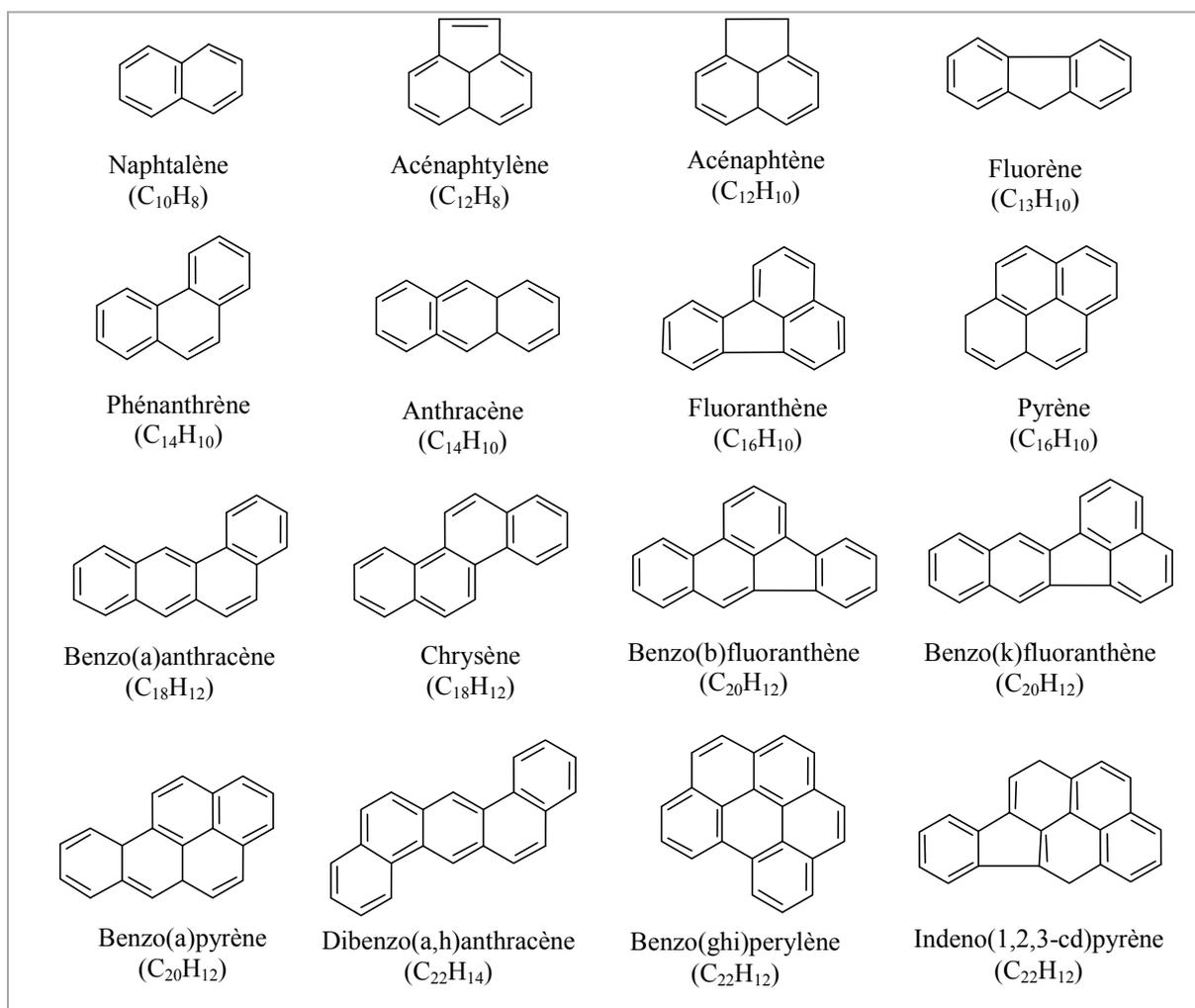


Figure I-1. Liste des HAP classés comme polluants prioritaires par l'USEPA

Les HAP sont souvent classés en fonction du nombre de cycles ou du nombre de noyaux aromatiques qu'ils contiennent. Aucune nomenclature n'existe en ce qui concerne l'abréviation du nom de ces composés. Le Tableau I-1 regroupe les HAP en fonction de leur nombre de noyaux aromatiques et présente également les abréviations adoptées dans ce manuscrit.

Tableau I-1. HAP (avec les abréviations adoptées) classés en fonction du nombre de noyaux aromatiques

NOMBRE DE NOYAUX AROMATIQUES				
2	3	4	5	6
Naphtalène NAP	Phénanthrène PHE	Pyrène PYR	Benzo(a)pyrène B(a)P	Benzo(g,h,i)perylène B(ghi)P
Acénaphthylène ACL	Anthracène ANT	Benzo(a)anthracène B(a)A	Dibenzo(a,h)anthracène D(ah)A	
Acénaphthène ACE	Fluoranthène FTN	Chrysène CHR	Indéno(1,2,3-c,d)pyrène IND	
Fluorène FLR		Benzo(b)fluoranthène B(b)F		
		Benzo(k)fluoranthène B(k)F		

I.1.2. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Les HAP sont des composés semi-volatils dont l'occurrence et la distribution dans les différents compartiments de l'environnement sont conditionnées par leurs caractéristiques physico-chimiques ([Tableau I-2](#)) :

- (a) La pression de vapeur (P_{vap}) informe sur la volatilité des composés, c'est-à-dire leur aptitude à se volatiliser ou à rester en phase gazeuse.
- (b) La constante de Henry (k_H) est caractéristique de l'équilibre entre la phase gazeuse et aqueuse.
- (c) La solubilité (sol) exprime l'affinité d'un composé pour la phase aqueuse (c'est-à-dire son caractère hydrophile).
- (d) Le coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}) reflète l'affinité d'un composé pour la matière organique (c'est-à-dire son caractère lipophile).

Tableau I-2. Caractéristiques physico-chimiques des 16 HAP de la liste prioritaire de l'USEPA
(D'après Dabestani et Ivanov, 1999 ; Tobiszewski et Namiesnik, 2012)

HAP	CAS	MM (g.mol ⁻¹)	P _{vap} (Pa)	k _H (atm.m ³ .mol ⁻¹)	sol (g.m ⁻³)	log K _{ow}	T _f (°C)	T _e (°C)
NAP	91-20-3	128,2	10,4	4,5 · 10 ⁻⁵	31	3,37	81	218
ACL	208-96-8	152,2	9,0 · 10 ⁻¹	12,2 · 10 ⁻⁵	16	4	92	270
ACE	83-32-9	154,2	3,0 · 10 ⁻¹	8,4 · 10 ⁻⁵	3,8	3,92	96	277
FLR	86-73-7	166,2	9,0 · 10 ⁻²	7,9 · 10 ⁻⁵	1,9	4,18	116	295
PHE	85-01-8	178,2	2,0 · 10 ⁻²	-	1,1	4,46	101	340
ANT	120-12-7	178,2	1,0 · 10 ⁻³	4,0 · 10 ⁻⁵	0,04	4,49	216	342
FTN	206-44-0	202,3	1,2 · 10 ⁻³	1,0 · 10 ⁻⁵	0,2	8,9	111	375
PYR	129-00-00	202,3	6,0 · 10 ⁻⁴	9,2 · 10 ⁻⁶	0,13	8,8	156	404
B(a)A	56-55-3	228,3	2,8 · 10 ⁻⁵	5,8 · 10 ⁻⁶	0,011	5,8	159	435
CHR	218-01-9	228,3	5, · 10 ⁻⁵	5,9 · 10 ⁻⁶	0,0019	5,73	256	448
B(b)F	205-99-2	252,3	-	-	0,0015	5,78	168	-
B(k)F	207-08-9	252,3	5,2 · 10 ⁻⁸	1,6 · 10 ⁻⁷	0,0008	6,5	216	480
B(a)P	50-32-8	252,3	7,0 · 10 ⁻⁷	4,6 · 10 ⁻⁷	0,0015	6,35	175	495
D(ah)A	53-70-3	278,3	3,7 · 10 ⁻¹⁰	-	0,0005	6,5	267	524
B(ghi)P	191-24-2	276,3	-	7,5 · 10 ⁻⁷	0,00014	6,63	273	550
IND	193-39-5	276,3	-	-	0,00019	6,7	164	530

CAS : nombre d'identification assigné par le Chemical Abstracts Service ; MM : Masse molaire ; P_{vap} : pression de vapeur à 25 °C ; k_H : constante de Henry à 25 °C (1 atm = 101 325 Pa) ; sol : solubilité dans l'eau à 25 °C ; K_{ow} : coefficient de partage octanol/eau à 25 °C ; T_f : Température de fusion ; T_e : Température d'ébullition.

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont fortement liées à leur masse molaire. En effet, les pressions de vapeur sont d'autant plus faibles que les composés sont lourds. Ainsi, les molécules les plus légères (NAP à PYR), ayant des k_H supérieures ou égales à 10⁻⁵, sont volatiles et se trouvent majoritairement dans l'atmosphère en phase gazeuse. Les HAP plus lourds sont faiblement ou très faiblement volatils : ces composés sont donc davantage sorbés sur les particules atmosphériques. D'autre part, les HAP sont d'autant moins solubles dans l'eau (donc d'autant plus hydrophobes) que leur masse molaire est élevée : la solubilité s'étend de 31 mg.L⁻¹ pour le NAP à 0,14 µg.L⁻¹ pour le B(ghi)P. Tous les HAP sont bioaccumulables (log K_{ow} > 3). K_{ow} évolue inversement à la solubilité, témoignant d'un important potentiel pour les HAP lourds de s'adsorber sur les matières organiques particulaires en suspension dans l'air ou dans l'eau, ainsi que d'un fort potentiel de bioconcentration dans les organismes (Dabestani et Ivanov, 1999 ; Le Corfec, 2011).

I.1.3. ORIGINE DES HAP DANS L'ENVIRONNEMENT

I.1.3.1. Mécanismes de formation des HAP

La majorité des HAP sont issus de combustibles fossiles ou de biomasse par réaction de pyrolyse ou de pyrosynthèse, dans des conditions pauvres en oxygène (Ravindra *et al.*, 2008).

Les hydrocarbures saturés légers forment des HAP par pyrosynthèse. Pour des températures supérieures à 500 °C, les liaisons carbone-hydrogène et carbone-carbone sont rompues pour former des radicaux libres. Ces derniers se combinent à l'acétylène pour former une structure qui se condense ensuite en noyaux aromatiques résistants à la dégradation thermique (Manahan, 1994). La [Figure I-2](#) illustre cette réaction à partir de l'éthane :

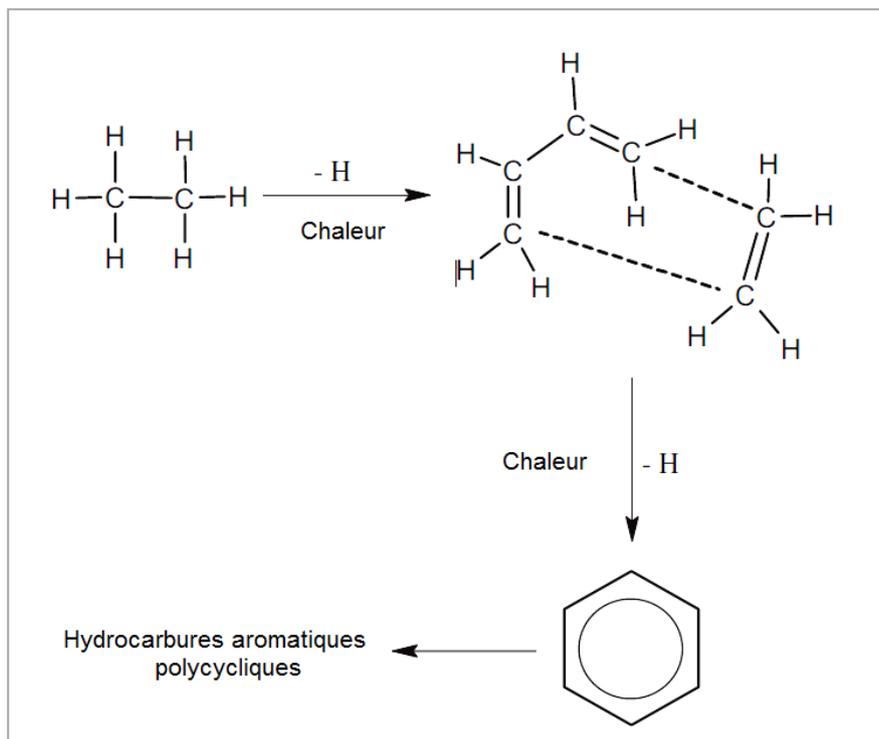


Figure I-2. Pyrosynthèse de HAP à partir de l'éthane (*D'après Ravindra et al., 2008*)

Lors d'une combustion dans un moteur, le mécanisme prépondérant est la réaction radicalaire, favorisée par rapport aux condensations lentes et aux réactions ioniques du fait de la rapidité de la combustion (Haynes, 1991). L'addition de radicaux aux HAP légers formés au départ donne des HAP plus lourds par l'intermédiaire de HAP alkylés (Wiersum, 1996). Les HAP produits lors de phénomènes de combustion dépendent du type de carburant, de la quantité d'oxygène et de la température de combustion (Lima *et al.*, 2005).

Les HAP peuvent également être formés par pyrosynthèse à partir d'hydrocarbures cycliques (surtout insaturés) et par pyrolyse d'alcane lourds présents dans les carburants fossiles et la matière organique végétale (Ravindra *et al.*, 2008). Enfin, les particules fines constituées par les imbrûlés des combustibles véhiculent également des HAP (Larsen et Baker, 2003 ; Mastral *et al.*, 2003).

I.1.3.2. Principales sources d'émission

Les HAP présents dans l'environnement sont produits lors de la formation de carburants fossiles (pétrogénèse) ou lors de phénomènes de combustion incomplète de matière organique, d'origine fossile ou non-fossile. Les composés respectivement formés sont appelés HAP pétrogéniques ou pyrogéniques (Tobiszewski et Namiesnik, 2012). Ces HAP peuvent provenir de sources naturelles lors de la combustion de la biomasse (feux de forêts), des éruptions volcaniques et de la diagenèse (formation des roches sédimentaires) (Wang *et al.*, 2007). Cependant, l'urbanisation et l'industrialisation ont conduit à l'apparition de nombreuses sources anthropiques.

Certains HAP (naphtalène, acénaphène, acénaphylène, phénanthrène, pyrène) sont produits industriellement pour être utilisés dans la production de teintures, de plastiques, d'explosifs, de fibres et de pesticides ainsi que dans l'industrie pharmaceutique. Cependant, cette production est faible, contrôlée et ne conduit pas à une contamination environnementale (Hawley, 1987 ; Soleille et Brignon, 2006).

Les HAP sont principalement émis dans l'environnement *via* l'atmosphère. Les émissions anthropiques sont liées majoritairement à une production non-intentionnelle de HAP par l'industrie et par la combustion de combustibles fossiles et de biomasse (Wegener *et al.*, 1992 ; Mastral *et al.*, 2003). Ravindra *et al.* (2008) répertorient l'ensemble de ces sources comme étant de type domestique, industriel, agricole et urbain.

Les émissions domestiques sont essentiellement dues au chauffage et varient selon la nature du combustible utilisé et des conditions de combustion (température, disponibilité de l'oxygène et humidité). De plus, il existe une grande variabilité géographique des émissions domestiques de HAP en raison des différences climatiques et du type de chauffage domestique (Ravindra *et al.*, 2008). Le protocole d'Aarhus sur les POP (UNECE, 1998)

indique que le chauffage domestique au bois et au charbon est la source fixe majeure d'émissions atmosphériques de HAP.

Les sources industrielles contribuent également à l'émission de HAP atmosphériques lors de la production d'aluminium (procédé de Söderberg), la production de coke et d'anodes, l'incinération des ordures ménagères, la fabrication du ciment, par l'industrie de l'asphalte, du bitume et du goudron, par le craquage du pétrole et par la synthèse de créosote utilisé pour la préservation du bois (UNECE, 1998 ; Soleille et Brignon, 2006 ; Ravindra *et al.*, 2008).

La source agricole la plus significative est la combustion des déchets organiques issus de la biomasse agricole (Ravindra *et al.*, 2008).

Enfin, les échappements des véhicules automobiles et des poids lourds sont les principales sources de HAP en zone urbaine. Notons toutefois que ces émissions sont fonction du type de moteur, de la charge et de l'âge, du type de carburant et de sa qualité, de la présence de HAP dans le lubrifiant, de la combustion du lubrifiant et aussi du type de conduite. Le trafic routier est également source de HAP, par la combustion de carburants de type essence et diesel, mais également dans une moindre mesure lors de l'abrasion des pneus en caoutchouc et de l'asphalte des surfaces de route (Baek *et al.*, 1991a ; Ravindra *et al.*, 2008). Le protocole d'Aarhus indique que les émissions de POP par des sources mobiles sont essentiellement constituées de HAP particuliers émis par le trafic automobile, les véhicules à moteur diesel ayant une contribution plus importante que les véhicules à moteur essence (UNECE, 1998).

En France, les émissions de 4 HAP lourds (benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(k)pyrène, indénopyrène) sont inventoriées par le Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique (CITEPA) depuis 1990. La combustion de biomasse et de matières fossiles pour le chauffage dans le secteur résidentiel/tertiaire apparaît comme la principale source d'émission de ces composés (66% des émissions en 2009), suivi par la combustion de diesel par le trafic routier (21%) (CITEPA, 2011a). Cependant, il est à noter que cette étude ne concerne que quelques HAP. La contribution des différents secteurs d'activité aux émissions totales de HAP peut donc s'avérer différente.

Certains HAP sont également émis directement dans les écosystèmes aquatiques. En effet, les HAP pétrogéniques sont parfois émis dans les eaux naturelles lors de fuites et de rejets d'huiles usagées, de marées noires, de dégazages et d'activités pétrolières (pertes lors du gisement et du raffinage). Les rejets d'effluents industriels, contenant des produits de pyrolyse (goudron de houille, créosote, brai et noir de fumée, huile anthracénique) ou bien issus du lavage des gaz de combustion ou du refroidissement des charbons lors de la production de coke, peuvent également être une source de contamination aquatique (Soleille et Brignon, 2006).

Les HAP ne sont généralement pas émis directement dans le sol et les sédiments. La contamination de ces compartiments résulte d'un transfert de l'atmosphère vers le sol (Mostert *et al.*, 2010) et du compartiment aquatique vers les sédiments (Ghosh et Hawthorne, 2010).

I.1.4. TRANSPORT ET DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT

Après émission dans l'atmosphère, les HAP sont dispersés et peuvent être transportés sur de longues distances par les mouvements de masse d'air. Les composés sont soumis à divers processus physico-chimiques : partition entre les phases atmosphériques (gazeuse et particulaire), distribution granulométrique des HAP particulaires et réactivité chimique/photochimique (§ I.1.6.). Les polluants sont ensuite transférés à la surface terrestre (océans et continents) par les processus de dépôts secs ou humides (Figure I-3). Le devenir des HAP lors de leur transport et les taux de retombée dépendent en grande partie de leurs caractéristiques, des conditions météorologiques ainsi que de la distribution granulométrique entre les fractions particulaires (Finlayson-Pitts et Pitts Jr, 2000a).

Les HAP déposés sur le milieu continental peuvent atteindre le milieu marin par lessivage des sols, puis par les transports fluviaux. Dans le milieu aquatique, les HAP se trouvent sous forme dissoute, associés à la matière organique dissoute ou adsorbés sur les particules (ou colloïdes) en suspension. Les polluants sont ensuite transférés aux sédiments où ils sont principalement adsorbés sur les particules mais peuvent également être dissous dans l'eau interstitielle. Enfin, leur caractère lipophile leur permet d'être facilement absorbés puis accumulés ou transformés par les êtres vivants et ainsi être transférés dans les différents niveaux des chaînes trophiques jusqu'à l'homme (Le Corfec, 2011).

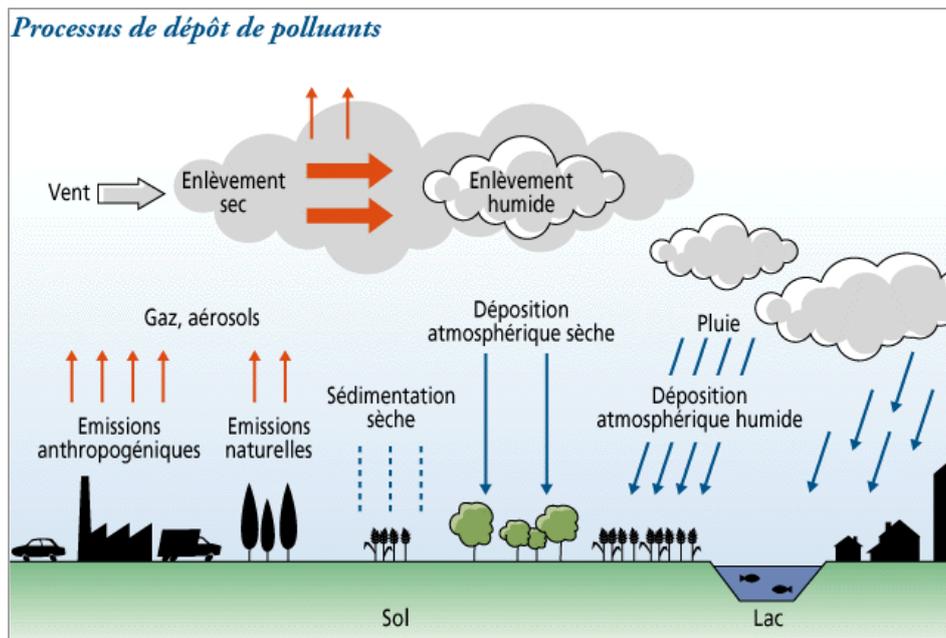


Figure I-3. Processus de dépôts des polluants (Martin et Maystre, 1988)

I.1.5. TOXICITE DES HAP

I.1.5.1. Propriétés toxicologiques

La toxicité des HAP est très variable : elle peut être faible, modérée ou élevée. Des effets toxiques de type hépatiques, hématologiques, immunologiques et neurologiques ont été identifiés chez l'animal et l'homme. Certains HAP sont également classés comme étant cancérogènes, mutagènes, génotoxiques, tératogènes et/ou reprotoxiques (Garuszka, 2000 ; Doornaert et Pichard, 2005 ; Belpomme *et al.*, 2007). L'ensemble de ces HAP sont intégrés aux listes des polluants prioritaires de l'Union Européenne, de l'Organisation Mondiale de la Santé et de l'USEPA (Tableau I-3). Le benzo(a)anthracène, le benzo(k)fluoranthène et le benzo(a)pyrène sont assimilés par les trois organismes à des substances cancérogènes. Le naphtalène, le chrysène, le dibenzo(a,h)anthracène et l'indéno(1,2,3-c,d)pyrène présenteraient également un risque cancérogène d'après certaines classifications. Ainsi, la plupart des HAP de masse molaire élevée peuvent être considérés comme étant possiblement cancérogènes. Le benzo(a)pyrène représenterait 40% du risque cancérogène total attribué aux HAP. Pour cette raison, ce composé a été retenu comme traceur du risque cancérogène pour l'ensemble de la famille des HAP (CIRC, 2010).

Tableau I-3. Classement des HAP en fonction de leur cancérrogénicité par différents organismes et facteurs d'équivalence toxique (FET) disponibles dans la littérature (Doornaert *et al.*, 2003 ; CIRC, 2010) – Exemples de FET recommandés par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)

HAP	Classement			Facteur d'Equivalence Toxique (FET)	
	UE	CIRC	USEPA	(Doornaert <i>et al.</i> , 2003)	AFSSA
NAP	nc	2B	C	0,001	0,001
ACE	nc	-	-	0,001	0,001
ACL	nc	-	D	0,001	0,001
FLR	nc	3	D	0,001	0,001
PHE	nc	3	D	0,0005 - 0,01	0,001
ANT	nc	3	D	0,0005 - 0,01	0,01
FTN	nc	3	D	0,001 - 0,06	0,01
PYR	nc	3	D	0,001 - 0,08	0,01
B(a)A	2	2A	B2	0,005 - 0,145	0,1
CHR	2	3	B2	0,001 - 0,089	0,01
B(b)F	nc	3	-	0,1	0,1
B(k)F	2	2B	B2	0,03 - 0,1	0,1
B(a)P	2	2A	B2	1	1
D(ah)A	2	-	B2	0,1	1
B(ghi)P	nc	3	D	0,01- 0,03	0,01
IND	nc	2B	B2	0,017 - 0,232	0,1

UE : Classification de l'Union Européenne (JOCE L110A du 04/05/1993)

1 : substances que l'on sait être cancérogènes pour l'homme. On dispose de suffisamment d'éléments pour établir l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition de l'homme à de telles substances et l'apparition d'un cancer.

2 : substances devant être assimilées à des substances cancérogènes pour l'homme. On dispose de suffisamment d'éléments pour justifier une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances peut provoquer un cancer. Cette présomption est généralement fondée sur des études appropriées à long terme sur l'animal ou sur d'autres informations appropriées.

3 : substances préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles ne permettent pas une évaluation satisfaisante. Il existe des informations issues d'études adéquates sur les animaux, mais elles sont insuffisantes pour classer la substance dans la deuxième catégorie.

nc : pas cancérogène

CIRC : Classification du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC/IARC/OMS)

1 : l'agent (ou le mélange) est cancérogène pour l'homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont cancérogènes pour l'homme.

2A : l'agent (ou le mélange) est probablement cancérogène pour l'homme. Il existe des indices limités de cancérrogénicité chez l'homme et des indices suffisants de cancérrogénicité pour l'animal de laboratoire. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont probablement cancérogènes pour l'homme.

2B : l'agent (ou le mélange) pourrait être cancérogène pour l'homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont possiblement cancérogènes pour l'homme.

3 : l'agent (ou le mélange) ne peut être classé pour sa cancérrogénicité pour l'homme.

4 : l'agent (ou le mélange) n'est probablement pas cancérogène pour l'homme.

USEPA : Classification de l'Agence américaine de Protection de l'Environnement

A : substance cancérogène pour l'homme

B1 : substance probablement cancérogène pour l'homme. Des données limitées chez l'homme sont disponibles.

B2 : substance probablement cancérogène pour l'homme. Il existe des preuves suffisantes chez l'animal et des preuves non adéquates ou pas de preuve chez l'homme.

C : cancérogène possible pour l'homme.

D : substance non classifiable quant à sa cancérrogénicité pour l'homme.

E : substance pour laquelle il existe des preuves de non cancérrogénicité pour l'homme.

I.1.5.2. Métabolisme

Le passage des hydrocarbures dans l'organisme humain s'effectue par inhalation, par ingestion mais également par transfert à travers la peau. Ils se concentrent essentiellement dans les reins et le foie mais ils se retrouvent également dans la rate et les ovaires où ils sont transformés en composés plus ou moins nocifs (Zmirou *et al.*, 2000).

La toxicité des HAP est liée au degré de planéité de la structure moléculaire, les structures planes étant plus stables, donc moins réactives et par conséquent moins toxiques (INSERM, 2001). Les molécules de HAP cancérigènes sont dissymétriques et possèdent généralement une région « baie » qui est une zone à forte densité électronique pouvant induire l'oxydation de la molécule. La [Figure I-4](#) illustre la différence de structure chimique entre le benzo(a)pyrène, un HAP de toxicité élevée connu depuis un certain temps pour sa cancérigénicité, et le pyrène, un composé modérément toxique et n'ayant pas d'effet cancérigène confirmé (Zmirou *et al.*, 2000 ; INSERM, 2001).

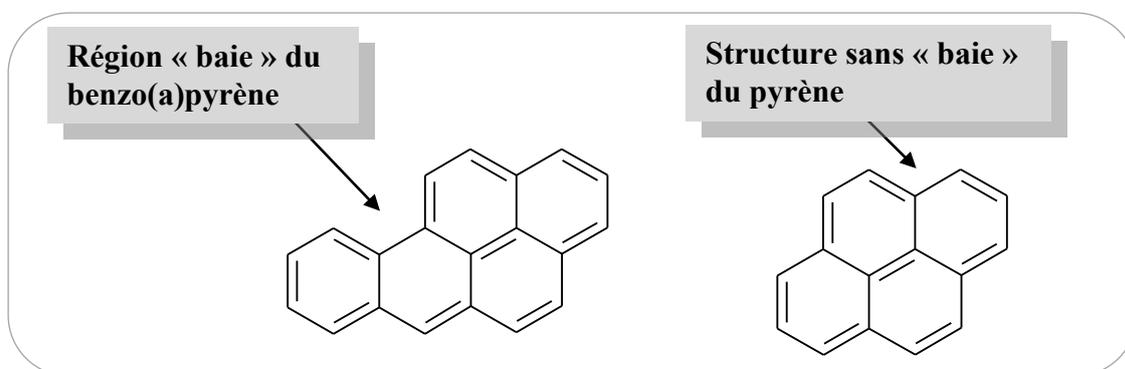


Figure I-4. Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérigène) et du pyrène (non listé comme cancérigène)

Ainsi, à cause de leur structure moléculaire, certains types de HAP vont être transformés dans l'organisme en composés extrêmement toxiques, appelés époxydes. Ces derniers réagissent très facilement avec l'ADN, entraînant des mutations génétiques (mutagénèse) ayant pour conséquence l'apparition de cancers (cancérigénèse), de maladies génétiques héréditaires (génétoxicité) ou d'affecter la reproduction et le développement embryonnaire/fœtal (reprotoxicité). Le benzo(a)pyrène est particulièrement toxique puisque ses effets cancérigènes sont prouvés pour l'homme et qu'il est considéré aussi comme mutagène, tératogène (effet qui provoque le développement de masses cellulaires anormales au cours de la croissance fœtale, provoquant des défauts physiques sur le fœtus) et toxique pour le développement (Dabestani et Ivanov, 1999).

I.1.5.3. Impact sanitaire

Des études épidémiologiques ont montré que certains HAP étaient responsables de cancers respiratoires (broncho-pulmonaires), de la vessie, de la peau, des voies aérodigestives supérieures (cavités orales, nasales, différents pharynx, larynx), du système lymphatique, du système hématopoïétique (producteur de sang, principalement la moelle osseuse) et des voies digestives. Les HAP classés comme cancérigènes probables ou possibles peuvent en particulier provoquer l'apparition de cancers du poumon en cas d'inhalation, surtout lorsqu'il s'agit de HAP particuliers. Mais il est très difficile d'attribuer les cancers à un certain HAP, voire aux HAP en général, car les personnes atteintes sont soumises le plus souvent à un mélange de polluants (cocancérigène) (Zmirou *et al.*, 2000 ; INSERM, 2001).

Afin d'évaluer la relation dose-réponse pour les effets cancérigènes de mélanges de HAP, des facteurs d'équivalence toxique (FET) sont utilisés (Doornaert et Pichard, 2005). Une telle approche autorise l'addition des risques cancérigènes liés à une co-exposition et permet de quantifier le pouvoir cancérigène d'un mélange de substances en fonction du pouvoir cancérigène d'une substance dite de référence, appartenant à la même famille chimique. Le benzo(a)pyrène sert généralement de référence pour les HAP ; un FET de 1 lui est arbitrairement accordé. L'excès de risque individuel (ERI) du mélange est apprécié en calculant une concentration équivalente en benzo(a)pyrène dans le milieu d'exposition. La dose-réponse induite par un mélange de 2 HAPs (HAP1, HAP2) peut être évaluée par le calcul suivant :

$$ERI_{\text{mélange HAP}} = (FET_{\text{HAP1}} \times [\text{HAP}_1] + FET_{\text{HAP2}} \times [\text{HAP}_2]) \times ERU_{\text{B(a)P}}$$

Eq. I-1

Avec : *ERI* : Excès de Risque Individuel

ERU : Excès de Risque Unitaire (par inhalation/voie orale)

FET_x : Facteur d'Equivalence Toxique de chaque HAP présent dans le milieu d'exposition

[HAP_x] : Concentration de chaque HAP présent dans le milieu d'exposition

Il n'est pas aisé de comparer les études menées car différents FET ont été adoptés (Tableau I-3). De plus, le principe des FET est fondé sur les hypothèses selon lesquelles l'organe cible et l'activité toxique sont identiques pour chaque molécule apparentée et qu'il n'y a pas d'interaction toxicocinétique ni toxicodynamique. On considère donc qu'il y a addition des risques. Cependant, cette hypothèse ne tient pas compte des interactions possibles entre les HAP pouvant induire des phénomènes de synergie et d'antagonisme.

I.1.6. LES HAP DANS L'ATMOSPHERE

I.1.6.1. Distribution dans le compartiment atmosphérique

I.1.6.1.1. Partition entre les phases gazeuse et particulaire

Les HAP sont émis dans l'atmosphère sous forme de gaz puis subissent une partition entre phase gazeuse et particulaire. Leur présence dans la phase particulaire atmosphérique peut résulter de deux processus :

- La condensation, qui a lieu lorsque la pression de vapeur saturante est dépassée, à des concentrations très élevées, donc généralement lors du refroidissement consécutif à l'émission. Les HAP vont alors se condenser à la surface des noyaux carbonés et des cendres formés (Van Vaeck *et al.*, 1984 ; Marr *et al.*, 2006).
- La sorption (adsorption + absorption), c'est-à-dire l'association de molécules gazeuses avec tout corps à l'état condensé (solide ou liquide), qui a lieu à des niveaux de concentrations largement en deçà des pressions de vapeur saturante. Les forces mises en jeu sont de faible intensité et facilement réversibles. Ce mécanisme est donc prépondérant dans l'atmosphère (Pankow, 1994 ; Goss et Eisenreich, 1997).

Ainsi après émission dans l'atmosphère, les HAP les plus volatils comme le naphthalène restent en phase gazeuse alors que les moins volatils sont majoritairement adsorbés sur les particules atmosphériques solides ou directement à la surface des plantes. Les HAP de volatilité intermédiaire subissent une partition entre les phases gazeuse et particulaire. Ce partage des HAP entre les phases gazeuse et particulaire atmosphériques a été étudié dans la ville de Chicago (Odabasi *et al.*, 1999) (Figure I-5). Les HAP de trois cycles (acénaphthène, fluorène, phénanthrène et anthracène) étaient associés majoritairement à la phase gazeuse alors que les HAP contenant six cycles (indéno(1,2-c,d)pyrène et benzo(g,h,i)perylène) étaient essentiellement associés à la phase particulaire. Des études en chambre de simulation ont montré que le partage des HAP entre la phase gazeuse et la phase particulaire dépend non seulement de la pression de vapeur saturante des molécules, mais également de la température, de l'humidité relative et de la concentration en particules dans l'air (Calvert *et al.*, 2002). Une étude *in situ* a confirmé l'influence de la température et des concentrations en matières en suspension. Elle a également permis de montrer que la partition dépend des caractéristiques physico-chimiques des particules telles que leur taille, leur surface ou leur composition (teneur en carbone) (Tasdemir et Esen, 2007).

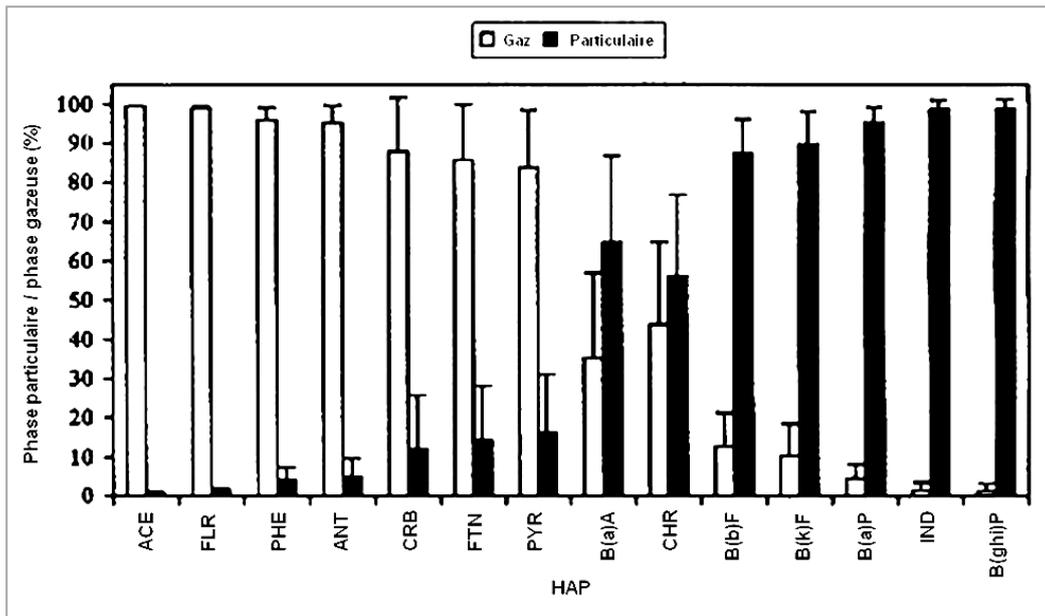


Figure I-5. Distribution relative des HAP entre la phase gazeuse et la phase particulaire dans l'air de Chicago (D'après Odabasi *et al.*, 1999 ; CRB : carbazole ; Les barres d'erreur représentent l'écart-type)

1.1.6.1.2. Distribution granulométrique des HAP particulaires

La connaissance de la distribution granulométrique des HAP particulaires est importante car elle détermine si les polluants sont susceptibles d'atteindre plus ou moins profondément les voies respiratoires. De nombreuses études ont montré qu'une majorité des HAP particulaires (70-80%) sont associés aux aérosols de diamètre inférieur à 1 μm , c'est-à-dire la fraction inhalable (Van Vaeck *et al.*, 1984 ; Baek *et al.*, 1991b ; Aceves et Grimalt, 1993 ; Allen *et al.*, 1996 ; Kiss *et al.*, 1998). D'autre part, on retrouve la majorité des HAP légers sur les particules moyennes et grosses et les HAP les plus lourds sur les particules fines (Allen *et al.*, 1996 ; Kiss *et al.*, 1998). Les composés les plus lourds sont donc potentiellement plus dangereux pour l'organisme car ils pénètrent plus profondément dans les voies respiratoires.

I.1.6.2. Réactivité dans l'atmosphère

Les HAP peuvent être oxydés au cours de leur transport dans l'atmosphère par les radicaux hydroxyles, l'ozone, les peroxydes, les composés soufrés et les composés nitrés, mais également dégradés par des réactions de photo-oxydation (Marr *et al.*, 2006). Les produits majoritaires sont les nitroHAP, les acides dicarboxyliques polycycliques et les dialdéhydes polycycliques (Jang et McDow, 1997). Certains de ces dérivés ont été identifiés comme agents mutagènes directs (Durant *et al.*, 1996). En phase gazeuse, les HAP réagissent essentiellement avec les radicaux OH[•] et NO₃[•] (Tableau I-4) pour former des nitroHAP mutagènes, tels que les nitrodibenzopyranones (Atkinson et Arey, 1994). Les HAP moins volatils présents en phase particulaire vont davantage être dégradés par des réactions d'ozonation, de nitration et par photo-oxydation (Tableau I-5). Leur réactivité est fonction des caractéristiques physico-chimiques des particules (nature du substrat, densité de la phase organique, teneur en eau), de la concentration en HAP dans l'air, de l'humidité relative et de la température (McDow *et al.*, 1994 ; Esteve *et al.*, 2006). La photodégradation des HAP dépend pour beaucoup de la nature des substrats sur lesquels les composés sont adsorbés (Behymer et Hites, 1985) (Tableau I-6).

Tableau I-4. Estimation des temps de demi-vie des HAP gazeux à partir des cinétiques de dégradation déterminées expérimentalement (Zielinska, 2005)

HAP	OH [•] (jour) ^a	NO ₃ [•] (nuît) ^b	O ₃ (jour et nuît) ^c
ACE	1,5 h	1,2 h	> 30 jours
FLR	26,4 h	-	-
PHE	11,2 h	4,6 h	41 jours
ANT	8,6 h	-	-
FTN	2,9 h	1 an	-
PYR	2,9 h	120 jours	-

^a Pour une concentration moyenne (12 heures de jour) en OH[•] de $1,6 \cdot 10^6$ molécules.cm⁻³ ; ^b Pour une concentration moyenne (12 heures de nuit) en NO₃[•] de $5 \cdot 10^8$ molécules.cm⁻³ en NO₃[•] de $5 \cdot 10^8$ molécules.cm⁻³ et en NO₂[•] de $2,4 \cdot 10^{11}$ molécules.cm⁻³ ; ^c Pour une concentration moyenne (24 heures) en O₃ de $7 \cdot 10^{11}$ molécules.cm⁻³.

Tableau I-5. Facteurs influençant la dégradation du B(a)P associé à l'aérosol de combustion de bois (Kamens *et al.*, 1990)

	C (ppm)	T (°C)	Temps de demi-vie (h)
hν		20	0,49
O ₃	0,2	6	4,5
NO ₂	0,2	24	80
N ₂ O ₅	0,008	16	192
HNO ₃	0,025	24	1070

Tableau I-6. Temps de demi-vie des HAP dégradés par photolyse sur différents supports (Behymer et Hites, 1985)

HAP	Gel de silice	Alumine	Cendre	C élémentaire
ACE	2,0	2,2	44	-
FLR	110	62	37	> 1000
PHE	150	45	49	> 1000
ANT	2,9	0,5	48	310
FTN	74	23	44	> 1000
PYR	21	31	46	> 1000
B(a)A	4,0	2,0	38	650
CHR	100	78	38	690
B(a)P	4,7	1,4	31	570
B(ghi)P	7	22	29	> 1000

I.1.6.3. Concentrations atmosphériques

Le terme « immission » caractérise la concentration des polluants dans l'air ambiant. Il correspond à la pollution atmosphérique après concentration des polluants primaires (venus de l'émission) et des polluants secondaires créés après transformation des polluants primaires.

Les concentrations atmosphériques en HAP particulaires sont mesurées depuis les années 1970 dans les grandes agglomérations du monde (Menichini, 1992). Ces études sont menées sur la phase particulaire totale (*Total Suspended Particles*, TSP) ou sur une fraction particulaire. En général, les particules en suspension de diamètre inférieur à 10 µm nommées PM10 sont analysées. Plus récemment, avec les avancées technologiques en matière de séparation des fractions particulaires et les études toxicologiques ayant montré l'effet néfaste des fractions particulaires les plus fines (PM2,5 et PM1), des études spécifiques à ces fractions se sont mises en place.

Depuis les années 1990, certaines études de HAP atmosphériques s'intéressent également à la phase gazeuse afin de connaître les teneurs totales de HAP dans le compartiment atmosphérique (gaz + particules). D'autre part, des études de pollution de fond ont émergé, grâce à des mesures réalisées sur des sites reculés, situés dans des régions rurales ou montagneuses. Cela permet de mesurer la pollution transfrontalière longue distance et d'avoir des sites de référence pour évaluer comparativement les niveaux de contamination des zones urbaines, industrielles et à proximité d'axes routiers.

Le [Tableau I-7](#) présente les principaux résultats obtenus ces 20 dernières années dans le monde (Amérique du Nord, Amérique du Sud, Asie, Australie et Europe). La comparaison des valeurs est délicate car il y a des différences géographiques liées au climat et au niveau de développement des pays, des différences temporelles liées à la variabilité historique et saisonnière des teneurs atmosphériques en HAP, ainsi que des différences liées à la procédure d'échantillonnage et à la technique analytique employées. D'autre part, les durées d'échantillonnage s'étendent d'une semaine à plusieurs années et le nombre de HAP analysés varie d'une étude à l'autre. L'objectif est donc seulement de dégager des ordres de grandeur des teneurs atmosphériques en HAP.

Les concentrations totales en HAP atmosphériques s'étendent de quelques dizaines de pg.m^{-3} dans les régions les plus reculées (sommets montagneux généralement) à plusieurs centaines de ng.m^{-3} dans les grandes agglomérations de plus d'un million d'habitants. En effet, des teneurs minimales de $0,06 \text{ ng.m}^{-3}$ (concentration atmosphérique totale de 15 HAP) ont été enregistrées dans les années 1990 dans une zone européenne reculée (Hailwood *et al.*, 2001) et des teneurs maximales de 646 ng.m^{-3} ont été mesurées en 1991 à Santiago du Chili (teneur dans les PM10 de 12 HAP) (Didyk *et al.*, 2000).

En général, les zones rurales présentent des teneurs atmosphériques en HAP plus faibles que les zones urbaines situées dans la même région. En effet, des études menées en Belgique (Ravindra *et al.*, 2006) et en Allemagne (Dörr *et al.*, 1996) ont révélé des teneurs totales atmosphériques de 2 à 10 fois plus élevées dans les zones urbaines et péri-urbaines. Les vallées montagneuses présentent une exception, car elles se situent au niveau de la couche atmosphérique d'inversion thermique qui concentre la pollution atmosphérique locale (combustion de biomasse, trafic...), ce qui engendre des teneurs atmosphériques en HAP proches de celles des zones urbaines (Marchand, 2003).

En plus de la source d'émission, la réactivité chimique et photo-chimique des HAP ainsi que les facteurs climatiques déterminent les teneurs en HAP dans l'atmosphère. Ainsi, des études ont mis en évidence des variations saisonnières des teneurs atmosphériques en HAP. On remarque le plus souvent que les teneurs sont plus élevées en hiver (Menichini *et al.*, 1999 ; Mantis *et al.*, 2005). Ce phénomène peut s'expliquer par trois processus :

- l'augmentation des émissions dues au chauffage domestique,
- les processus de dégradation photochimique des HAP, moins importants l'hiver que l'été,

- une plus grande stabilité de la colonne atmosphérique en hiver limitant ainsi la dispersion des polluants.

De plus, en hiver, une température plus faible induit un déplacement du partage entre phases gazeuse/particulaire en faveur de la phase particulaire (Dvorská *et al.*, 2011).

Les rapports de diagnostic sont utilisés pour identifier les sources d'émission de HAP. Ces derniers sont calculés avec les concentrations en HAP de mêmes masses molaires, supposés posséder des propriétés physico-chimiques similaires. Ils ont déjà été étudiés dans différents compartiments environnementaux : l'air (phases gazeuse et particulaire), l'eau, les sédiments, le sol et des bioindicateurs (feuilles, aiguilles de conifères et moules). Ils permettent de différencier les sources pétrogéniques et pyrogéniques, mais également de différencier les combustions de matières fossiles des combustions de charbon et de biomasse. En effet, les procédés qui produisent des HAP à basse température, tels que la combustion du bois, émettent des composés à faible poids moléculaire, tandis que les procédés à haute température, tels que la combustion de carburants fossiles dans les moteurs, émettent des HAP à poids moléculaire plus élevé. Des études ont montré toutefois que ces rapports peuvent varier lors de transferts de phase et lors de phénomènes de dégradation dans l'atmosphère. Les rapports les plus conservatifs sont $FTN/(FTN + PYR)$ et $IND/(IND + B(ghi)P)$, alors que les rapports $ANT/(ANT + PHE)$ et $B(a)A/(B(a)A + CHR)$ sont particulièrement sensibles à la photodégradation (Tobiszewski et Namiesnik, 2012).

Il est important de disposer des données d'émission et d'immission lorsqu'une étude de la qualité de l'air est réalisée. Toutefois, pour mesurer l'impact des polluants sur les écosystèmes, il est nécessaire de déterminer les flux de ces derniers entre les compartiments atmosphérique et terrestre. Pour cela, les retombées atmosphériques sont mesurées.

Tableau I-7. Concentrations en HAP dans l'air ambiant (ng.m⁻³)

Type de site	Concentrations mesurées	Période d'étude	Lieu d'étude	N	Concentration (ng.m ⁻³)	Référence	
URBAIN ^a	Totales ^b	02/1988	Columbia, Portland, Denver et Chicago (USA)	13	43 – 195	(Cotham et Bidleman, 1995)	
		1991-1995	Londres (Espagne)	10	20 – 150	(Coleman <i>et al.</i> , 1997)	
		01/1992 – 12/1992	Ausburg (Allemagne)	15	29	(Dörr <i>et al.</i> , 1996)	
		11/1999 – 10/2000	Paris (France)	8	3-15	(Ollivon <i>et al.</i> , 2002)	
		07/2000	Athènes (Grèce)	14	31	(Mandalakis <i>et al.</i> , 2002)	
		2001-2003	Mechelen, Antwerpen (Belgique)	16 *	41 – 114	(Ravindra <i>et al.</i> , 2006)	
		03/2002 – 11/2002	Prato (Italie)	15	32,9 - 85,5	(Cincinelli <i>et al.</i> , 2007)	
		04/2002- 04/2003	Le Havre (France)	14	2,87 – 50,3	(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2006)	
		04/2004 – 7/2004	Zaragoza (Espagne)	19	3,8 - 54	(Callén <i>et al.</i> , 2008)	
		08/2006 – 05/2007	Konya (Turquie)	16 *	206	(Ozcan et Aydin, 2009)	
		06/2007 – 06/2008	Singapour	16 *	8,4 – 329,9	(He et Balasubramanian, 2010)	
		Particulaires (TSP)	1989	Barcelone (Espagne)	12	10 - 310	(Aceves et Grimalt, 1993)
			12/1992 – 04/1994	Jakarta (Indonésie)	20	82,9 – 376	(Panther <i>et al.</i> , 1999)
				Bangkok (Thaïlande)		70,5 – 334	
Séoul (Corée du Nord)				62,4 – 338			
Hong Kong (Chine)				25,,5 - 144			
Melbourne (Australie)				24,1 – 68,9			
06/1995 – 11/1996	Londres (Royaume-Uni)		11	4 - 7	(Kendall <i>et al.</i> , 2001)		
1996-1997	6 villes de Grèce		13	10,33- 35,59	(Papageorgoulou <i>et al.</i> , 1999)		
01/1996 – 12/1997	Errenteria (Espagne)		13	0,31 – 34,57	(Barrero et Cantón, 2007)		
1996 - 1998	Munich (Allemagne)		7	0,15 – 9,45	(Schnelle-Kreis <i>et al.</i> , 2001)		
06/2002 – 07/2002	Brisbane (Australie)	16 *	0,40 – 19,73	(Lim <i>et al.</i> , 2005)			
Particulaires (PM10)	1991	Santiago (Chili)	12	646	(Didyk <i>et al.</i> , 2000)		
	1996 - 1997	Naples (Italie)	13	2 – 130	(Caricchia <i>et al.</i> , 1999)		
	04/1998	Paris (France)	12	10 - 45	(Leoz-Garziandia, 1998)		
	2009	Pampelune (Espagne)	15	0,9 – 1,2	(Aldabe <i>et al.</i>)		

Type de site	Concentrations mesurées	Période d'étude	Lieu d'étude	N	Concentration (ng.m ⁻³)	Référence	
URBAIN	Particulaires (PM10)	1998	Milan et Rome (Italie)	13	19 – 58	(Cecinato <i>et al.</i> , 1998)	
		02/1999	Lyon (France)	11	10 - 60	(Besombes <i>et al.</i> , 2001)	
		05/2000 – 01/2001	Prato (Italie)	13	0,86 – 24,2	(Cincinelli <i>et al.</i> , 2003)	
		11/2000 – 03/2001	Hong-Kong	16 *	2 - 269	(Guo <i>et al.</i> , 2003)	
		08/2008 – 12/2008	São Paulo (Brésil) Bogotá (Colombie) Buenos Aires (Argentine)	13	9,0 – 43,3	(Vasconcellos <i>et al.</i> , 2011)	
	Particulaires (PM2,5)	11/2000 – 03/2001	Hong-Kong (Chine)	16 *	0,5 - 122	(Guo <i>et al.</i> , 2003)	
		2004	Atlanta (USA)	28	0,38 – 6,85	(Li <i>et al.</i> , 2009b)	
	RURAL ^c	Totales	01/1992 – 12/1992	Région rurale d'Allemagne	15	15,8	(Dörr <i>et al.</i> , 1996)
			1996 - 1998	Sommet de Norvège (728 m) Sommet d'Autriche (2413 m) Sommet d'Espagne (2240 m)	25	0,3 – 1, 2 0,2 – 0,7 0,1 – 0,2	(Fernandez <i>et al.</i> , 2002)
			2000 - 2001	Vallées alpines (France)	11	0,5 - 155	(Marchand, 2003)
2001 - 2003			Région rurale de Belgique	16 *	16,5	(Ravindra <i>et al.</i> , 2006)	
Particulaires (TSP)		11/1993 – 05/1994	Région rurale de Crète	11	0,2 – 2	(Gogou <i>et al.</i> , 1996)	
Particulaires (PM10)		09/2002	Gers (France)	12	0,1 – 0,6	(Leoz-Garziandia, 2002)	
			Bertiz (Navarre, Espagne)	15	0,6	(Aldabe <i>et al.</i>)	

N : Nombre de HAP mesurés ; * Les 16 HAP listés comme prioritaires par l'USEPA ; ^a Milieu de type urbain : centre urbains, zones péri-urbaines, zones industrielles et zones à proximité d'axes routiers majeurs ; ^b Concentrations en HAP dans les phases particulaire et gazeuse ; ^c Milieu de type rural : zones éloignées des villes, de type agricoles, forestières ou montagneuses.

I.1.7. LES RETOMBÉES ATMOSPHÉRIQUES DE HAP

I.1.7.1. Définitions

Le terme « retombées » ou « dépôts » désigne d'une manière générale les flux de substances (quantité par unité de surface) allant de l'atmosphère vers le sol ou l'eau. Il s'agit d'un phénomène physique d'élimination des composés atmosphériques. Deux mécanismes contribuent à ce phénomène : le dépôt sec et le dépôt humide (Finlayson-Pitts et Pitts Jr, 2000a).

Le dépôt sec (*dry deposition*) provient des processus de sédimentation, d'impacts par inertie, d'interception et de diffusion. Les trois premiers mécanismes concernent seulement les particules alors que la diffusion concerne les polluants gazeux et particulaires. La sédimentation correspond à l'effet de la gravité terrestre sur toutes les particules atmosphériques. Cependant, seules les particules grossières (>10 µm) ont une vitesse de sédimentation importante (force de gravité > force de friction). La diffusion est réalisée de l'atmosphère vers la surface par diffusion turbulente, puis à la surface par diffusion moléculaire pour les gaz, par diffusion brownienne pour les particules fines et par impact par inertie pour les autres particules. On considère que la particule se dépose une fois en contact avec la surface. La molécule de gaz se dépose par adsorption, absorption ou réaction avec la surface. Les dépôts secs sont fonction de la turbulence atmosphérique, des caractéristiques de la surface et des caractéristiques des polluants (solubilité et réactivité pour les gaz, taille, masse volumique et forme pour les particules) (Fowler *et al.*, 2009).

Le dépôt humide (*wet deposition*) correspond à un lavage de la colonne atmosphérique verticale par les précipitations (pluie, neige, grêle). Il comprend deux processus :

- le *rain-out* (ou *in-cloud scavenging*) : les gaz solubles et/ou particules sont absorbés par les gouttelettes d'eau au moment de leur formation dans les nuages,
- le *wash-out* (ou *below-cloud scavenging*) : les gaz solubles et/ou particules sont lessivés par les gouttelettes d'eau lors de leur chute (Sicard, 2006).

Le brouillard, la rosée et le givre induisent également des dépôts humides mais ces derniers sont qualifiés d'occultes car ils ne proviennent pas des précipitations. En effet, le brouillard étant un nuage présent au sol, et la rosée et le givre étant la condensation sur le sol de l'excès de vapeur d'eau de l'atmosphère lorsque la température descend sous le point de rosée, les gouttelettes d'eau se forment et se déposent sur le sol sans tomber (Clarke *et al.*, 2010).

Les dépôts totaux englobent les dépôts secs et les dépôts humides. La mesure des teneurs en HAP dans les dépôts totaux permet de quantifier le flux total de polluants transféré de l'atmosphère aux surfaces (sol, végétation, eau, bâtiments, ...) sur une zone donnée durant une période donnée. On parle de dépôts hors couvert (*bulk deposition*) ou de pluvolessivats (*throughfall deposition*) selon si l'on se situe ou non sous la canopée forestière. Une partie des précipitations est interceptée par la canopée, ce qui forme les ruissellements de troncs (*stemflow deposition*). On considère généralement que les dépôts hors couvert sont égaux à la somme des pluvolessivats et des ruissellements de troncs (Thimonier, 1998 ; Clarke *et al.*, 2010).

I.1.7.2. Les études de retombées atmosphériques

A l'heure actuelle, on recense moins d'études de dépôts totaux que d'études de HAP dans l'air ambiant et la majorité sont réalisées en Europe (Tableau I-8). Les concentrations totales de HAP dans les dépôts totaux s'étalent du ng.L^{-1} au $\mu\text{g.L}^{-1}$. Les zones rurales présentent des concentrations plus faibles que les zones urbaines. Par exemple, Garban *et al.* (2002) ont mesuré en 2000 des concentrations moyennes dix fois plus élevées à Paris (221 ng.L^{-1} en moyenne) qu'en milieu rural (25 ng.L^{-1} en moyenne). Cependant, les concentrations dans les dépôts totaux sont fonction de la pluviométrie, donc des conditions climatiques du site d'étude et de la saison à laquelle les dépôts sont prélevés. Ainsi, pour déterminer les retombées atmosphériques de HAP, les flux journaliers de polluants par m^2 de sol sont calculés.

Les flux journaliers les plus faibles ($17 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) ont été mesurés dans les Alpes entre 1996 et 1998 (Fernández *et al.*, 2003) et les plus élevés ($19,5 \mu\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) correspondent à une étude menée dans une zone industrielle en Turquie (Esen *et al.*, 2008). Les centres urbains présentent des flux intermédiaires entre ces deux extrêmes. Par exemple, Ollivon *et al.* (2002) ont mesuré durant l'année 2000 un flux moyen pour la ville de Paris de $641 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$. Les zones rurales quant à elles présentent des flux plus faibles que les zones urbaines. En effet, Garban *et al.* (2002) ont mesuré un flux moyen pour des zones rurales de l'ouest et l'est de la France de $50 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$. Selon la saison, le flux journalier était de 2,5 à 6 fois inférieur à celui mesuré à Paris.

Tableau I-8. Concentrations et flux associés aux dépôts totaux atmosphériques

Type de site	Période d'étude	Site d'étude	N	Concentration (ng. L ⁻¹)	Flux (ng.m ⁻² .d ⁻¹)	Référence
URBAIN	01/1998 - 04/1999	Gdańsk, Sopot, Gdynia (Pologne)	16 *	79 - 891		(Grynkiewicz <i>et al.</i> , 2002)
	07/1998 - 07/1999	Venise (Italie)	NC		77 - 3352	(Rossini <i>et al.</i> , 2005)
	10 - 12/1999 03 - 10/2000	Paris et sa banlieue (France)	14	16 - 323	42 - 794	(Garban <i>et al.</i> , 2002)
	11/1999 - 10/2000	Paris centre (France)	14	51 - 995	171 - 1918	(Ollivon <i>et al.</i> , 2002)
	03/2001- 03/2002	Evreux (France)	14	1,1 - 222		(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2003)
	03/2001 - 03/2002	Zone industrielle (Port du Havre)	14	6,0 - 1012		(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2007)
		Zone urbaine (Rouen)	14	1,1 - 1659		
	04/2001 - 03/2002	Guangzhou (Chine)	12		441 - 3460	(Li <i>et al.</i> , 2009a)
	04/2002 - 04/2003	Le Havre (France)	14	56,7 - 537	69 - 2890	(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2006)
		06 - 08/2003 12/2003 - 02/2004	Zone industrielle de Volta Redonda (Brésil)	16 *		513 - 2415
	07/2004 - 05/2005	Zone industrielle de Bursa (Turquie)	15		260 - 19500	(Esen <i>et al.</i> , 2008)
RURAL	09/1996 - 05/1997	Imathia (Grèce)	14	225 - 575	210 - 1100	(Manoli <i>et al.</i> , 2000)
	03/1997 - 10/1998	Pyrénées, France (2240 m)	25		27 - 76	(Fernández <i>et al.</i> , 2003)
	10/1996 - 10/1998	Alpes, France (2417 m)			17 - 59	
	12/1997 - 08/1998	Montagnes de Norvège (720 m)			32 - 61	
	07/1998 - 07/1999	A proximité de Venise (Italie)	NC		18 - 659	(Rossini <i>et al.</i> , 2005)
	10 - 12/1999 03 - 10/2000	Zones rurales de l'Ouest et l'Est de la France	14	1,5 - 130	50 - 291	(Garban <i>et al.</i> , 2002)
	06 - 08/2003 12/2003 - 02/2004	Parc Naturel d'Itatiaia (Brésil)	16 *		131 - 868	(de Souza Pereira <i>et al.</i> , 2007)

N : Nombre de HAP mesurés ; * Les 16 HAP listés comme prioritaires par l'USEPA ; NC : Non communiqué.

Le programme EMEP (*European Monitoring and Evaluation Programme*) a estimé que les dépôts atmosphériques de benzo(a)pyrène en France Métropolitaine se sont élevés à 8450 kg en 2001 ; l'origine est associée à 77% à des émissions françaises (Gusev *et al.*, 2011). Étant donné que la superficie de la France Métropolitaine est d'environ 552 000 km² (INSEE, 2008), le flux annuel moyen de B(a)P en 2001 était de 15,3 µg.m⁻², soit 42 ng.m⁻².d⁻¹.

I.1.8. CADRE RÉGLEMENTAIRE

Au niveau international, le protocole d'Aarhus signé en juin 1998 dans le cadre de la Convention de Genève sur la Pollution Transfrontalière Longue Distance, sous l'égide de la Commission Économique pour l'Europe de l'Organisation des Nations Unies (UNECE), vise à réduire les émissions de HAP dans l'environnement, produites non intentionnellement par des activités humaines (UNECE, 1998). Le protocole a été ratifié par la France le 25 juillet 2003 et il est en vigueur depuis le 23 octobre 2003. La convention de Stockholm signée en mai 2001 dans le cadre du Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) maintient les objectifs du protocole d'Aarhus concernant les HAP.

Au niveau communautaire, seul le benzo(a)pyrène est réglementé par la Directive 2004/107/EC (UE, 2004) qui fixe une valeur cible pour le benzo(a)pyrène à 1 ng.m⁻³ dans l'air ambiant en moyenne annuelle (mesure sur les PM10). La Directive impose également la surveillance dans l'air ambiant d'autres HAP listés comme potentiellement cancérigènes sans toutefois fixer de valeur cible : benzo(a)anthracène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(j)fluoranthène, indeno(1,2,3-c,d)anthracène et dibenzo(a,h)anthracène. Cette surveillance est obligatoire dans toutes les zones où la moyenne annuelle pour le B(a)P (dans les PM10) dépasse 0,4 ng.m⁻³. Enfin, les 7 composés surveillés dans l'air ambiant doivent également être mesurés dans les dépôts totaux, au niveau de points de prélèvement de fond situés tous les 100 000 km² (soit environ 5 sites en France). La Directive a été mise en vigueur en 2007. La valeur cible pour le benzo(a)pyrène est applicable au 31 décembre 2012.

I.2. Les mousses, bioindicateurs des HAP atmosphériques

I.2.1. PRÉSENTATION DES MOUSSES

I.2.1.1. Les bryophytes au sein du règne végétal

De *bryo-* (issu du grec ancien βρύον, *bruon* « mousse ») et *-phyte* (issu du grec ancien φυτόν, *phyton* « végétal »), les bryophytes ont fait partie des premiers végétaux terrestres (ou embryophytes) ayant divergé d'algues vertes, les charophytes, il y a environ 500 millions d'années (Figure I-6). Dans la classification classique, le terme bryophyte *lato sensu* englobe les trois embranchements d'embryophytes suivants :

- hépatophytes (marchantiophytes ou hépatiques),
- anthocérophytes (anthocérotes),
- muscinées (mousses ou bryophytes *stricto sensu*).

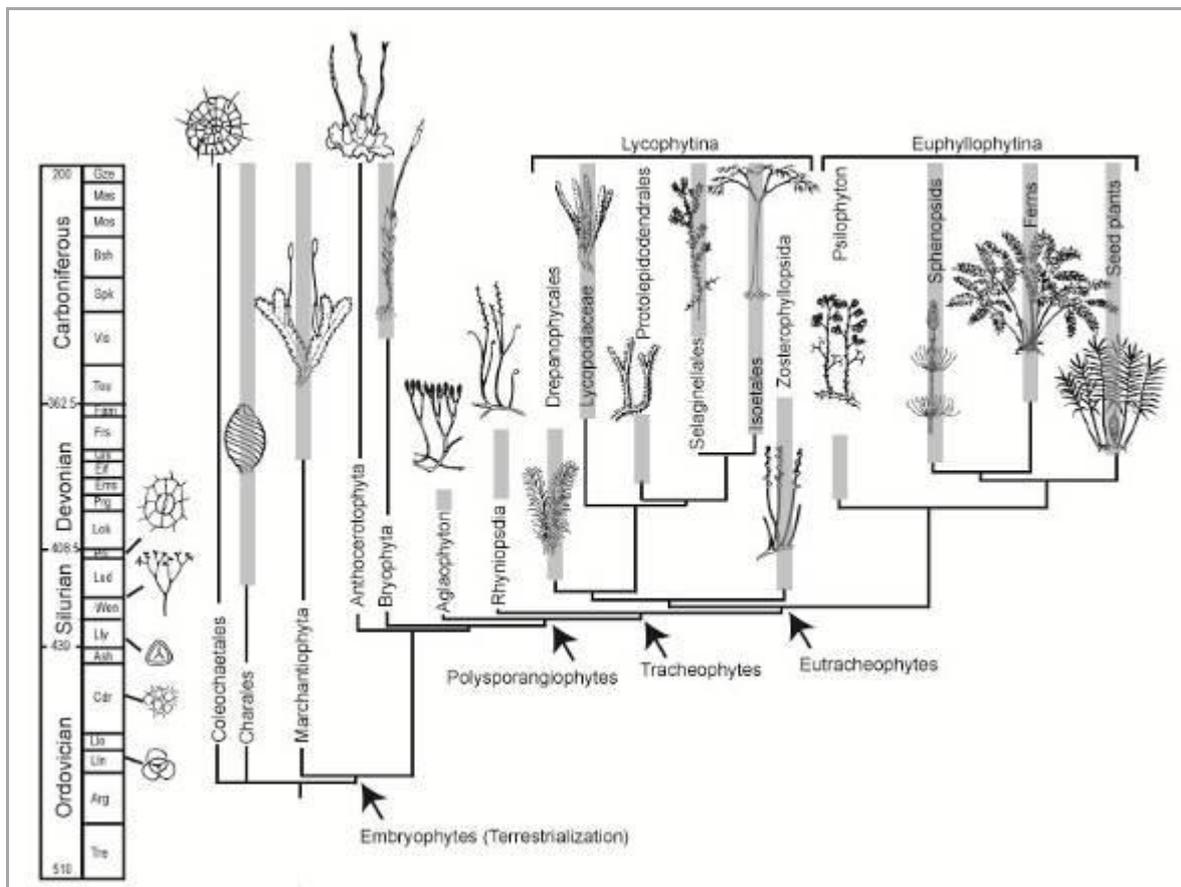


Figure I-6. Relations phylogénétiques entre les lignées majeures de plantes terrestres éteintes et existantes basées sur leurs caractéristiques morphologiques (Vanderpoorten et Goffinet, 2009)

Les bryophytes ne forment pas un groupe monophylétique (aucun ancêtre commun aux 3 classes) mais toutes les espèces possèdent des caractéristiques communes en ce qui concerne leur cycle de vie (Figure I-7). La génération haploïde productrice de gamètes, appelée gamétophyte, coexiste avec la génération diploïde productrice de spores (génomme du gamétophyte dupliqué), appelé sporophyte. On parle de cycle haplodiplobiontique. Les bryophytes se distinguent donc des algues, ayant un cycle à dominance haploïde, et des plantes vasculaires, ayant un cycle à dominance diploïde. La partie végétative, le gamétophyte, possède une activité photosynthétique, et est par conséquent pérenne et libre. Le sporophyte a une durée de vie limitée, reste attaché physiquement au gamétophyte et son développement dépend physiologiquement de ce dernier (on parle de matrotrophie). La reproduction sexuée a lieu grâce à l'apparition d'organes sexuels au niveau du gamétophyte : il s'agit de gamétanges femelles et mâles, les archégones et les anthéridies, qui produisent respectivement des oosphères et des spermatozoïdes (ou anthérozoïdes). La présence d'eau est nécessaire à la fertilisation car elle permet au spermatozoïde flagellé de rejoindre l'oosphère. De nombreuses espèces de bryophytes ont également la capacité de se reproduire de façon asexuée par fragmentation du gamétophyte.

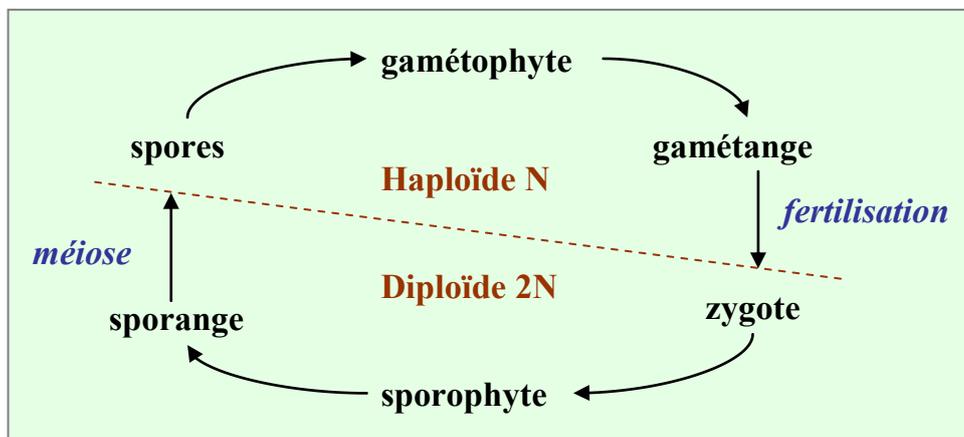


Figure I-7. Cycle de vie des bryophytes (D'après Vanderpoorten et Goffinet, 2009)

Par opposition, on retrouve les plantes vasculaires (aussi appelées trachéophytes ou polysporangiophytes), dont les lignées principales sont les ptéridophytes, *plantes sans graines* à reproduction aquatique comme les fougères, et les spermatophytes, *plantes à graines* regroupant les gymnospermes (majoritairement les conifères) et les angiospermes (plantes à fleurs). L'ensemble de ces plantes ont la particularité de posséder des racines, des tiges et des feuilles véritables caractérisées par la présence de tissus conducteurs, le xylème et le phloème. Le xylème contient des cellules en forme de tubes qui transportent l'eau et les minéraux dans la sève brute depuis les racines vers le haut de la plante. Ces tubes sont en fait des cellules mortes dont seule la paroi reste pour former un conduit microscopique. Le phloème, quant à lui, est un tissu vivant composé d'une succession de cellules formant des tubes. Ces cellules distribuent dans la sève élaborée des monosaccharides et des disaccharides, des acides aminés et d'autres molécules organiques à travers la plante.

Les bryophytes sont parfois appelées invasculaires. En effet, ces dernières possèdent généralement des tissus de quelques cellules d'épaisseur qui ont chacune un accès direct à l'eau et aux minéraux dissous, étant dépourvues de tissus conducteurs capables de distribuer l'eau et les composés organiques à l'intérieur de tissus épais. Certaines bryophytes possèdent cependant des tissus spécialisés qui participent au transport de l'eau et des solutés (§ I.2.1.2.2.), mais la paroi des cellules qui composent ces tissus ne contient pas la couche de lignine qui caractérise le xylème des vasculaires. L'absence de tissus conducteurs lignifiés limite la hauteur des bryophytes à quelques centimètres. Par conséquent, la plupart des bryophytes croissent à proximité du sol et s'y ancrent à l'aide de rhizoïdes incolores. Ces derniers ne sont pas formés de tissus, ne possèdent pas de cellules conductrices spécialisées et ne jouent pas un rôle important dans l'absorption de l'eau et des minéraux, et diffèrent donc des racines des vasculaires.

Ayant des organes reproducteurs cachés ou peu apparents, les bryophytes entrent dans la catégorie des cryptogames (par opposition aux phanérogames, c'est-à-dire les spermatophytes), qui comprend également les algues, les champignons, les lichens et les ptéridophytes. Autrefois, les phanérogames et les cryptogames formaient ensemble le règne végétal dans la vision à trois règnes du monde vivant (règnes bactérien, végétal, animal), mais ces notions ne sont plus adaptées aux classifications phylogénétiques issues de la cladistique (Campbell et Reece, 2002).

I.2.1.2. Les mousses

I.2.1.2.1. Origine

Les fossiles de mousses les plus anciens datent du Carbonifère supérieur (environ 350-320 millions d'années) mais d'après la phylogénie moléculaire, les bryophytes seraient apparues pendant l'Ordovicien (environ 490-440 millions d'années) (Newton *et al.*, 2007). Les plantes terrestres les plus anciennes dateraient de l'Ordovicien, voire du Cambrien (540-490 millions d'années) (Strother *et al.*, 2004). Les mousses sont donc apparues avec les premiers colonisateurs du monde terrestre il y a plus de 400 millions d'années (Figure I-6). Depuis, l'embranchement des mousses a conduit à l'apparition de 13 000 espèces, soit le 2^{ème} plus important phylum parmi toutes les plantes terrestres (les angiospermes étant le plus important avec 250 000 espèces) (Campbell et Reece, 2002 ; Goffinet et Shaw, 2009). En effet, afin de s'étendre à la plupart des milieux, les mousses ont acquis des caractéristiques morphologiques, ontogénétiques, anatomiques et cytologiques qui leur confèrent une capacité à s'adapter à leur environnement.

I.2.1.2.2. Caractéristiques anatomiques et morphologiques

Les gamétophytes des mousses sont qualifiés de « feuillus », car ils possèdent des structures en forme de tiges qui portent de nombreux appendices semblables à des feuilles (Figure I-8 A,B,G). Cependant, il ne s'agit pas véritablement de tiges ni de feuilles au sens propre, car ces structures ne sont pas formées de cellules conductrices recouvertes de lignine (Campbell et Reece, 2002).

La tige et les branches

La « tige » est constituée d'une couche de cellules épidermiques à paroi épaisse pigmentée enveloppant un cortex parenchymateux, constitué de cellules non photosynthétiques qui stockent les lipides et l'amidon (Figure I-8 K). L'épiderme est recouvert d'une fine cuticule. A l'insertion des feuilles, des filaments sécrètent un mucilage de polysaccharides pour éviter la déshydratation lors de la croissance de la feuille. Chez les mousses pleurocarpes (qui forment des tapis), l'épiderme peut contenir des extensions en forme de branches, appelés paraphyllia, qui permettent d'accentuer la conduction externe de l'eau par capillarité. Chez les espèces hygrophytes, c'est-à-dire vivant dans les lieux humides

parfois inondés (Malcolm et Malcolm, 2000), l'épiderme peut se gonfler d'eau grâce à la présence de parois fines et ainsi participer à la conduction interne de l'eau. On parle alors de hyaloderme (Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

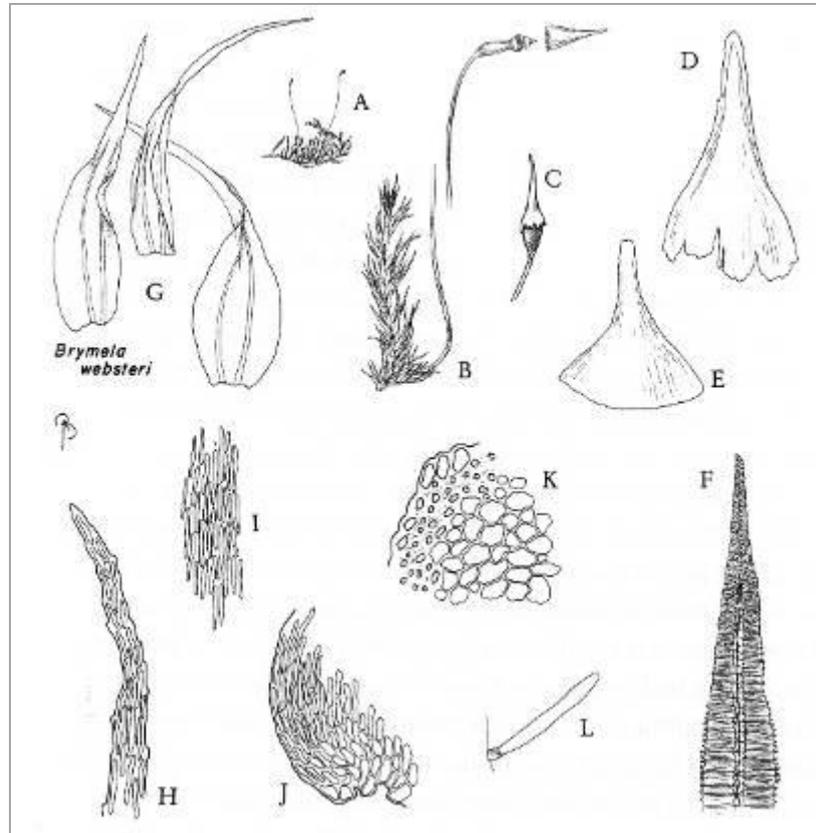


Figure I-8. Morphologie et anatomie de *Brymela websteri* (Pilotrichaceae), un exemple de mousse. (Goffinet et Shaw, 2009)

(A) Aspect général ; (B) Détail d'une branche latérale donnant naissance à un sporophyte constitué d'un pédicelle, d'une capsule et d'un operculum ; (C) capsule jeune avec son calyptra ; (D) Calyptra ; (E) Operculum ; (F) Dent de l'exostome ; (G) Feuilles avec deux axes centraux ou costa ; (H) Apex d'une feuille ; (I) Cellules laminales au centre de la feuille ; (J) Cellules basales de la feuille ; (K) Coupe radiale d'une tige ; (L) Cheveu axillaire.

Polytrichum et un certain nombre d'autres mousses possèdent au sein de leurs tiges une bande centrale de cellules qui permettent la conduction interne de l'eau (Campbell et Reece, 2002 ; Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009). Ces cellules conductrices d'eau (*hydroid cells*) sont constituées de cellules fines et allongées, dépourvues de cytoplasme à maturité et dont les parois fines ne sont pas perforées (Figure I-9). Elles se distinguent des trachéides, les cellules allongées du xylème des plantes vasculaires, car elles ne possèdent pas de parois lignifiées contenant des spirales, des bandes ou des perforations et elles s'effondrent en l'absence d'eau (Ligrone *et al.*, 2000).

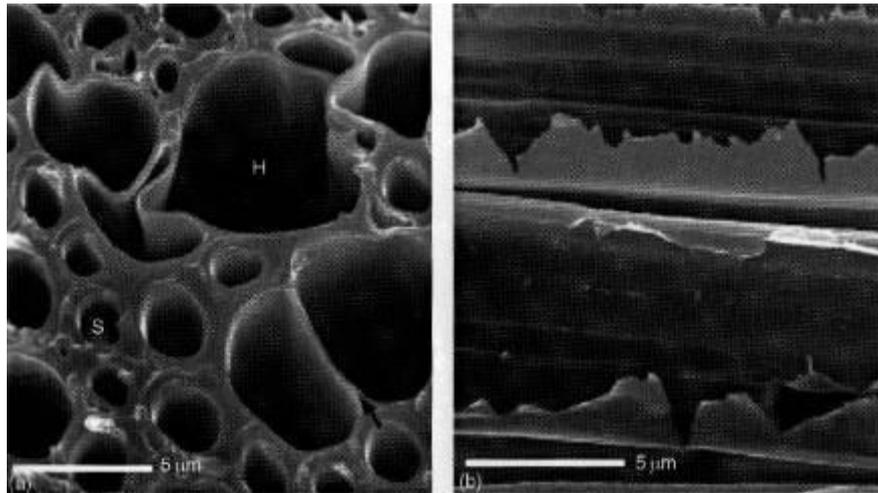


Figure I-9. Cellules conductrices d'eau chez la mousse *Dawsonia* observées au microscope électronique à balayage : coupe transversale (a) et longitudinale (b) (Vanderpoorten et Goffinet, 2009)

H : cellules conductrices d'eau (hydroid cells) ; *S* : cellules prosenchymateuses (stereid cells)

Des structures spécialisées dans la conduction des produits de la photosynthèse (nommées *leptoid cells*) sont également présentes chez certaines espèces de mousses (Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009). Ces cellules possèdent une polarité cytoplasmique : le noyau et les organites sont concentrés d'un côté de la cellule et des microtubules qui s'étendent du noyau dans toute la cellule afin de faciliter la circulation des nutriments (Figure I-10). Des plasmodesmes sont présents dans les parois obliques : ces prolongations de la membrane plasmique permettent la communication cytoplasmique inter-cellulaire (Ligrone *et al.*, 2000).



Figure I-10. Cellule de transport des produits de la photosynthèse chez la mousse *Mnium hornum*, observée au microscope électronique à transmission, montrant : (a) la concentration des mitochondries *m*, du noyau *n* et des plastides *p* à l'extrémité distale de la cellule et (b) les microtubules (flèches) s'étendant du noyau au cytoplasme (Vanderpoorten et Goffinet, 2009)

Notons que les structures conductrices sont très limitées voire absentes dans beaucoup de mousses de l'ordre des *Bryopsida* (Goffinet et Shaw, 2009), ordre qui contient les espèces les plus couramment utilisées en biosurveillance de la qualité de l'air.

Les feuilles

Les « feuilles » des mousses (Figure I-8 G-J) ne sont constituées habituellement que d'une cellule d'épaisseur et sont dépourvues de cuticule, ce qui facilite l'absorption directe de l'eau et des minéraux par rapport aux plantes vasculaires. En effet, ces dernières sont recouvertes, au niveau des feuilles et autres parties aériennes, d'une cuticule composée de polymères appelés polyesters et cires, qui protège la plante contre les microorganismes et prévient l'assèchement des organes aériens. Cependant, la mousse du genre *Polytrichum* et ses proches parents possèdent des « feuilles » plus complexes munies de crêtes recouvertes de cuticule qui favorisent l'absorption de la lumière (Campbell et Reece, 2002).

Les tissus conducteurs contenus dans les tiges ne se prolongent pas dans les feuilles. Cependant, chez certaines espèces, un axe central (appelé *costa*) constitué de plusieurs couches de cellules qui permet de transporter l'eau et les nutriments dans la feuille. Cette structure contient des cellules fines à paroi épaisse ayant un rôle structurel (appelées *stereids*) et des cellules conductrices appelées cellules guide (Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

Les feuilles ont également à leur surface des ornements, appelées *papillae*, qui permettent d'accélérer l'hydratation en cas de présence d'eau et de former un espace capillaire pour retenir l'eau et freiner la déshydratation. Toutefois, de la cire est présente à leur sommet afin de permettre l'absorption de dioxyde de carbone nécessaire à la photosynthèse (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

Les rhizoïdes

Les rhizoïdes des mousses sont constitués de filaments de cellules qui leur permettent de s'ancrer sur leurs substrats (sol, bois, pierre...). Leur densité, leur longueur et leurs ramifications dépendent du substrat colonisé. Ils sont généralement thigmotropiques, c'est-à-dire qu'ils s'enroulent autour des objets (Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009). Il se peut que les rhizoïdes jouent aussi un rôle dans la conduction de l'eau, surtout chez les espèces vivant au contact du sol. Cependant, la conduction de l'eau se ferait à l'extérieur des rhizoïdes par capillarité (Schofield, 1981). Certains rhizoïdes jouent un rôle

protecteur, comme c'est le cas des pseudoparaphyllia (Schofield, 1985). Chez certaines espèces, les rhizoïdes développent des tubercules dont la croissance est probablement déclenchée par la sécheresse et qui confère une résistance prolongée à la sécheresse (Arts, 1986).

Le sporophyte

La fertilisation du sporophyte conduit à l'apparition d'un axe sans branche composé d'un pied, d'une tige allongée appelée pédicelle et d'un organe producteur de spores, appelé sporange ou capsule (Figure I-8 B-E). Le pied obtient les glucides, les acides aminés, l'eau et les minéraux du gamétophyte maternel, par l'intermédiaire des cellules de transfert. Le pédicelle achemine toutes ces matières jusqu'au sporange, qui les met au service de la production de spores. Le sporange peut produire jusqu'à 50 millions de spores.

Les capsules des mousses sont parsemées de stomates, structure totalement absente au niveau du gamétophyte. Chez les vasculaires, l'épiderme de l'ensemble des feuilles est recouvert de ces pores, qui contribuent lorsqu'ils sont ouverts à la photosynthèse en permettant l'échange de dioxyde de carbone et de dioxygène entre l'air ambiant et l'intérieur de la feuille, et qui évitent lorsqu'ils sont fermés les déperditions d'eau par temps sec. Leur présence a une finalité toute autre chez les mousses : les stomates ont pour but d'accélérer la déhiscence de la capsule afin de libérer les spores (Campbell et Reece, 2002 ; Goffinet et Shaw, 2009 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

1.2.1.2.3. Processus physiologiques impliqués dans le développement

Tolérance à la sécheresse

Les plantes vasculaires possèdent des racines, une cuticule et des stomates qui leur permettent de réguler leur teneur en eau, ce qui n'est pas le cas des mousses. Ainsi, la teneur des mousses en eau va être fonction de l'humidité du milieu : elles peuvent absorber jusqu'à 15 fois leur masse sèche en eau. Pourtant, elles peuvent tolérer une déshydratation presque complète (jusqu'à ce que la teneur en eau soit inférieure à 10% de la masse totale). Cela s'explique par le fait qu'en l'absence d'humidité, l'activité physiologique est suspendue et n'est reprise que lors de la réhydratation des mousses. On dit que les mousses possèdent des propriétés poikilohydriques. Afin de tolérer la dessiccation, des adaptations physiologiques

spécifiques aux mousses existent : la structure cellulaire doit permettre la perte de la majorité de sa teneur en eau sans être perturbée et les membranes doivent garder la base de leur structure ou alors être reconstituées après la réhydratation.

La synthèse de protéines et de sucres particuliers assure la protection cellulaire durant la dessiccation. Les protéines LEA (*Late Embryogenesis Abundant proteins*) séquestrent les ions et protègent ainsi les protéines cellulaires et autres composés structuraux d'une détérioration par une concentration ionique trop élevée, et assurent la conservation d'ions vitaux qui seraient perdus lors de la réhydratation à travers les membranes endommagées. Avec d'autres protéines, elles assurent également la stabilisation des composés cytoplasmiques durant la sécheresse, les stress thermiques et lors de la dessiccation des graines. D'autre part, l'accumulation de sucres solubles permet de remplacer les liaisons hydrogène de l'eau et ainsi de préserver les protéines de structure et l'espacement entre les phospholipides membranaires (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

Cependant les mécanismes de protection ne suffisent pas pour éviter les dommages infligés aux membranes durant la dessiccation. Il existe donc des mécanismes de réparation avec des protéines appelées hydrines et réhydrines (Oliver, 1991). Ces mécanismes de protection et de réparation existent surtout chez les espèces xérophytes, c'est-à-dire vivant dans les milieux arides.

Tolérance à la lumière et aux températures extrêmes

En ce qui concerne la luminosité, les mousses sont généralement habituées à des milieux assez sombres (optimum à 20% de l'intensité lumineuse maximale). Cela leur permet de limiter les pertes par évaporation tout en assurant une photosynthèse suffisante. Une intensité lumineuse forte induit un stress oxydatif qui décolore les pigments et endommage les mousses. Il existe donc des mécanismes de photo-protection pour dissiper l'excès d'énergie.

Dans les zones tempérées, la température optimale pour les mousses se situe entre 15 et 25 °C en fonction de l'habitat. Elle est généralement plus faible que celle des plantes vasculaires qui ont une croissance maximale l'été. Ainsi les mousses se développent d'avantage au printemps et à l'automne. On parle de niches saisonnières.

Durant les périodes froides, les mousses conservent une croissance, mais faible. Cela est rendu possible car, de la même manière que pour la sécheresse, les mousses possèdent des

mécanismes de résistance au froid. Les protéines LEA protègent les structures cellulaires et la présence d'acide abscissique (ABA) permet d'augmenter les concentrations en sucres solubles qui protègent également les protéines et les membranes.

Au-delà d'une certaine période à 30-35 °C, la plupart des mousses périssent. Des dommages sont causés aux membranes et à l'appareil photosynthétique (pigments). Il existe des mécanismes de protection de courte durée grâce à des protéines de stress appelées protéines de choc thermique (*heat shock proteins*). La tolérance à la chaleur est d'autant plus élevée que l'humidité est faible (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

Protection contre les agressions microbiennes

Les mousses synthétisent des polymères polyphénoliques similaires à la lignine, un composé qui apporte la rigidité du xylème des plantes vasculaires. Cependant, ces polymères sont produits dans tous les tissus de la mousse, alors que chez les plantes vasculaires, la lignine n'est produite qu'au niveau des tissus conducteurs et structurels. Ainsi les polymères des mousses n'auraient pas seulement un rôle structurel mais également un rôle de protection contre les micro-organismes. Ces composés protégeraient également des rayonnements (Campbell et Reece, 2002 ; Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

1.2.1.2.4. Caractéristiques écologiques

Grâce au vent et à la légèreté de leurs spores, les bryophytes se sont disséminées sur toute la planète. Ces plantes sont particulièrement abondantes et diversifiées dans les forêts humides, comme les forêts alpines, boréales, tempérées ou tropicales, ainsi que dans les milieux humides (tourbières). On trouve même des mousses dans des milieux aussi hostiles que les sommets des montagnes, la toundra arctique et antarctique et les déserts. Les mousses croissent dans des habitats très froids ou très secs grâce à leur tolérance à la dessiccation. Rares sont les plantes vasculaires qui sont capables de survivre au même degré de dessèchement. En outre, les composés phénoliques contenus dans la paroi cellulaire des mousses absorbent les rayons ultraviolets et les autres rayonnements de courte longueur d'onde présents dans les déserts, en altitude et aux latitudes froides (Campbell et Reece, 2002).

En plus d'être présentes dans tous les habitats terrestres du globe, les mousses sont capables de croître sur une multiplicité de substrats : sols, roches, écorces, bois mort... Les mousses sont ectohydriques, c'est-à-dire qu'elles absorbent l'eau par l'intégralité de leur surface. Ainsi, la présence de racines n'est pas nécessaire, ce qui leur permet de croître où les conditions de survie sont optimales. Les mousses s'adaptent à leur milieu grâce au développement de caractéristiques spécifiques et forment ainsi des niches écologiques, ce qui leur permet de survivre face à la sélection naturelle. On peut citer par exemple le cas des espèces épiphytes dont la croissance n'a lieu que sur les arbres.

Les avantages que les mousses apportent aux écosystèmes expliquent également comment elles ont subsisté malgré l'apparition des plantes vasculaires :

- Les mousses stabilisent le sol, en le protégeant du vent et de la pluie, et contrôlent sa température et son taux d'humidité.
- Les mousses pleurocarpes forment des tapis sur le sol et empêchent la germination des graines de plantes vasculaires et évite ainsi l'invasion d'espèces allochtones.
- Les mousses fournissent un milieu tamponné en température et humidité et constituent donc un bon abri pour les invertébrés.
- Les mousses sont rarement consommées en tant qu'aliment (seulement par quelques invertébrés et les herbivores en région Arctique).
- Les mousses sont parfois les hôtes d'autres organismes vivants comme les mycètes, les algues vertes, les cyanobactéries et les bactéries (symbioses).

Les mousses sont peu consommées comme aliments car elles sont peu digérables du fait de la présence de composés polyphénoliques qui protègent des attaques hydrolytiques de la cellulose et des polysaccharides et donc réduisent l'efficacité des enzymes digestifs. Notons que leur faible consommation en tant qu'aliment en fait donc de bons outils de biosurveillance (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

Les symbioses connues chez les mousses sont nombreuses. Les champignons des lignées *Glomeromycota*, *Ascomycota* et *Basidiomycota* et des algues vertes peuvent habiter les tiges feuillées mais sans interaction mutuelle évidente. Les cyanobactéries permettent d'augmenter la fixation de l'azote atmosphérique, un nutriment souvent limitant pour les mousses. En échange, ces dernières sont un abri et un vecteur de nutriments et de sucres. On peut citer par exemple les mousses *Pleurozium schreberi* qui vivent en symbiose avec les cyanobactéries du genre *Nostoc* et sont ainsi responsables d'environ un tiers à la moitié de

l'azote fixé dans les forêts boréales (DeLuca *et al.*, 2002). Enfin, les méthylobactéries vivant en symbiose avec les mousses consomment le méthanol et autres molécules organiques produites par ces dernières et produisent en contrepartie des cytokinines et autres phytohormones qui augmentent la croissance des mousses (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

1.2.2. LA BIOACCUMULATION DES HAP ATMOSPHÉRIQUES

La bioaccumulation est « un phénomène par lequel une substance, présente dans un biotope, s'accumule en surface et/ou pénètre dans un organisme même si elle n'a aucun rôle métabolique, voire même si elle est toxique à ce dernier » (Ramade, 2002).

Les polluants lipophiles présents dans l'atmosphère sous forme gazeuse ou condensés/sorbés sur des particules sont transférés à la flore terrestre. Ainsi, la végétation capte de 26 à 62% des HAP atmosphériques (Simonich et Hites, 1994).

Les mousses présentent l'avantage de ne pas posséder de système racinaire et de ne pas être recouvertes d'une cuticule, et par conséquent absorbent la majorité des nutriments et l'eau par voie aérienne : soit par contact avec l'air ou les précipitations, soit par l'impactation ou la sédimentation des particules atmosphériques. Elles peuvent adsorber directement les polluants atmosphériques à leur surface ou alors absorber les composés polaires ou lipophiles dans les membranes cellulaires. Ces végétaux possèdent un rapport surface sur volume élevé, ce qui induit une forte accumulation des polluants atmosphériques par rapport à d'autres végétaux. Les mousses possèdent également une capacité d'échange cationique élevée, ce qui intensifie l'accumulation des polluants minéraux comme les métaux lourds. En ce qui concerne les polluants organiques persistants, c'est plutôt la quasi-absence de cuticule et donc la capacité des mousses à absorber les grosses molécules organiques qui favorise leur accumulation (Wegener *et al.*, 1992). Étant donné que les mousses ne possèdent pas ou peu de tissus conducteurs, on considère que le transport des polluants à l'intérieur de la plante est absent ou négligeable (Gerdol *et al.*, 2002a).

Il est à noter qu'il peut y avoir des transferts inverses des polluants organiques de la plante vers l'atmosphère lors de fortes augmentations de température ou lors d'une chute des concentrations atmosphériques de ces polluants (Knulst *et al.*, 1995). Les taux de volatilisation des HAP sorbés sur les aiguilles de pin sont inversement proportionnels aux

masses molaires des composés (Wang *et al.*, 2005). D'autre part, des phénomènes de photolyse des HAP à la surface de feuilles ou d'aiguilles ont déjà été observés (Wang *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2010). Cette dernière est fonction de la masse molaire des composés mais également des propriétés physico-chimiques des tissus végétaux étudiés.

Un autre point important à noter est la possibilité que les HAP présents dans les mousses ne soient pas exclusivement d'origine atmosphérique. En effet, ils peuvent provenir du sol car, d'une part, les rhizoïdes auraient un rôle de conduction externe de l'eau du sol qui assurerait une part de la nutrition azotée (Schofield, 1981 ; Ayres *et al.*, 2006), et d'autre part, un phénomène de re-suspension des polluants par le vent peut se produire (Harmens *et al.*, 2010a). Enfin, la formation de HAP par biosynthèse au sein de plantes vasculaires a déjà été observé (Krauss *et al.*, 2005), mais cela n'a pas été montré jusqu'à présent au sein des mousses.

I.2.3. LA BIOSURVEILLANCE DE LA QUALITÉ DE L'AIR

I.2.3.1. Définitions

Les appareils classiques d'analyse de l'air ont un coût d'investissement et d'utilisation élevés, ce qui a pour conséquence une faible représentativité de ces outils, tout d'abord à l'échelle globale puisque non utilisés dans certains pays, mais également à l'échelle locale par l'impossibilité de constituer des maillages. Développée à partir des années 1960, la biosurveillance végétale de la qualité de l'air présente une alternative intéressante grâce à l'utilisation de bioaccumulateurs. Pour les études de bioaccumulation, des espèces résistantes aux stress de pollution sont utilisées (Garrec et Van Haluwyn, 2002). La quantité totale de polluant accumulée pendant un temps d'exposition donné est évaluée par des analyses chimiques effectuées sur des échantillons.

Les études de biosurveillance végétale réalisées peuvent être de type actif ou passif. La biosurveillance active utilise des espèces dont la croissance est réalisée dans des conditions standards puis qui sont importées sur le site d'étude durant une période limitée (généralement plusieurs semaines) (Wegener *et al.*, 1992). Cette méthode présente l'avantage d'être indépendante des conditions naturelles de croissance des végétaux, mais est cependant assez contraignante et par conséquent limitée à l'étude de zones peu étendues, polluées par

une émission locale de type industrielle ou urbaine (études intensives). La biosurveillance passive quant à elle se sert d'espèces présentes sur le site d'étude, ce qui présente l'avantage de ne pas demander d'entretien et permet de couvrir des zones étendues et de longues périodes (études extensives) (Steinnes *et al.*, 1992). En revanche, l'interprétation des résultats doit tenir compte de l'ensemble des facteurs liés à l'espèce (variabilité génétique et état métabolique), des facteurs environnementaux (qualité du sol, conditions climatiques, saison) et de l'hétérogénéité spatiale de la distribution de l'espèce. Les vitesses d'accumulation et de réémission des polluants ainsi que les réactions chimiques peuvent également être source de variabilité (Knulst *et al.*, 1995).

I.2.3.2. La biosurveillance végétale des HAP atmosphériques

Les principaux bioindicateurs utilisés à ce jour en biosurveillance végétale des teneurs atmosphériques en HAP sont les feuilles d'espèces caduques ou d'espèces persistantes, les aiguilles de conifères, les lichens et les mousses (Tableau I-9). Quelques travaux récents se sont également intéressés à l'écorce d'arbres, aux herbacées et aux plantes épiphytes. Les études sont généralement réalisées afin d'étudier les tendances spatiales à l'échelle régionale ou temporelles à l'échelle saisonnière. Une étude originale utilisant les cernes de conifère a également permis de connaître les variations historiques des teneurs atmosphériques en HAP (Kuang *et al.*, 2011).

Tableau I-9. Principaux bioindicateurs utilisés pour étudier les dépôts atmosphériques de HAP

Bioindicateur	Références
Feuilles d'espèces caduques	(Howsam <i>et al.</i> , 2000 ; Jouraeva <i>et al.</i> , 2002 ; Tian <i>et al.</i> , 2008 ; Wang <i>et al.</i> , 2008)
Feuilles d'espèces persistantes	(Alfani <i>et al.</i> , 2001 ; Müller <i>et al.</i> , 2001 ; Alfani <i>et al.</i> , 2005 ; De Nicola <i>et al.</i> , 2005, 2008 ; Prajapati et Tripathi, 2008 ; De Nicola <i>et al.</i> , 2011)
Aiguilles de conifères	(Brorström-Lundén et Löfgren, 1998 ; Holoubek <i>et al.</i> , 2000 ; Weiss <i>et al.</i> , 2000 ; Migaszewski <i>et al.</i> , 2002 ; Lehndorff et Schwark, 2004 ; Piccardo <i>et al.</i> , 2005 ; Holoubek <i>et al.</i> , 2007b ; Tian <i>et al.</i> , 2008 ; Klánová <i>et al.</i> , 2009 ; Lehndorff et Schwark, 2009a2009b ; Augusto <i>et al.</i> , 2010 ; Ratola <i>et al.</i> , 2010a ; Ratola <i>et al.</i> , 2010c2010b ; Ratola <i>et al.</i> , 2011)
Lichens	(Migaszewski <i>et al.</i> , 2002 ; Guidotti <i>et al.</i> , 2003 ; Blasco <i>et al.</i> , 2006, 2008 ; Shukla et Upreti, 2009 ; Augusto <i>et al.</i> , 2010 ; Blasco <i>et al.</i> , 2011)
Mousses *	(Thomas, 1979 ; Dolegowska et Migaszewski, 2011)
Ecorce d'arbres	(Pereira Netto <i>et al.</i> , 2007 ; Orecchio <i>et al.</i> , 2008)
Herbacées	(Bakker <i>et al.</i> , 2001 ; Rodriguez <i>et al.</i> , 2010)
Plantes épiphytes	(Rodriguez <i>et al.</i> , 2010)

* En ce qui concerne les mousses, seules les références de la première et la dernière étude réalisées sont répertoriées. Les autres sont présentées § I.2.3.3.3..

I.2.3.3. Études de biosurveillance à l'aide de mousses

I.2.3.3.1. Historique de la biosurveillance par les mousses

Les mousses furent utilisées pour la première fois comme bioindicateurs en biosurveillance de la qualité de l'air au début des années 1950 pour évaluer les teneurs atmosphériques en **fluor**. A partir des années 1960, des études ont été réalisées pour évaluer les dépôts atmosphériques de **métaux lourds** (Rühling et Tyler, 1969). L'étude spatiale et temporelle de l'accumulation de métaux lourds par les mousses a été développée durant les années 1970-80 (Tyler, 1990). Des études de biosurveillance passive sont désormais menées à l'échelle internationale et sur le long terme grâce au programme PIC-Végétation de la CEE-

ONU mis en place après la signature en 1979 de la Convention de Genève sur la pollution atmosphérique transfrontalière à longue distance (Harmens *et al.*, 2007, 2008b ; Schröder *et al.*, 2008 ; Harmens *et al.*, 2010b). Ces dernières années, le programme a étendu ses recherches aux dépôts d'**azote atmosphérique** (Schröder *et al.*, 2010a ; Harmens *et al.*, 2011c). Ces études sont réalisées grâce à l'échantillonnage de mousses tous les 5 ans par les participants des différents pays européens. Ils prélèvent alors 0,8 à 1,5 échantillons sur 1000 km² de territoire (ICP-Vegetation, 2010). D'autre part, quelques thèses récentes sur la bioaccumulation par les mousses des dépôts atmosphériques de métaux lourds et d'azote ont permis de développer les connaissances sur les mécanismes d'assimilation de ces polluants grâce à leur mesure simultanée dans les dépôts totaux ou le sol (Leblond, 2004 ; Gonzalez-Miqueo, 2009).

Des études isolées de biosurveillance passive ont également été réalisées ces dernières décennies pour mesurer les **radionucléides** (Sumerling, 1984 ; Krmar *et al.*, 2007 ; Krmar *et al.*, 2009 ; Sawidis *et al.*, 2009), les **abondances naturelles d'isotopes d'azote** (Gerdol *et al.*, 2002b ; Solga *et al.*, 2005 ; Solga *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2008a, 2008b ; Xiao *et al.*, 2010), **de carbone** (Liu *et al.*, 2008a ; Liu *et al.*, 2010) **et de soufre** (Liu *et al.*, 2009 ; Xiao *et al.*, 2010), ainsi que les **polluants organiques persistants** (Carlberg *et al.*, 1983 ; Dolegowska et Migaszewski, 2011). Aujourd'hui, il existe des études de biosurveillance de la qualité de l'air avec des mousses pour les POP suivants : HAP, polychlorobiphényles (PCB), pesticides organochlorés (OCP), dioxines (PCDD), furanes (PCDF), hexachlorobenzène (HCB), pentachlorobenzènes (PeCB) et polybromodiphényléther (PBDE) (Borghini *et al.*, 2005 ; Carballeira *et al.*, 2006 ; Lim *et al.*, 2006 ; Mariussen *et al.*, 2008 ; Yogui et Sericano, 2008 ; Dolegowska et Migaszewski, 2011). Ces études restent cependant sporadiques et sont limitées à une ville, une région ou un pays et se font sur une année ou tout au plus une dizaine d'années.

Afin de connaître l'évolution historique de la qualité de l'air sur plusieurs siècles, des études sont réalisées sur des mousses conservées en herbier. Ces dernières ont déjà été utilisées pour l'étude des dépôts atmosphériques historiques de métaux lourds (Herpin *et al.*, 1997 ; Weiss *et al.*, 1999 ; Shotbolt *et al.*, 2007 ; Cao *et al.*, 2008), d'azote atmosphérique (Wilson *et al.*, 2009), d'isotopes d'azote (Peñuelas et Filella, 2001 ; Solga *et al.*, 2006) et de PCB (Lead *et al.*, 1996).

1.2.3.3.2. Caractéristiques des mousses utilisées en biosurveillance

Les mousses pleurocarpes (Figure I-11a) ont une croissance végétative ininterrompue car elles possèdent de nombreuses branches secondaires sur lesquelles se situent les organes sexuels (croissance monopodiale) alors que les mousses acrocarpes (Figure I-11b) ont une croissance limitée car l'apex des tiges devient le sporophyte (croissance sympodiale) (Vanderpoorten et Goffinet, 2009).

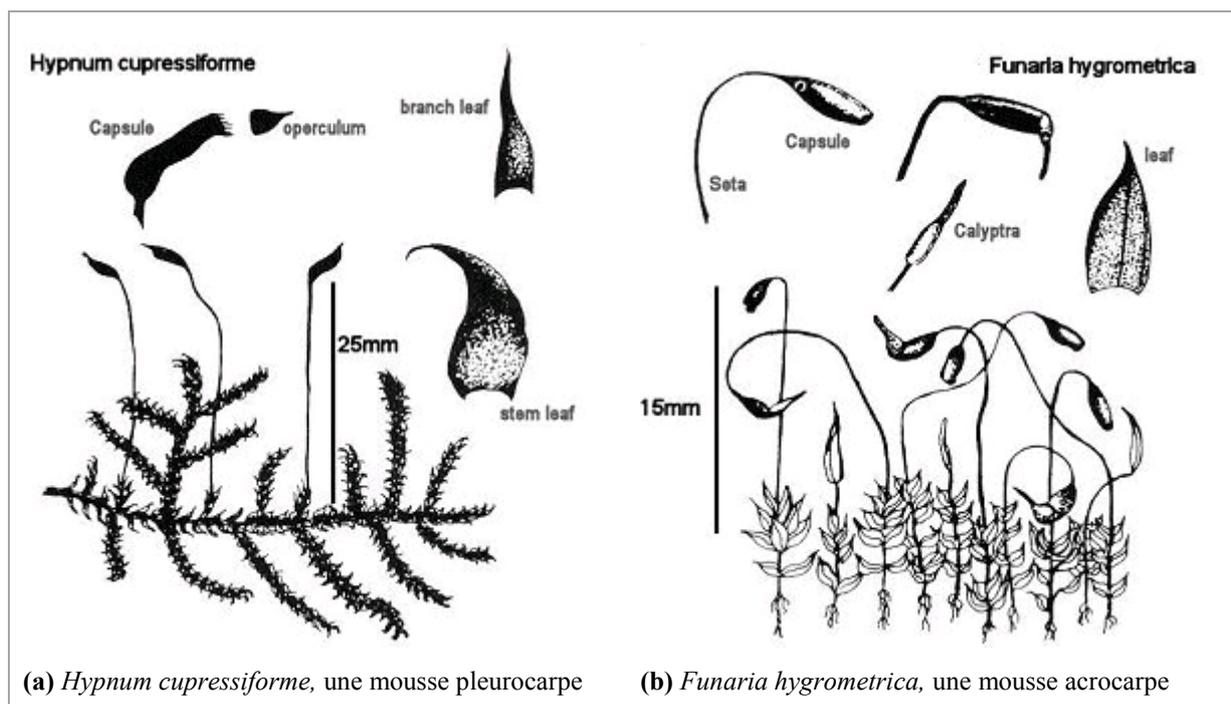


Figure I-11. Exemples de mousses pleurocarpe et acrocarpe

Source : http://www.microview.org.uk/millennium/Pages/about_moss.htm (28/12/2011)

(branch : branche ; stem : tige ; leaf : feuille)

Ainsi la majorité des études de qualité de l'air fondées sur l'analyse de mousses utilisent des mousses pleurocarpes comme bioindicateurs car ces dernières forment de larges tapis qui les isolent presque totalement du sol minéral. Les mousses les plus utilisées sont des pleurocarpes de la classe des *Bryopsida* et de l'ordre des *Hypnales*. Parmi ces dernières, les espèces les plus courantes sont *Pleurozium schreberi*, *Hylocomium splendens* et *Hypnum cupressiforme* (González-Miqueo *et al.*, 2010 ; Harmens *et al.*, 2010b ; Dolegowska et Migaszewski, 2011). Ces espèces vivent dans des milieux moyennement humides, on les qualifie de mésophytes (Malcolm et Malcolm, 2000).

Toutefois, les mousses pleurocarpes sont sensibles à la pollution et à la sécheresse donc sont rares voire absentes en milieu urbain. Ainsi, il arrive que les mousses acrocarpes présentes sur les murs en brique ou en pierre soient utilisées pour les études en milieu urbain (Burton et Agneta, 1990). Une autre solution à l'absence ou à l'insuffisance de mousses en milieu fortement anthropisé consiste à faire de la biosurveillance active à l'aide de *moss bags*, des sacs contenant des pousses de mousses (Wegener *et al.*, 1992 ; Roy *et al.*, 1996 ; Viskari *et al.*, 1997 ; Orlinski, 2002 ; Zechmeister *et al.*, 2006 ; Ares *et al.*, 2011). Les espèces utilisées pour ce type d'étude appartiennent comme pour la plupart des études de biosurveillance passive à l'ordre des *Hypnales* (*Pleurozium schreberi*, *Pseudoscleropodium purum* et *Hylocomium splendens*).

1.2.3.3.3. Études de biosurveillance des HAP atmosphériques par les mousses

La biosurveillance passive des HAP atmosphériques par les mousses se limite à des études isolées menées en Europe : **Norvège** (Carlberg *et al.*, 1983 ; Wang *et al.*, 2009), **Islande** (Thomas et Shunke, 1984), **Suède** (Thomas *et al.*, 1984 ; Knulst *et al.*, 1995), **Lituanie** (Milukaitė, 1998), **République Tchèque** (Holoubek *et al.*, 2000 ; Holoubek *et al.*, 2007a), **Italie** (Gerdol *et al.*, 2002b), **Pologne** (Migaszewski *et al.*, 2002 ; Galuszka, 2007 ; Migaszewski *et al.*, 2009 ; Dolegowska et Migaszewski, 2011), **Hongrie** (Ötvös *et al.*, 2004), **Autriche** (Zechmeister *et al.*, 2006 ; Krommer *et al.*, 2007), **Espagne** (Ares *et al.*, 2009). On dénombre quelques études sur les autres continents : en Amérique (**Alaska**) (Migaszewski *et al.*, 2009) et en Asie (**Chine**) (Liu *et al.*, 2005).

Ces études ont pour objectif d'évaluer les variations spatiales et/ou temporelles des retombées atmosphériques de HAP. Il n'est cependant pas aisé de les comparer car elles mettent en oeuvre des procédures de prélèvement, de traitement d'échantillons et d'analyse des HAP différentes. Tout d'abord, des mousses d'espèces différentes ont été analysées (Tableau I-10). Or, la bioaccumulation de HAP par les mousses serait dépendante de l'espèce. Par exemple, une accumulation en HAP plus importante chez l'espèce *Hylocomium splendens* que chez *Pleurozium schreberi* a été mesurée lors d'un échantillonnage synchrone sur un même lieu de prélèvement (Galuszka, 2007). L'étude de plusieurs espèces nécessite donc une comparaison inter-espèces.

Tableau I-10. Espèces de mousses utilisées comme bioindicateurs passifs de HAP atmosphériques répertoriées dans la littérature (classées par ordre chronologique)

	Mousses pleurocarpes					Mousses acrocarpes	
	<i>Abietinella abietina</i>	<i>Hylacomium splendens</i>	<i>Hypnum cupressiforme</i>	<i>Pleurozium schreberi</i>	<i>Pseudoscleropodium purum</i>	<i>Scleropodium purum</i>	<i>Tortula muralis</i>
(Knulst <i>et al.</i> , 1995)		▲		▲			
(Milukaitė, 1998)		▲		▲			
(Gerdol <i>et al.</i> , 2002b)							▲
(Migaszewski <i>et al.</i> , 2002)		▲					
(Ötvös <i>et al.</i> , 2004)			▲				
(Galuszka, 2007)		▲		▲			
(Holoubek <i>et al.</i> , 2000)			▲				
(Krommer <i>et al.</i> , 2007)	▲		▲			▲	
(Holoubek <i>et al.</i> , 2007b)			▲				
(Ares <i>et al.</i> , 2009)					▲		
(Migaszewski <i>et al.</i> , 2009)		▲		▲			
(Dolegowska et Migaszewski, 2011)		▲		▲			

D'autre part, les teneurs en HAP dans les mousses fluctuent avec les saisons en raison des fluctuations des émissions atmosphériques et des températures (Ares *et al.*, 2009). Il peut exister également une variabilité spatiale des teneurs en HAP due à la géomorphologie de la zone d'étude et à la présence de vents prédominants. Il est donc de toute importance de tenir compte de la date de prélèvement, ainsi que des caractéristiques géographiques et météorologiques du site d'échantillonnage dans ce type d'étude.

La majorité des études de biosurveillance passive des retombées atmosphériques de HAP a été menée avec des échantillons provenant de sites reculés, non influencés par la pollution directe des agglomérations, des axes routiers et/ou des industries. En effet, les teneurs en HAP dans les mousses suivent une décroissance exponentielle autour des sources d'émission (Ares *et al.*, 2009). Des études menées en milieu rural permettent donc d'évaluer, à grande échelle et sur le plus ou moins long terme, le bruit de fond de la contamination atmosphérique en HAP. Le [Tableau I-11](#) répertorie les teneurs en HAP recensées dans la littérature. Les teneurs moyennes totales en HAP (pour 16 ou 17 composés) varient d'environ 100 à 600 ng.g⁻¹ (masse sèche, MS). Les teneurs individuelles les plus élevées sont généralement celles du fluoranthène, du phénanthrène et du pyrène (3-4 cycles aromatiques). Cette abondance s'explique par leur forte émission par le trafic automobile (Orlinski, 2002).

La biosurveillance active à l'aide de *moss bags* permet quant à elle de réaliser des études intensives au centre des agglomérations (Orlinski, 2002), aux abords de zones industrielles (Wegener *et al.*, 1992 ; Ares *et al.*, 2011) ou dans des zones de trafic routier dense (Roy *et al.*, 1996 ; Viskari *et al.*, 1997 ; Zechmeister *et al.*, 2006). Les teneurs totales moyennes en HAP (pour les 16 HAP listés par l'USEPA) varient entre 800 et 4100 ng.g⁻¹ (MS) en moyenne.

La mise en place d'un réseau de surveillance de la pollution transfrontalière par les HAP grâce aux mousses similaire à celui existant pour les métaux lourds paraît de toute importance. Ceci nécessite de définir des protocoles communs d'échantillonnage des mousses, ainsi que d'extraction et d'analyse des HAP contenus dans ces dernières. Par la suite, nous tenterons de faire le point sur les différentes méthodes utilisées dans les études réalisées en Europe ces dernières années.

Tableau I-11. Teneurs en HAP mesurées dans des mousses prélevées en milieu rural (moyennes et valeurs extrêmes) (ng.g⁻¹, MS)

Référence	Holoubek et al., 2000 Rep. Tchègue		Migazewski et al., 2002 Pologne		Zechmeister et al., 2006 Autriche		Krommer et al., 2007 Autriche		Galuszka, 2007 Pologne		Holoubek et al., 2007 Rep. Tchègue	
Période d'échantillonnage	1988-1994		2000		2003		2005		2005		1996 - 2005	
Nombre d'échantillons	36		2		1		9		10		60	
Nombre d'espèces	1		1		1		3		2		1	
Espèces	<i>Hypnum cupressiforme</i>		<i>Hylocomium splendens</i>		<i>Hylocomium splendens</i>		<i>Scleropodium purum</i> <i>Hypnum cupressiforme</i> <i>Abietianella abietina</i>		<i>Hylocomium splendens</i> <i>Pleurozium schreberi</i>		<i>Hypnum cupressiforme</i>	
Nombre de HAP mesurés	16 (US EPA)		17		16 (US EPA)		17		16		16 (US EPA)	
Naphtalène (NAP)	2,6	(<1 - 640)			6,7		7,3	(1 - 13)				
Acénaphthène (ACE)	45,3	(<1 - 1 183)	<4		1,8		3,1	(2,1-5,7)	2		(<1 - 3)	
Acénaphthylène (ACL)	7,8	(<0,5 - 163)	5	(4 - 6)	< LD		0,6	(0,3 - 6,6)	5		(2 - 11)	
Fluorène (FLR)	68,8	(<1 -933)	11,5	(10 - 13)	3,9		4,6	(3,8 - 6,6)	13		(8 - 23)	
Phénanthrène (PHE)	43,3	(<0,6 - 380)	82,5	(82 - 83)	55		30,1	(24 - 63)	85		(46 - 162)	
Anthracène (ANT)	68,6	(<0,6 - 2 280)	<4		1,4		1,6	(1,2 - 12)	5		(2 - 21)	
Fluoranthène (FTN)	18,9	(<0,6 - 325)	96	(88 - 104)	14		16,4	(13 - 140)	112		(40 - 420)	
Pyrène (PYR)	128,5	(<0,9 - 525)	68,5	(65 - 72)	12		12,7	(8,5 - 94)	87		(31 - 356)	
Benzo(a)pyrène (B(a)A)	13,7	(<0,9 - 311)	22	(18 - 26)	1,5		4,4	(2,9 - 32)	21		(4 - 123)	
Chrysène (CHR)	74,6	(<0,6 - 1190)	69,5	(61 - 78)	4,0		8,4	(5,6 - 27)	44		(15 - 141)	
Benzo(b)fluoranthène (B(b)F)	5,3	(<0,6 - 84)	71,5	(64 - 79)	4,3		12,9	(8,3 - 46)	41		(19 - 83)	
Benzo(k)fluoranthène (B(k)F)	6,0	(<0,6 - 120)	33,5	(31 - 36)	2,7		5,3	(3,6 - 18)	11		(<3 - 38)	
Benzo(a)pyrène (B(a)P)	37,9	(<0,3 - 540)	21,5	(12 - 31)	3,5		8,4	(7,3 - 59)	19		(5 - 71)	
Benzo(e)pyrène (B(e)P)			47,5	(43 - 52)					22		(5 - 71)	
Dibenzo(a,h)anthracène (D(ah)A)	23	(<0,6 - 460)	< 20		0,8		3	(0,5 - 9)	6		(<5 - 16)	
Pérylène (PER)			<12									
Benzo(g,h,i)perylène (B(ghi)P)	14,5	(<0,3 - 290)	39	(37 - 41)	3,8		10,3	(7,1 - 57)	18		(<5 - 63)	
Indénopyrène (IND)	94,5	(<0,6 - 1 087)	42,5	(39 - 46)	2,6		10,8	(8,2 - 27)	21		(<5 - 68)	
Coronène (COR)					3,6		3,5	(2,2 - 18)				
ΣPAHs	609,1	(<0,3 - 4700)	604,5	(587 - 622)	120		137	(120 - 730)	512	(183 - 1629)	210	(83 - 690)

I.3. Méthodes d'échantillonnage des dépôts et des mousses

I.3.1. LES DÉPÔTS ATMOSPHERIQUES

Le suivi des retombées atmosphériques (définies au § I.1.7.1.) est réalisé à l'échelle globale afin d'évaluer les apports de polluants au milieu terrestre *via* l'atmosphère. Différentes techniques sont utilisées selon le type de dépôts recueillis mais également selon la nature des polluants ciblés. L'étude des POP requiert des conditions d'échantillonnage particulières par rapport à d'autres polluants tels que les éléments traces métalliques ou l'azote (nature et nettoyage du matériel, conservation des échantillons...). Les techniques d'échantillonnage couramment utilisées sont présentées dans un premier temps, puis celles concernant plus spécifiquement les HAP sont développées dans un second temps.

I.3.1.1. Les dépôts secs

Les dépôts secs sont étudiés au niveau de la canopée forestière afin d'évaluer leur impact sur les écosystèmes. Cependant, les valeurs sont fortement influencées par les conditions climatiques, la nature de la surface (feuilles, aiguilles...), l'humidité des surfaces, et micrométéorologie (ouverture des stomates) (Clarke *et al.*, 2010). Actuellement, aucune étude de dépôts secs de HAP n'a été réalisée en forêt.

En milieu urbain, les dépôts secs de HAP sont échantillonnés à l'aide de plaques d'aluminium fixées à des girouettes et enduites de bandes de silicone de 1 µm d'épaisseur. Les HAP gazeux et particulaires recueillis sont ensuite extraits par solvant. Afin de déterminer les teneurs en HAP dans les différentes fractions particulaires des dépôts secs, des impacteurs en cascade de type MOUDI (*Micro-Orifice Uniform Deposited Impactor*) ou NRI (*Noll Rotary Impactor*) sont également utilisés (Sheu *et al.*, 1997). Une autre démarche consiste à essuyer les dépôts secs à la surface des vitres. Cependant, la formation de films organiques peut augmenter le flux de HAP d'un facteur 100 (Liu *et al.*, 2003).

Plus récemment, un système de collecte à deux compartiments a été développé. Il permet de prélever les dépôts secs dans un collecteur et les dépôts humides dans l'autre, le couvercle se déplaçant de l'un à l'autre au début et à la fin des épisodes de précipitations (Figure I-12). Pour l'évaluation des dépôts de HAP, des entonnoirs ou des collecteurs cylindriques en acier inoxydable, aluminium et Téflon sont utilisés (Tsapakis *et al.*, 2006 ; Pekey *et al.*, 2007 ; Gambaro *et al.*, 2009 ; Birgül *et al.*, 2011). Pour évaluer les flux de HAP au niveau des interfaces aquatiques, le collecteur de dépôts secs peut contenir une couche d'eau ultra-pure, appelée *Water Surrogate Surface* (Pekey *et al.*, 2007 ; Gambaro *et al.*, 2009). Les collecteurs sont rincés à l'eau ultra-pure (Tsapakis *et al.*, 2006) ou avec un mélange de solvants de type acétone/hexane (1 :1, v/v) (Birgül *et al.*, 2011), et parfois essuyés avec des filtres ou des lingettes pour récupérer les particules (Gambaro *et al.*, 2009 ; Birgül *et al.*, 2011). Les HAP sont ensuite extraits par solvant. Il est important de noter qu'avec ce type de collecteur, la perte de composés par évaporation ou par photodégradation est possible. Toutefois, un système de refroidissement peut être utilisé pour limiter l'évaporation (Gambaro *et al.*, 2009).



Figure I-12. Collecteur de dépôts secs et humides utilisé à l'Agence Nationale du Conseil Supérieur des Recherches Scientifiques d'Espagne

L'évaluation des dépôts secs est délicate et les flux mesurés dépendent de la technique employée. C'est pour cette raison que peu d'études ont été réalisées à ce jour. Cependant, des modèles tel que celui développé par EMEP permettent d'estimer les dépôts secs de HAP (Gusev *et al.*, 2011).

I.3.1.2. Les dépôts humides

Les dépôts humides sont collectés avec des préleveurs qui s'ouvrent automatiquement au début des épisodes de précipitations et se referment lorsqu'elles se terminent, ce qui évite de collecter les gaz et particules lors des périodes de sécheresse. Leur analyse permet d'évaluer les flux de composés dissous dans la pluie, la neige et la grêle. Cependant, c'est un système qui consomme de l'énergie électrique, qui nécessite une maintenance laborieuse et qui peut rencontrer des problèmes de fonctionnement en cas de fortes neiges. A l'heure actuelle, il n'existe pas de préleveur homologué au niveau international. Le programme EMEP propose d'utiliser un collecteur type PR1410 (Figure I-13). Des différences notables d'un préleveur à l'autre sont observées, même pour des préleveurs de mêmes dimensions, à cause notamment des turbulences de l'air, du type de capteur de précipitation utilisé, du délai d'ouverture et de fermeture, du mode de stockage des dépôts humides et de l'existence ou non d'un système de chauffage pour l'hiver (Clarke *et al.*, 2010).

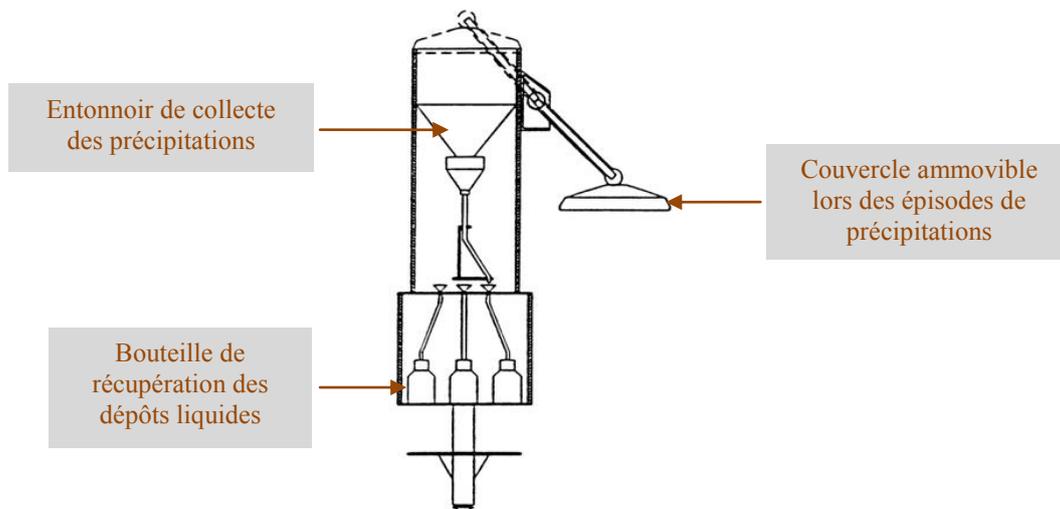


Figure I-13. Collecteur de dépôts liquides de type PR1410 utilisé par le réseau EMEP

Pour l'échantillonnage des HAP, les collecteurs ne doivent pas être constitués de matériau plastique afin d'éviter des pertes par adsorption des polluants organiques sur les parois. De plus, le matériel doit être conditionné avant utilisation afin d'éviter toute contamination. Par exemple, Bourdat-Deschamps *et al.* (2007) se sont servi d'un collecteur constitué d'un entonnoir en PTFE et d'une bouteille de collecte en verre Duran®. Avant utilisation, le flaconnage a été rincé avec de l'acétonitrile de qualité analytique et de l'eau ultra-pure, puis séché et fermé hermétiquement.

Les échantillons de dépôts liquides doivent être stockés à l'obscurité afin d'éviter la photo-oxydation des HAP et peuvent être réfrigérés à 4 °C au sein même du collecteur afin d'éviter les pertes de composés par volatilisation (Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007). En cas de conservation à température ambiante, des dispositifs en verre appelés *glass vapor lock*, destinés à éviter l'évaporation de l'échantillon, peuvent être placés au sein du collecteur (Landis et Keeler, 1997).

Avant récupération de l'échantillon, le collecteur peut être rincé afin d'entraîner les HAP retenus par l'entonnoir lors de la collecte des précipitations. Réalisé après une période sans précipitation, il peut aussi permettre d'évaluer la contamination éventuelle du collecteur lorsqu'il est maintenu fermé. Le rinçage peut être réalisé avec un solvant (acétone ou méthanol) analysé séparément (Franz *et al.*, 1991) ou avec de l'eau Milli-Q rajoutée à l'échantillon (Landis et Keeler, 1997). Le volume utilisé varie en fonction de la surface du collecteur.

Lors du transport entre le site d'étude et le laboratoire d'analyse ainsi que lors du stockage en laboratoire, les échantillons sont conservés à l'obscurité et à 4 °C maximum. Si les échantillons sont conservés pour une longue durée, il est préférable de les congeler à -20 °C (Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007). Pour le stockage, il est préconisé d'utiliser des contenants en verre. Toutefois, il est primordial d'estimer les pertes car il a été montré que les parois peuvent adsorber jusqu'à 70% des HAP contenus dans les échantillons (Wolska *et al.*, 2005).

I.3.1.3. Les dépôts totaux

Afin de déterminer les retombées atmosphériques totales de HAP, on prélève les dépôts totaux. La norme française X 43-014 de novembre 2003 (nommée *Qualité de l'air – Air ambient. Détermination des retombées atmosphériques totales. Echantillonnage - préparation des échantillons avant analyse*) décrit le prélèvement, les critères d'implantation et la manipulation des échantillons. La Directive 2004/107/EC relative aux HAP dans l'air ambiant et le Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air (LCSQA) donnent également des préconisations concernant l'échantillonnage des dépôts totaux (Leoz-Garziandia, 2004). Les préconisations normatives et législatives sont décrites dans un premier temps puis par la suite sont confrontées à des études existantes dans la littérature concernant la mesure des HAP dans les dépôts totaux.

1.3.1.3.1. Préconisations normatives et législatives

Plusieurs collecteurs, constitués soit de verre, soit d'acier, sont décrits dans la norme NF X 43-014. Cette norme décrit notamment un collecteur cylindrique en verre, comme préconisé par la directive européenne, de 20 cm de diamètre interne et 40 cm de hauteur. Le LCSQA préconise l'utilisation d'un collecteur cylindrique en verre de volume compris entre 2 et 3 L, avec un entonnoir également en verre de diamètre interne connu et d'environ 20cm. Les récipients et entonnoirs utilisés doivent être impérativement en verre pour éviter la rétention des composés organiques, et en l'occurrence des HAP, sur les parois.

Le matériel utilisé doit être préalablement nettoyé. La norme NF X 43-014 préconise de le laver avec un détergent et de l'eau chaude, de le sécher à l'étuve (120 °C pendant 15 à 20 min), puis après refroidissement de le rincer à l'acétone avant de le boucher hermétiquement et de le stocker dans un endroit propre. Le LCSQA va encore plus loin en préconisant de laver le matériel avec un détergent basique dans un bac à ultrasons pendant 30 min environ, puis de le rincer successivement à l'eau déminéralisée, à l'acétone et au dichlorométhane, et après séchage de l'envelopper dans du papier aluminium.

Pour ce qui est du placement des collecteurs, les préconisations de la norme NF X 43-014 quant à la hauteur de prélèvement au sol, et les distances par rapport à un obstacle sont à mettre en œuvre : l'entonnoir doit se situer au minimum à 1 m du sol et à une distance minimale égale au triple de la hauteur de l'obstacle.

Compte-tenu de la réactivité des HAP vis-à-vis de la lumière et des composés oxydants, les collecteurs doivent être protégés de l'exposition à la lumière et le contact entre l'échantillon et l'air ambiant doit être minimisé.

Des prélèvements mensuels ou hebdomadaires tout au long de l'année sont recommandés. Ces systèmes n'étant pas réfrigérés (contrairement à certains collecteurs de dépôts liquides), il y a un risque de pertes d'eau par évaporation ainsi que de volatilisation des HAP les plus légers. Il est à noter cependant que le réseau de surveillance EMEP réalise des prélèvements tous les 15 jours.

Une fois le prélèvement effectué, l'échantillon collecté est transvasé dans un flacon en verre nettoyé au préalable et muni d'un bouchon. Le flacon doit être ambré ou couvert d'un papier en aluminium pour éviter l'exposition de l'échantillon à la lumière. Lors du changement de récipient, un rinçage à l'eau distillée est nécessaire pour entraîner les particules sèches déposées sur l'entonnoir.

Il est conseillé de transporter les échantillons de dépôts totaux dans un récipient tempéré ou réfrigéré, des blocs froids peuvent également être utilisés. Les échantillons sont ensuite déposés au laboratoire où ils sont stockés au froid et à l'abri de la lumière avant le traitement analytique. La durée de stockage doit être la plus courte possible pour éviter les pertes de HAP. D'après la norme X 43-014, il faut s'assurer que l'extraction soit effectuée dans un délai de 24 h après l'échantillonnage afin d'éviter les pertes dues à l'adsorption. Si l'analyse complète ne peut pas être effectuée dans les 24 h, il faut ajouter 25 mL d'hexane (solvant utilisé pour l'extraction) et agiter vigoureusement. L'échantillon prétraité peut ainsi être conservé pendant 72 h à environ 4 °C, à l'abri de la lumière.

1.3.1.3.2. État de l'art des études de dépôts totaux

Les dépôts totaux peuvent être échantillonnés en permanence par l'intermédiaire d'un entonnoir raccordé à une bouteille de collecte. Les collecteurs de dépôts totaux récupèrent ainsi les dépôts humides lors des épisodes de précipitations et les dépôts secs en période de sécheresse. Contrairement aux collecteurs de dépôts liquides, les dépôts occultes sont également échantillonnés. Les études de dépôts totaux sont généralement plus nombreuses que celles de dépôts liquides, car elles sont moins difficiles à mettre en œuvre et moins coûteuses, ne demandent pas d'alimentation électrique et nécessitent moins de maintenance (Clarke *et al.*, 2010).

Collecteurs courants

Les réseaux de surveillance nationaux et internationaux (comme EMEP par exemple) ont proposé depuis les années 1970 des collecteurs de différentes formes (Figure I-14) afin de déterminer la composition chimique des dépôts atmosphériques et de mesurer les flux de contaminants atmosphériques tels que les éléments traces métalliques.

L'utilisation d'entonnoirs ayant des parois verticales (cas des exemples (a), (c) et (d)) présente l'avantage d'éviter les pertes de gouttes de pluie par rebond lors des épisodes pluvieux. Les diamètres internes des entonnoirs s'étendent de 16 à 25 cm (200-500 cm²) et le volume des bouteilles de récupération de 2 à 5 L en fonction de la pluviométrie et de la fréquence d'échantillonnage. Pour les dimensions de l'entonnoir, il est également important de tenir compte du volume maximal de précipitations sous forme solide (neige-grêle) susceptible d'être reçu par le collecteur. D'autre part, pour minimiser les phénomènes de contamination par remise en suspension des polluants du sol, les collecteurs sont placés à une hauteur de 1,0 à 1,5 m (Clarke *et al.*, 2010). Certains collecteurs (cas des exemples (a) et (c)) disposent sur leur partie supérieure d'un cerceau de diamètre supérieur à celui de l'entonnoir afin d'éviter que les oiseaux ne viennent se poser et contaminent les échantillons collectés avec leurs excréments. Afin d'éviter l'exposition de l'échantillon aux rayons UV, le collecteur peut être placé à l'intérieur d'un tube en PVC (cas de l'exemple (c)), et pour le protéger des variations thermiques, la bouteille de récupération peut être localisée dans le sol (cas de l'exemple (d)) (Clarke *et al.*, 2010). Afin de se prémunir des pertes de composés volatils, un capillaire en Téflon® peut être disposé entre l'entonnoir et la bouteille de récupération (Leblond, 2004).

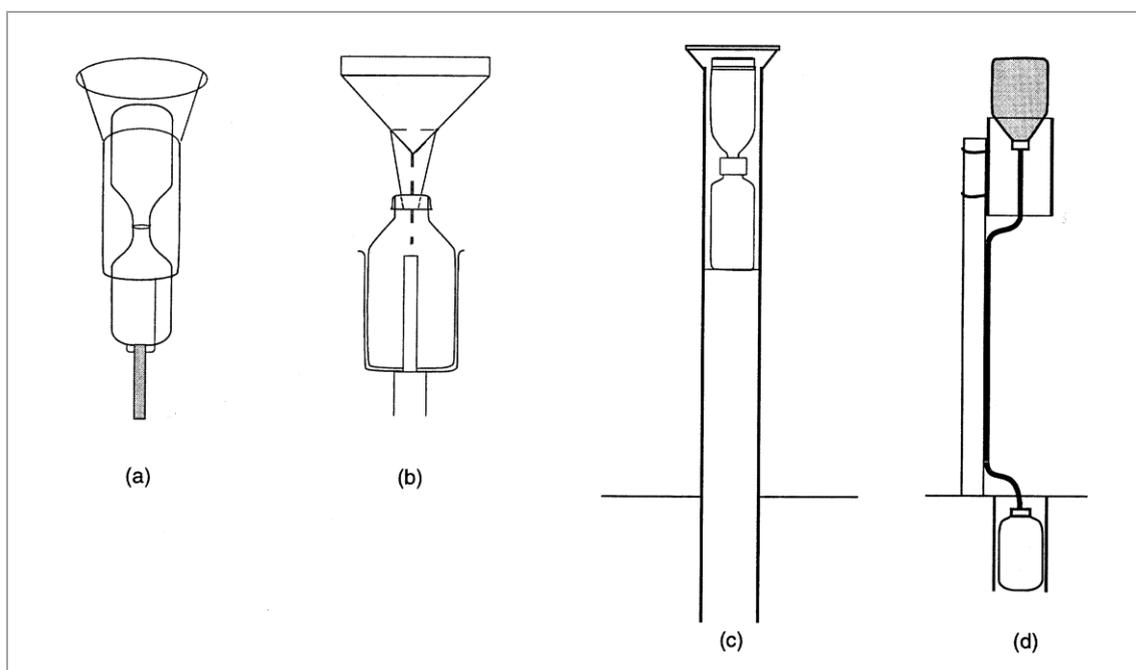


Figure I-14. Exemples de collecteurs de dépôts totaux adoptés par : (a) European Monitoring and Evaluation Programme (Europe, 1977) & Environmental Data Center (USA, 1993) ; (b) Working Group for Environmental Monitoring (Suède, 1989) ; (c) Programme « Forest Damage by Air Pollution » (Allemagne, 1989) ; (d) Centre de recherche de Klosterhede (Danemark, 1989) ; (D'après Thimonier, 1998)

Les collecteurs de type entonnoirs sont utilisés pour prélever les dépôts totaux hors couvert et peuvent également être utilisés pour les pluiolessivats à condition d'en disposer suffisamment pour tenir compte de la variabilité spatiale des dépôts sous la canopée. Des études de dépôts réalisées sous divers couverts forestiers (forêts persistantes et caduques) ont montré une très faible variabilité spatiale au-delà de 30 collecteurs et la nécessité d'utiliser un minimum de 10 collecteurs pour avoir des données significatives (Thimonier, 1998). Pour réduire le nombre de collecteurs, une solution peut consister en l'utilisation de gouttières (*throughs*), comme dans le cas des équipements CATAENAT présentés en [Figure I-15](#).



Figure I-15. Gouttières pour la collecte des pluiolessivats : trois gouttières en PVC disposées en épis sont connectées à un même bidon de 10 L, placé dans une fosse (Gandois, 2009)

Collecteurs spécifiques aux études de HAP

A l'heure actuelle, les dépôts atmosphériques de HAP ont été mesurés uniquement hors couvert. Les protocoles d'échantillonnage des principales études répertoriées dans la littérature sont présentés dans le [Tableau I-12](#). Les collecteurs sont soit en verre, soit en acier inoxydable. Généralement les collecteurs sont constitués par des entonnoirs à fonds coniques et à bords verticaux cylindriques, mais certaines études ont opté pour des formes pyramidales (Motelay-Massei *et al.*, 2007) ou en cuvette (Esen *et al.*, 2008). Un exemple de collecteur, utilisé pour l'analyse de plusieurs polluants organiques persistants dont les HAP (Rossini *et al.*, 2005), est présenté en [Figure I-16](#). L'entonnoir de ce dernier est traité avec du diméthylchlorosilane à 5% dans le toluène avant échantillonnage afin d'éviter l'adsorption des composés organiques à sa surface, surtout en ce qui concerne les PCDD et les PCDF. Ce traitement n'est pas utilisé dans les études où seuls les HAP sont analysés.

Tableau I-12. Caractéristiques des collecteurs et des protocoles d'échantillonnage utilisés lors d'études de HAP dans les dépôts totaux

Pays	Composés analysés	Collecteur				Fréquence et période d'échantillonnage	Rinçage	Références
		Matériel	Forme	Surface	Hauteur			
Grèce	14 HAP (classés par l'USEPA)	Verre ambré (1L)	Entonnoir	0,071 m ²	NC	1 fois par mois 09/1996 - 05/1997	NC	(Manoli <i>et al.</i> , 2000)
France	14 HAP (classés par l'USEPA)	Entonnoir: acier inoxydable	Pyramidal	0,36 m ²	NC	1 fois par semaine 10/1999 - 12/1999 03/2000 - 10/2000	Eau MilliQ	(Garban <i>et al.</i> , 2002) (Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2003)
		Réservoir (25 L): aluminium				1 fois par quinzaine 03/2001 - 03/2002	Acétone + Hexane	(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2006)
						1 fois par semaine 03/2001 - 03/2002		(Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2007)
Italie	HAP, PCB, HCB, DDT, PCDD/F	Verre (Pyrex®) traité avec du diméthylchlorosilane à 5% dans le toluène	Entonnoir	0,043 m ²	NC	1 fois par mois 07/1998 - 07/1999	NC	(Rossini <i>et al.</i> , 2005)
Turquie	15 HAP (classés par l'USEPA)	Acier inoxydable	Cuvette arrondie	0,092 m ²	19 cm	1 fois par mois 07/2004 – 05/2005	Eau milliQ Méthanol Essuyage avec un chiffon propre	(Esen <i>et al.</i> , 2008)
Chine	14 HAP (classés par l'USEPA)	Acier inoxydable	Entonnoir	0,049m ²	NC	1 fois par mois 04/2001 – 03/2002	Essuyage avec du coton prénettoyé	(Li <i>et al.</i> , 2009)

NC : Non communiqué

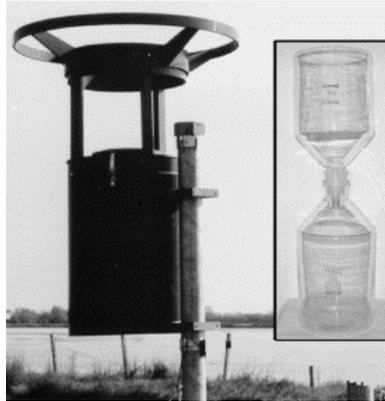


Figure I-16. Collecteur de dépôts totaux destiné à l'étude des composés organiques persistants : un entonnoir (\varnothing 23,4 cm) en verre Pyrex® est raccordé à une bouteille en verre Pyrex® de 2 L (Guerzoni *et al.*, 2004)

Les surfaces des collecteurs sont variables : 430-3600 cm² pour les études répertoriées dans le [Tableau I-12](#). Elles ont été choisies en fonction de la pluviométrie et de la fréquence d'échantillonnage, mais également des applications (surface élevée si échantillon utilisé pour plusieurs analyses de polluants en parallèle).

La majorité des études répertoriées dans la littérature ont été réalisées sur une durée d'un an afin de pouvoir tenir compte de la variabilité saisonnière des dépôts et d'évaluer les flux atmosphériques annuels de polluants. La fréquence d'échantillonnage est variable : d'une semaine à un mois, les échantillons mensuels étant les plus fréquents.

Dans la plupart des études de HAP dans les dépôts, les collecteurs sont rincés afin de récupérer les dépôts secs présents à la surface du collecteur. Le rinçage est généralement réalisé avec de l'eau ultra-pure puis parfois avec un ou plusieurs solvants (acétone, hexane, méthanol). Des conditions plus drastiques avec des solvants de différentes polarités sont souvent mises en œuvre lorsque les dioxines et les furanes sont analysés en parallèle. Le nettoyage des collecteurs entre deux échantillonnages peut également être opéré en essuyant l'entonnoir avec un coton ou tissu propre.

Dans toutes les études, les échantillons sont conservés à 4 °C dans l'obscurité. Afin d'éviter l'adsorption des composés organiques durant le stockage (même avec un contenant en verre), il est possible d'ajouter un solvant dans l'échantillon avant stockage. Pour l'analyse de l'eau destinée à la consommation humaine, il est conseillé d'ajouter de l'isopropanol (10% (v/v)) (Pensado *et al.*, 2004). Ce traitement pourrait être transposé aux dépôts totaux.

I.3.2. LES MOUSSES

Les protocoles d'échantillonnage des mousses sont relativement plus faciles à mettre en œuvre que ceux des dépôts. En effet, aucun dispositif technique n'est utilisé pour l'échantillonnage passif des bryophytes et le dispositif technique est facile à mettre en œuvre dans le cas d'un échantillonnage actif. Cependant, afin d'avoir des échantillons représentatifs et significatifs, il faut suivre un certain nombre de préconisations.

I.3.2.1. Prélèvement des mousses

Les études internationales de biosurveillance passive des dépôts de métaux lourds sont menées tous les 5 ans depuis 1990 sous l'égide du programme PIC-Végétation de la CEE-ONU. Un manuel a été réalisé afin que tous les collaborateurs suivent le même protocole d'échantillonnage. Il a été réactualisé en 2010 (ICP-Vegetation, 2010). Les principaux points sont les suivants :

- ❖ Afin d'étudier la pollution de fond, il faut que les sites choisis soient en zones non-urbaines. D'autre part, afin d'éviter les contaminations directes, les mousses doivent être prélevées à plus de 300 m des routes principales et des zones habitées, et à plus de 100 m des routes secondaires et des maisons isolées.
- ❖ L'échantillonnage doit être réalisé au niveau de zones découvertes, ou le cas échéant au niveau de clairières en forêt (au minimum à 3 m de la canopée la plus proche). Si les mousses recherchées sont situées uniquement sous la canopée, il faut choisir des zones non influencées par les ruissellements de troncs et prélever préférentiellement des échantillons qui poussent sur le sol ou les souches d'arbres (croissance à l'horizontale).
- ❖ Si l'échantillonnage est réalisé dans des prairies ou des tourbières, il faut éviter de prélever les mousses sous les buissons et les herbes à feuilles larges, ainsi que sur des zones à forte pente où l'eau risque de s'écouler.
- ❖ En zone montagneuse, il faut prélever les mousses sous la limite de la flore arborescente pour éviter de biaiser les mesures par l'influence de l'altitude.

- ❖ Réaliser des échantillons composites constitués de 5 à 10 sous-échantillons, ramassés si possible sur une zone de 50 x 50 m.
- ❖ Placer les échantillons côte à côte dans des sachets en papier ou en plastique, à fermer avec précaution pour éviter toute forme de contamination durant le transport.
- ❖ Ne pas fumer durant l'échantillonnage et porter des gants.

Certaines études présentées dans la littérature présentent cependant des protocoles d'échantillonnage plus drastiques :

- ❖ Afin de réduire la variabilité spatiale lors du prélèvement, les échantillons composites peuvent être constitués d'un minimum de 30 sous-échantillons prélevés sur un site d'une surface située entre 20x20 et 50x50 m (Fernandez *et al.*, 2002 ; Aboal *et al.*, 2006).
- ❖ Pour réaliser un suivi en milieu rural, des mousses ont été prélevées à un minimum de 10 km des sources d'émission fixes et à plus de 1 km des routes bitumées (Gerdol *et al.*, 2002b). Dans cette même étude, les mousses ont été prélevées à plus de 2 m au-dessus du sol afin d'éviter les contaminations dues aux éclaboussures d'eau de pluie et à la poussière issue du sol.

I.3.2.2. Préparation des mousses

L'échantillonnage nécessite une préparation des mousses au laboratoire (séchage, tri et broyage). Le manuel du PIC-Végétation donne également des directives concernant ce travail :

- ❖ Des précautions particulières doivent être prises afin d'éviter de contaminer les échantillons par la fumée ou les paillasses des laboratoires. Le matériel doit être manipulé avec des gants sur du papier de laboratoire vierge, ou sur des plaques de verre ou de polyéthylène propres.
- ❖ Les échantillons peuvent être séchés à l'étuve à 40 °C pendant 48 h ou alors soumis à une lyophilisation.

- ❖ Les résidus de plantes et de particules de sol sont retirés manuellement. Les segments apicaux, représentant les trois dernières années de croissance et de couleur verte ou vert brunâtre, sont séparés des pousses. Les pousses marron ne sont jamais gardées, même si elles correspondent à des segments de moins de trois ans.
- ❖ Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante jusqu'à l'analyse.

Toutefois, le manuel est applicable aux échantillons destinés à l'analyse des métaux lourds et de l'azote. Des précautions particulières doivent être prises afin d'éviter les pertes des composés semi-volatils lors du séchage ou du stockage (Tableau I-13).

Tableau I-13. Protocoles de séchage et de stockage d'échantillons de mousses et de lichens destinés à l'analyse des HAP

Référence	Séchage	Stockage
(Holoubek <i>et al.</i> , 2000)	A température ambiante avec de l'air soufflé	NC
(Migaszewski <i>et al.</i> , 2002)	A température ambiante	Bocaux en verre ambré -10 °C
(Gerdol <i>et al.</i> , 2002b)	40 °C – 72 h	NC
(Guidotti <i>et al.</i> , 2003) ^a	40 °C – 48 h	NC
(Ötvös <i>et al.</i> , 2004)	NC	Congélation
(Liu <i>et al.</i> , 2005)	A température ambiante Pièce avec "conditionneur d'air"	NC
(Zechmeister <i>et al.</i> , 2006) (Krommer <i>et al.</i> , 2007)	Lyophilisation	NC
(Blasco <i>et al.</i> , 2006) ^a (Blasco <i>et al.</i> , 2008) ^a	35 °C 3-4 jours	0-4 °C
(Galuszka, 2007)	NC	Température ambiante
(Ares <i>et al.</i> , 2009)	A température ambiante	NC

^a Etudes avec des lichens ; NC : Non communiqué

Le séchage des mousses se fait à température ambiante ou à un maximum de 40 °C, à l'obscurité et pendant une durée de plusieurs jours, ou alors par lyophilisation. Le séchage à température ambiante peut poser un problème si l'échantillon contient toujours une part importante d'humidité lors du traitement ultérieur (extraction avec un solvant non miscible avec l'eau par exemple). D'autre part, il est possible de perdre les composés les plus volatils lors du séchage à 40 °C ou par soufflage d'air. En revanche, la lyophilisation, qui permet la sublimation de l'eau contenue dans l'échantillon à des températures et des pressions très faibles, est une technique efficace (Markert, 1995).

L'étape terminale de préparation de l'échantillon consiste en un broyage de l'échantillon, nécessaire pour l'obtention d'un échantillon homogène et pour avoir de bons rendements d'extraction. Cette étape peut être réalisée de plusieurs manières :

- dans un broyeur contenant des lames en titane (Gerdol *et al.*, 2002b),
- dans un mixeur suivi d'un tamisage à 0,063mm (Galuszka, 2007),
- par ultracentrifugation (Ares *et al.*, 2009).

Enfin, les échantillons sont conservés à l'obscurité et, selon les études, soit à température ambiante, soit au réfrigérateur, soit au congélateur. Le protocole de Migaszewski *et al.* (2002) paraît plus rigoureux car les mousses sont conservées à -10 °C dans des bocaux en verre ambré fermés hermétiquement.

I.4. Procédures analytiques de quantification des HAP

Avant l'introduction dans le dispositif analytique, un processus de traitement des échantillons est nécessaire afin de transférer les analytes d'intérêt de leur milieu d'origine (matrice de l'échantillon) vers une forme appropriée pour l'analyse. Le traitement de l'échantillon permet également de concentrer les composés ciblés ainsi que de les séparer d'éventuelles molécules interférentes présentes dans la matrice.

I.4.1. EXTRACTION DES HAP DES DIFFÉRENTES MATRICES

I.4.1.1. Extraction des dépôts liquides et totaux

Pour l'extraction des HAP contenus dans les dépôts liquides ou les dépôts totaux, plusieurs techniques ont déjà été utilisées parmi lesquelles l'extraction liquide-liquide (LLE), l'extraction sur phase solide (SPE) et la micro-extraction sur barreau (SBSE). D'autres techniques de micro-extraction développées pour l'analyse des HAP dans l'eau destinée à la consommation humaine sont également susceptibles d'être applicables aux dépôts liquides ou totaux : la micro-extraction sur phase solide (SPME), l'extraction par solvant assistée par membrane et la micro-extraction liquide-liquide dispersive par liquide ionique (Tableau I-14).

Les dépôts atmosphériques contiennent deux phases : une phase aqueuse contenant les composés recherchés sous forme dissoute et une phase particulaire contenant les composés ciblés adsorbés ou absorbés. Une étape de filtration permet de séparer les particules en suspension qui peuvent être étudiées au moyen de dispositifs d'extraction en phase solide (Ultrasons, Micro-ondes...). Cette étape de filtration est généralement réalisée avant l'extraction des HAP de la phase dissoute des dépôts par SBSE ou SPE (Popp *et al.*, 2001 ; Carrera *et al.*, 2002 ; Barrek *et al.*, 2009). Le LCSQA ne préconise pas de filtrer les échantillons de dépôts totaux avant de réaliser l'extraction des HAP par LLE (Leoz-Garziandia, 2004).

Tableau I-14. Techniques d'extraction et de micro-extraction appliquées aux dépôts humides, aux dépôts totaux ou à l'eau destinée à la consommation humaine pour la détermination de leurs teneurs en HAP

Technique d'extraction	Nom abrégé	Références
Extraction liquide-liquide <i>Liquid-Liquid Extraction</i>	LLE	(Manoli <i>et al.</i> , 2000 ; Garban <i>et al.</i> , 2002 ; Motelay-Massei <i>et al.</i> , 2003 ; Esen <i>et al.</i> , 2008)
Extraction sur phase solide <i>Solid Phase Extraction</i>	SPE	(Carrera <i>et al.</i> , 1998 ; Gryniewicz <i>et al.</i> , 2002 ; Huang <i>et al.</i> , 2009)
Micro-extraction sur barreau <i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>	SBSE	(Popp <i>et al.</i> , 2001 ; Bourdat-Deschamps <i>et al.</i> , 2007)
Micro-extraction sur phase solide <i>Solid Phase Micro-Extraction</i>	SPME	(Doong <i>et al.</i> , 2000 ; Popp <i>et al.</i> , 2003 ; Hii <i>et al.</i> , 2009),
Extraction par solvant assistée par membrane <i>Membrane Assisted Solvent Extraction</i>	MASE	(Rodil <i>et al.</i> , 2007 ; Prieto <i>et al.</i> , 2008)
Micro-extraction liquide-liquide dispersive par liquide ionique <i>Ionic Liquid based Dispersive Liquid-Liquid Micro-Extraction</i>	IL-DLLME	(Pena <i>et al.</i> , 2009).

Les méthodes d'extraction les plus courantes telles que la LLE, la SPE, la SBSE et la SPME vont être présentées puis comparées afin de faire émerger les avantages et les inconvénients de chacune d'elles.

1.4.1.1.1. Extraction liquide-liquide (LLE)

L'extraction liquide-liquide est l'une des techniques de préparation d'échantillons les plus classiques. Elle permet par un procédé physique d'extraire des classes de composés (soluté) de la matrice (éluant) dans laquelle ils sont solubilisés. L'extraction est réalisée au

moyen d'une ampoule à décanter par addition d'un solvant apolaire non miscible à l'eau. Le mélange obtenu permet d'obtenir l'extrait (solvant d'extraction riche en soluté) et le raffinat (éluant appauvri en solutés). Après agitation et décantation, la fraction organique est récupérée puis séchée avec un adsorbant afin d'éliminer l'eau résiduelle. Multiplier les étapes d'extraction permet d'épuiser l'éluant en solutés au profit d'un enrichissement de l'extrait. Cet extrait est ensuite évaporé pour augmenter la concentration en composés d'intérêt dans le solvant d'extraction.

Dans la pratique, l'extraction liquide/liquide reste la méthode de préparation de l'échantillon la plus utilisée, car elle est simple à mettre en œuvre et donne des résultats fiables. C'est pour cette raison que la norme européenne NF EN ISO 17993 de juillet 2004 (nommée *Qualité de l'eau – Dosage de 15 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) dans l'eau par HPLC avec détection par fluorescence après extraction liquide-liquide*) préconise cette technique pour les analyses des HAP dans l'eau potable, les eaux souterraines, les eaux de surface, et avec certaines modifications pour l'analyse des eaux usées. Le protocole d'extraction liquide-liquide utilisé dans la norme consiste à réaliser une extraction avec 25mL de n-hexane pendant 60 min sur un volume d'échantillon de 1L. L'extrait est ensuite séché sur du sulfate de sodium pendant au moins 30 min, en agitant fréquemment. Le rendement est calculé à l'aide de solutions de référence par la méthode des ajouts dosés (> 95% afin d'éviter les facteurs de correction). Le LCSQA préconise l'application de ce protocole pour l'analyse des HAP dans les dépôts totaux (Leoz-Garziandia, 2004).

Le Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec propose également un protocole de détermination des HAP dans l'eau potable, les eaux souterraines et les eaux de surface par extraction liquide-liquide au dichlorométhane (CEAEQ, 2006). Pour cela, trois extractions successives avec 100 mL de solvant pendant 2 min sont réalisées dans une ampoule à décanter de 2 L en verre ou Teflon®. Le séchage se fait avec du sulfate de sodium. Un étalon d'extraction est introduit avant l'extraction.

Les applications d'extraction liquide/liquide aux dépôts liquides ou totaux ont été réalisées sur des volumes d'échantillon de 250 mL à 1 L. Les solvants employés sont le n-hexane ou un mélange de n-hexane/dichlorométhane (75:25 ou 85:15, v/v). Une à trois extractions successives sont mises en place avec 20 à 150 mL de solvant selon les études (Manoli *et al.*, 2000 ; Garban *et al.*, 2002 ; Motelay-Massei *et al.*, 2003 ; Holoubek *et al.*, 2007a).

1.4.1.1.2. Extraction sur Phase Solide (SPE)

L'extraction sur phase solide est fondée sur la distribution des composés ciblés entre une phase solide (adsorbant) et une phase liquide (échantillon). La procédure d'extraction peut être réalisée de deux manières : par élimination directe des interférents sur le support (cas 1) ou par une élution sélective des composés cibles (cas 2). Dans les deux cas, l'adsorbant contenu dans la cartouche d'extraction est conditionné, ce qui permet de mouiller le support en solvantant les groupements fonctionnels présents à sa surface. Ensuite, on procède à la percolation de l'échantillon sur le support :

- ➔ **Cas 1** : Les interférents ayant une forte affinité pour la phase solide sont retenus sur le support et les molécules n'ayant aucune affinité avec la phase solide sont récupérées dans l'échantillon purifié pour analyse.
- ➔ **Cas 2** : Les molécules cibles et les interférents présentant une forte affinité avec l'adsorbant sont fixées sur le support. Une étape supplémentaire de lavage peut être effectuée de manière à éliminer les composés interférents faiblement retenus par le support. On choisit de ce fait un solvant de faible force éluante de façon à éluer les interférents tout en gardant fixés les composés d'intérêt. Enfin, on procède à l'élution des composés ciblés en faisant percoler un solvant spécifiquement choisi pour rompre les interactions mises en jeu entre les analytes d'intérêt et le support solide en évitant, dans la mesure du possible, d'éluer des composés interférents fortement retenus sur le support (Figure I-17).

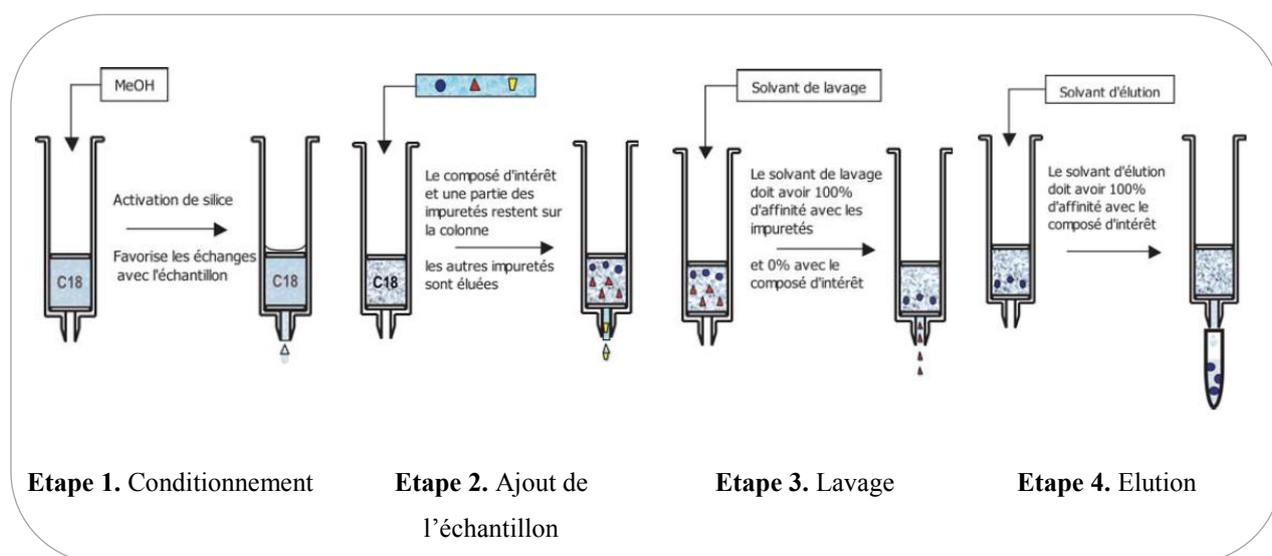


Figure I-17. Exemple de procédure d'extraction par SPE sur cartouche C₁₈

La polarité des supports d'extraction est choisie en fonction de la matrice de l'échantillon et de la nature des analytes à étudier. Pour l'extraction des HAP présents en phase aqueuse, des phases inverses de type C₁₈ ou des phases polymériques inverses (par exemple Strata-X) peuvent être utilisées (Carrera *et al.*, 1998 ; Gryniewicz *et al.*, 2002 ; Holoubek *et al.*, 2007a ; Barrek *et al.*, 2009). Différents conditionnements sont utilisés : les cartouches (Gryniewicz *et al.*, 2002) mais surtout les disques qui sont adaptés à des débits de percolation élevés (Carrera *et al.*, 1998 ; Holoubek *et al.*, 2007a ; Barrek *et al.*, 2009). Les extractions peuvent être réalisées sur des volumes de 100 mL à 10 L (Carrera *et al.*, 1998), mais les applications se limitent généralement à des volumes de 500 mL à 1 L (Gryniewicz *et al.*, 2002 ; Barrek *et al.*, 2009). L'élution est menée avec 6 à 15 mL de solvants de différentes polarités tels que l'acétonitile, le cyclohexane, le dichlorométhane, l'isopropanol, le méthanol et le pentane, généralement utilisés consécutivement ou mélangés (Carrera *et al.*, 1998 ; Gryniewicz *et al.*, 2002 ; Barrek *et al.*, 2009).

1.4.1.1.3. Micro-extraction sur barreau (SBSE)

La micro-extraction sur barreau est basée sur l'extraction par sorption de molécules dissoutes en phase aqueuse par un barreau magnétique recouvert d'un polymère (PDMS), ayant une forte affinité pour les composés apolaires (Figure I-18). Les composés ciblés par cette technique sont ceux ayant des coefficients de partage octanol/eau supérieurs à 1000 ($\log K_{ow} > 3$), ce qui est le cas des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA puisque, d'après le Tableau I.2, $\log K_{ow}$ est situé entre 3,37 et 6,58 pour NAP et IND respectivement.

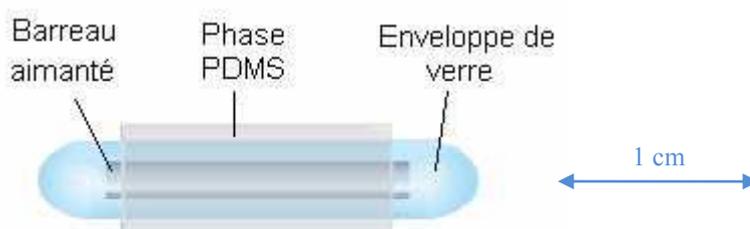


Figure I-18. Schéma d'un barreau de micro-extraction (*stir bar*)

Cette procédure est mise en œuvre par une première étape de conditionnement, suivie d'une étape d'extraction lors de laquelle le barreau est agité dans l'échantillon aqueux et enfin d'une étape de désorption des analytes. Le barreau peut être conditionné par des solvants ou par thermodésorption. Par exemple, Popp *et al.* (2001) et Popp *et al.* (2003) ont réalisé cette étape avec 1 mL de mélange dichlorométhane/méthanol (1:1, v/v) soumis pendant 5 min à des ultrasons, tandis que Prieto *et al.* (2008) ont placé le barreau dans un tube de désorption thermique à 300 °C pendant 4 h avec un flux d'hélium. Bourdat-Deschamps *et al.* (2007) ont validé un protocole drastique de conditionnement combinant des étapes d'agitation magnétique et d'ultrasons dans du dichlorométhane/méthanol (6:4, v/v) et de séchage à l'azote. L'extraction peut être réalisée sur des volumes réduits d'échantillon (10 - 20 mL). Des applications d'extraction des HAP de dépôts liquides par SBSE ont notamment montré des résultats satisfaisants pour Popp *et al.* (2001) et Bourdat-Deschamps *et al.* (2007) avec un volume de 10 mL. Cependant, pour obtenir de bons rendements et des limites de détection basses ($\sim \text{ng.L}^{-1}$), les paramètres d'extraction tels que le volume d'échantillon, la durée d'extraction, la température d'extraction et la vitesse d'agitation doivent être optimisés. La désorption est également une étape importante qui doit être optimisée (Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007). Comme pour le conditionnement, la désorption peut être effectuée par des solvants ou par thermodésorption. Par exemple, Popp *et al.* (2001) et Popp *et al.* (2003) ont désorbé les HAP aux ultrasons dans 150 μL d'acétonitrile/eau (4:1, v/v), tandis que Prieto *et al.* (2008) ont soumis les barreaux à une thermodésorption de 300 °C pendant 10 min. La désorption « liquide » est suivie généralement d'une analyse des HAP en chromatographie liquide avec détection par fluorescence (Popp *et al.*, 2001 ; Popp *et al.*, 2003 ; Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007). La désorption thermique est systématiquement suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

1.4.1.1.4. Micro-extraction en Phase Solide (SPME)

La micro-extraction en phase solide (ou Solid Phase Micro-Extraction) est une méthode d'extraction qui combine l'extraction, la concentration et l'injection dans un chromatographe en un seul processus. Cette technique d'extraction consiste à faire adsorber les analytes sur une fibre de silice recouverte d'un polymère approprié en la faisant plonger dans la solution. Une fois adsorbés sur la fibre, les analytes sont désorbés thermiquement dans un système d'injection de chromatographie en phase gazeuse ou par action d'un solvant pour l'injection en chromatographie liquide.

La SPME permet de traiter, en un temps relativement court, un grand nombre d'échantillons de faible volume (10-20 mL), et ce sans consommer de solvant (Doong *et al.*, 2000 ; Popp *et al.*, 2003 ; Hii *et al.*, 2009). Cependant une phase d'optimisation de la technique s'avère nécessaire pour déterminer les meilleurs paramètres d'extraction (type de fibre, mode d'extraction, température et durée d'extraction). D'autre part, après optimisation, Popp *et al.* (2003) ont obtenu des rendements d'extraction en HAP de 6-52% par SPME contre 20-97% par SBSE et des limites de détection par SPME environ 5 fois supérieures à celles obtenues par SBSE.

1.4.1.1.5. Comparaison des différentes techniques d'extraction

Afin de pouvoir choisir une technique d'extraction appropriée à l'étude des dépôts totaux, les avantages et les inconvénients des principales méthodes ont été répertoriés [Tableau I-15](#). Tout d'abord, les techniques d'extraction ou de micro-extraction sur phase solide sont efficaces sur la phase dissoute, mais éliminent la phase particulaire qui doit donc être analysée séparément après filtration de l'échantillon. L'avantage de l'extraction liquide-liquide est qu'elle permet par contact de solvant de désorber les HAP adsorbés aux particules. L'extraction liquide-liquide présente aussi l'attrait d'être simple à mettre en œuvre, surtout si l'on dispose d'un système d'agitation automatisé (Pensado *et al.*, 2004), et elle ne nécessite qu'une période courte d'optimisation. Cependant, cette technique nécessite un nettoyage rigoureux de la verrerie afin d'éviter la contamination des échantillons. D'autre part, elle consomme des volumes de solvants importants (20 - 300 mL par échantillon) qui sont coûteux à l'achat et lors de leur traitement après utilisation (solvants CMR nécessitant un traitement spécifique). Enfin, l'extraction liquide-liquide ne peut être réalisée que sur des volumes d'échantillons élevés (250 mL - 1 L).

La SPE permet quant à elle de réduire la consommation de solvants (6 - 15 mL) tout en conservant de bons rendements d'extraction et des limites de détection faibles. La SPE sur disques permet également d'accélérer la procédure de traitement de l'échantillon. Cependant, étant donné qu'elle est réalisée sur des volumes d'échantillon de 500mL à 1L, elle ne résout pas le problème des échantillons de faible volume. Lors de périodes avec de faibles précipitations, il est préférable de traiter les échantillons de dépôts par SBSE ou SPME, puisqu'on peut travailler sur des volumes de 10 - 20 mL.

Tableau I-15. Comparaison des différentes techniques d'extraction de HAP appliquées aux échantillons d'eau

Méthode d'extraction	Avantages	Inconvénients
LLE	Technique simple Peu d'optimisation nécessaire Bons rendements d'extraction – Limites de détection faibles	Besoin de solvants organiques inflammables et toxiques Volume élevé de solvants Application à des volumes d'échantillon élevés (> 250 mL) Possibilité de pertes d'analytes ou de contamination (verrerie)
SPE	Rapide Bons rendements d'extraction – Limites de détection faibles Volume de solvant réduit	Nécessité d'une filtration au préalable de la phase particulaire Besoin de solvants organiques inflammables et toxiques Application à des volumes d'échantillon élevés (> 250 mL)
SBSE	Volume de solvant réduit (ou néant si thermodesorption) Faibles volumes d'échantillon Méthode peu coûteuse (barreaux reconditionnés)	Nécessité d'une filtration au préalable de la phase particulaire Besoin de solvants organiques inflammables et toxiques Protocole drastique de conditionnement des barreaux Optimisation longue
SPME	Pas besoin de solvants organiques Faibles volumes d'échantillon Possibilité d'être utilisé pour tous les types d'échantillons	Nécessité d'une filtration au préalable de la phase particulaire Rendements d'extraction faibles – Limites de détection élevés Optimisation longue

La méthode de micro-extraction par SBSE est également moins consommatrice de solvants, et lorsque le conditionnement et la désorption sont réalisés par thermodésorption sa consommation de solvants est nulle. La SPME présente également l'avantage de ne pas nécessiter de solvants. Par contre, à l'heure actuelle la SPME montre pour l'analyse des HAP des rendements trop faibles et des limites de quantification trop élevées, tandis que la SBSE montre des résultats satisfaisants. Toutefois, la mise en œuvre des techniques de micro-extraction est délicate et nécessite un temps important d'optimisation.

I.4.1.2. Extraction des mousses et autres matrices végétales

Plusieurs techniques d'extraction liquide-solide peuvent être utilisées afin d'extraire les composés traces organiques des matrices végétales. Des méthodes d'extraction par Soxhlet et par Soxtec, d'extraction assistée par ultrasons (*Ultrasound-Assisted Extraction*, UAE), d'extraction par liquide pressurisé (*Pressurized Liquid Extraction*, PLE) ou d'extraction assistée par micro-ondes (*Microwave-Assisted Extraction*, MAE) ont déjà été mises en œuvre. Dans tous les cas, des HAP deutérés commerciaux sont ajoutés avant l'extraction afin de déterminer le rendement de cette dernière.

La technique la plus courante est l'extraction par Soxhlet. Le solvant est chauffé dans un ballon puis condensé dans un réfrigérant, faisant macérer l'échantillon placé dans une cartouche en cellulose à l'intérieur de l'extracteur. Les applications aux mousses et aux lichens sont réalisés avec 2 à 5 g d'échantillon extraits pendant 8 à 24 h (1 à 3 extractions par jour) avec du *n*-hexane, du dichlorométhane ou de l'acétonitrile (Holoubek *et al.*, 2000 ; Zechmeister *et al.*, 2006 ; Krommer *et al.*, 2007 ; Shukla et Upreti, 2009 ; Augusto *et al.*, 2010).

Le Soxtec est une autre technique qui fonctionne sur le principe du Soxhlet tout en permettant des extractions plus rapides (gain de temps d'au moins 20%), économiques (volumes réduits) et sécurisées (découplage des unités d'extraction et de chauffage). Migaszewski *et al.* (2002) ont utilisé un Soxtec pour réaliser des extractions au dichlorométhane de HAP et de phénols de plusieurs matrices végétales (feuilles d'arbres caduques, aiguilles de pin, mousses et lichens) prélevés en 2000 sur des sites montagneux en Pologne.

Les extractions réalisées avec les techniques classiques ne fournissent pas suffisamment d'énergie pour libérer les analytes rapidement de la matrice végétale. Elles consomment donc beaucoup de solvant et sont longues à réaliser. C'est pour cette raison que des techniques telles que l'extraction UAE, PLE et MAE se sont développées.

L'UAE peut être de deux types : statique ou dynamique. Dans le premier cas, l'échantillon est placé dans un bain à ultrasons à l'intérieur d'un flacon contenant le solvant d'extraction. Les HAP sont extraits d'échantillons de 2 à 5 g de mousse ou de lichen pendant 30 min avec 30 à 200 mL de solvant : cyclohexane, *n*-hexane ou *n*-hexane/acétone (1:1, v/v) (Gerdol *et al.*, 2002b ; Guidotti *et al.*, 2003 ; Ötvös *et al.* (2004)). Afin d'augmenter la récupération des composés recherchés, Ötvös *et al.* (2004) ont réalisé 2 extractions successives avec 100 mL de solvant. Les extractions statiques par ultrasons sont faciles à mettre en œuvre. Par contre, elles ne consomment généralement pas moins de solvant que les techniques classiques.

Dans le cas de l'UAE dynamique, l'échantillon est introduit dans une cellule placée au bain à ultrasons et parcourue par un flux continu de solvant (Domeño *et al.*, 2006). Ainsi des études de lichens ont pu être réalisées par Blasco *et al.* (2006, 2008) avec 1 à 1,5 g de lichen parcouru par un débit de 0,2 mL.min⁻¹ de *n*-hexane pendant 5 min. Cette technique a l'avantage d'être 6 fois plus rapide que la méthode statique. De plus, elle donne des résultats équivalents à l'UAE statique avec une masse d'échantillon 2 à 3 fois plus faible. Cependant, elle nécessite un appareillage spécifique et n'est pas automatisée.

La PLE et la MAE nécessitent aussi l'achat d'un appareil spécifique. Dans le cas de la PLE, aussi nommée dans la littérature extraction sous fluide pressurisé (*Pressurized Fluid Extraction*, PFE) ou extraction accélérée par solvant (*Accelerated Solvent Extraction*, ASE, marque déposée par Dionex®), l'échantillon est introduit dans des cellules en acier inoxydable insérées dans un dispositif automatisé. Les cellules sont soumises à des pressions élevées, ce qui permet de réaliser l'extraction à des températures élevées (supérieures au point d'ébullition des solvants à pression ambiante) tout en gardant l'échantillon sous forme liquide. La matrice est ainsi imprégnée d'un solvant à haute température. L'extraction est donc beaucoup plus rapide et nécessite moins de solvant que les techniques classiques réalisées à pression atmosphérique. Par exemple, Liu *et al.* (2005) ont réalisé des extractions sur 5 g de mousses soumis à une PLE avec un mélange dichlorométhane/acétone (1:1, v/v) soumis à une pression de 150 bar et chauffé à 100 °C pendant 2 cycles statiques de 5 min (précédés de 5 min

de préchauffage). Ainsi une réaction est réalisée en environ 15 min, ce qui permet de faire jusqu'à 96 extractions par jour. D'autre part, le système étant automatisé, il est possible de réaliser 24 extractions successives sans intervention de l'opérateur.

Enfin, la MAE peut également être utilisée : les échantillons sont introduits dans des tubes en PTFE avec le solvant d'extraction puis placés sur un carrousel dans un four à micro-ondes. Par exemple, Ares *et al.*, 2009 ont réalisé des extractions micro-ondes pendant 30 min à 130 °C sur 0,6 à 0,8 g de mousses avec un mélange *n*-hexane/acétone (1:1, v/v). Ce système automatisé permet ainsi de réaliser simultanément jusqu'à 40 extractions en 30 min, ce qui peut permettre de réaliser jusqu'à 1920 extractions par jour. Cependant, contrairement aux autres méthodes d'extraction citées précédemment, la matrice et le solvant sont mélangés en fin de réaction. Une étape de filtration est donc nécessaire afin de récupérer l'extrait, ce qui complexifie la méthode et fournit une nouvelle source de perte ou de contamination d'échantillon. Ares *et al.* (2009) ont ainsi filtré 9 mL d'extrait par échantillon avec des filtres en fibres de verre (Ø 5,5 cm et épaisseur 0,36 mm).

I.4.2.TRAITEMENT DES EXTRAITS

I.4.2.1. Concentration

Les extraits organiques de dépôts atmosphériques et de mousses doivent être concentrés afin que les teneurs en composés à l'état de traces soient quantifiables par la technique analytique instrumentale. Pour des volumes importants (> 5 mL), on peut utiliser :

- un évaporateur rotatif : le solvant est légèrement chauffé sous vide,
- un Turbovap® : le solvant est évaporé sous un courant d'azote en spirale dans un appareil à température contrôlée.

Pour des volumes d'extraits de quelques mL, on peut utiliser directement un courant d'azote.

Le Turbovap® présente plusieurs avantages par rapport à l'évaporateur rotatif. Tout d'abord, il permet d'effectuer la concentration complète jusqu'à la quasi-sécheresse (0,1 mL). Dans le cas de l'évaporateur rotatif, l'extrait est obligatoirement transvasé afin que l'évaporation soit finalisée sous courant d'azote, ce qui augmente les sources de contamination des échantillons. De plus, le Turbovap® présente l'avantage de contenir des capteurs qui arrêtent l'évaporation automatiquement. Enfin, les extraits sont maintenus à une

température faible (25 °C) ce qui minimise la perte des composés volatils par rapport à l'évaporateur rotatif. Cet appareil a notamment été utilisé par Migaszewski *et al.* (2002) pour concentrer les extraits de mousses obtenus après extraction par Soxtec. Son utilisation reste cependant marginale à l'heure actuelle, probablement car il demande un investissement plus important que l'évaporateur rotatif.

Ainsi, la concentration par évaporateur rotatif puis par courant d'azote est utilisée dans la majorité des études de dépôts totaux et de mousses. La norme européenne NF EN ISO 17993 préconise d'ailleurs de concentrer les extraits hexaniques, obtenus après extraction liquide/liquide des échantillons aqueux, sous vide à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à environ 5 mL, puis de compléter l'évaporation jusqu'à obtenir un résidu sec sous courant d'azote, avant de reprendre le résidu dans 2 ml d'acétonitrile. Le Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec conseille également de concentrer les extraits de dépôts totaux à l'évaporateur rotatif puis de terminer sous un courant d'argon (CEAEQ, 2006). Il est précisé d'éviter d'évaporer à sec, mais plutôt de s'arrêter à quasi-sécheresse (0,1 - 0,2 mL), afin d'éviter la perte des HAP légers (2 ou 3 cycles aromatiques).

I.4.2.2. Purification

Le but de l'étape de purification est d'éliminer des composés non-désirés qui seraient co-extraits avec les composés traces organiques tels que des lipides, pigments, macromolécules organiques qui peuvent interférer dans la détermination et la quantification finale. Cette étape peut aussi conduire à une concentration de l'extrait.

Dans le cas des dépôts totaux, la matrice est peu chargée en molécules organiques et ne nécessite donc pas une purification avant analyse. Si toutefois l'extrait est coloré, la norme européenne NF EN ISO 17993 préconise de le purifier sur gel de silice (0,5 g minimum). Pour cela, l'adsorbant doit en premier lieu être nettoyé par 5 volumes d'un mélange de dichlorométhane/*n*-hexane, suivi par un conditionnement avec le même volume de *n*-hexane, sans laisser sécher. L'extrait hexanique, concentré préalablement à 0,5 mL, est alors transféré sur la silice. La fiole de réduction est rincée avec 500 µL d'hexane, ajoutés dans la colonne. Les HAP sont élués avec un mélange de dichlorométhane/hexane (1:1, v/v). Les cartouches disponibles dans le commerce contenant 0,5 g de silice nécessitent un volume d'au moins 3 mL du mélange dichlorométhane/hexane (1:1, v/v) pour l'éluion des HAP. L'éluat est

concentré sous un courant d'azote puis complété avec de l'acétonitrile. Le Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec utilise également du gel de silice pour purifier les extraits constitués par du dichlorométhane. Le conditionnement de 0,5 g de silice est réalisé avec deux portions successives de 2 mL de dichlorométhane et l'élution avec deux portions successives de 1,5 mL du même solvant (CEAEQ, 2006).

Pour ce qui est des matrices végétales, la purification est nécessaire, étant donné qu'elles contiennent de nombreuses molécules interférentes. Des extraits de lichens, soumis à différents types de phases : normales ($-\text{NH}_2$ et alumine), d'échange anionique et inverses, ont montré les meilleurs résultats pour les phases normales, notamment pour la phase polaire de silice greffée avec des fonctions $-\text{NH}_2$ (Blasco *et al.*, 2007). Dans cette étude là, le conditionnement a été réalisé avec du dichlorométhane et du *n*-hexane, le rinçage avec 0,5 mL de *n*-hexane et l'élution avec 2 mL de *n*-hexane/dichlorométhane (65:35, v/v). Dans la plupart des autres études de HAP dans les mousses, les purifications ont été réalisées avec des phases normales formées par des adsorbants polaires de type silice ou Florisil® (silicate de magnésium activé) (Ötvös *et al.*, 2004 ; Ares *et al.*, 2009). L'élution est systématiquement réalisée avec un mélange de solvants apolaires (*n*-hexane ou cyclohexane) et faiblement polaires (dichlorométhane) afin d'obtenir de bons taux de récupération de HAP.

I.4.3. MÉTHODES D'ANALYSE DES HAP

Les techniques analytiques adaptées à l'analyse des HAP sont la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP), associés respectivement à la spectrométrie de masse (SM) et à une détection par fluorimétrie/UV (FLD/UV).

La CLHP permet de séparer des composés à température ambiante, en utilisant une phase mobile de type acétonitrile-eau. La détection par fluorimétrie est une méthode plus sensible et plus sélective que la méthode par UV. Cependant tous les composés étudiés ne sont pas détectés en fluorescence (l'acénaphthylène est uniquement détecté en UV), ce qui explique l'utilisation des deux types de détecteurs. La norme européenne NF EN ISO 17993 préconise d'utiliser la CLHP associé à la fluorescence pour analyser 15 HAP dans les extraits obtenus après extraction liquide/liquide des échantillons aqueux. Cette norme est applicable à

des échantillons d'eau potable et d'eaux souterraines dont les concentrations en HAP sont supérieures à 5 ng.L⁻¹ (pour chaque composé individuel) et à des échantillons d'eaux de surface dont les concentrations sont supérieures à 10 ng.L⁻¹.

La méthode de chromatographie par CLHP couplée à la fluorescence/UV est donc largement reconnue et utilisée. Toutefois, les analyses par CPG-SM sont de plus en plus nombreuses car elles montrent de bons résultats en termes de sélectivité, de résolution et de sensibilité (Poster *et al.*, 2006). Ainsi, le Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec préconise l'utilisation de cette méthode d'analyse pour mesurer les HAP dans les extraits obtenus après extraction liquide/liquide d'échantillons d'eau (CEAEQ, 2006).

Les dosages s'effectuent généralement par étalonnage interne. Le principe repose sur l'ajout en quantité parfaitement connue et unique, dans tous les échantillons, d'une molécule qui sert de référence, appelée étalon interne. Celle-ci se comporte globalement de la même façon que les analytes et doit présenter les propriétés suivantes :

- ne pas se trouver dans l'échantillon,
- être distinguable des analytes cibles,
- avoir des propriétés physiques et chimiques proches.

Pour chaque composé trace, la méthode doit être validée conformément à la réglementation AFNOR XP T 90-210 de Décembre 1999. La gamme de linéarité avec la courbe d'étalonnage, la répétabilité de l'analyse, la reproductibilité de l'ensemble de la procédure analytique et les limites de détection et de quantification doivent ainsi être déterminés.

- ❖ Il est nécessaire de réaliser une courbe d'étalonnage pour doser la quantité totale de HAP contenus dans les différentes matrices étudiées. La quantification des composés à étudier doit être réalisée dans une zone de linéarité de la courbe d'étalonnage. Dans le but de déterminer cette zone de linéarité du détecteur, plusieurs solutions étalons sont préparées et injectées à différentes concentrations. Pour chaque HAP, la gamme de concentration correspond aux concentrations habituellement trouvées dans les échantillons environnementaux.
- ❖ Pour étudier la répétabilité de l'analyse, une solution faiblement concentrée en HAP est injectée dix fois en chromatographie. Elle s'exprime par l'écart-type en % et doit être inférieure à 20%.

- ❖ L'ensemble de la procédure doit être reproduite au moins 5 fois. La reproductibilité est exprimée par l'écart-type (en %) calculé sur la base des n répétitions. Elle doit être inférieure à 20% pour être validée.
- ❖ La limite de détection (LD) est définie comme étant la plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc, mais non certainement quantifiée. La limite de quantification (LQ) est la plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement. Les LD et LQ sont déterminées par l'étude du chromatogramme d'une solution faiblement concentrée en HAP. La LD peut être calculée comme étant égale à 3 fois le bruit de fond et la LQ comme égale à 10 fois le bruit de fond.

Tous les extraits doivent être stockés au froid (température inférieure à 4 °C) jusqu'à l'analyse afin d'éviter les pertes. Des blancs de laboratoire sont réalisés pour détecter d'éventuelles contaminations durant la procédure analytique. Ils doivent permettre de valider l'absence de HAP contaminants au sein des solvants utilisés et à la surface de la verrerie utilisée.

CHAPITRE II.

**ÉTUDE DES HAP DANS LES DÉPÔTS
TOTAUX ET LES MOUSSES :
DÉVELOPPEMENTS ANALYTIQUES**

If facts are the seeds that later produce knowledge and wisdom, then the emotions and the impressions of the senses are the fertile soil in which the seeds must grow.

Rachel Louise Carson (1907-1964)

A ce jour, les HAP sont dosés dans l'air ambiant, dans les retombées atmosphériques et dans les végétaux bioaccumulateurs, au moyen de plusieurs méthodes de traitement de l'échantillon et d'analyse que nous avons présentées dans le premier chapitre de synthèse bibliographique. Avant de mettre en œuvre des **études de terrain** afin de quantifier les variations spatio-temporelles des teneurs des dépôts totaux et des bryophytes en HAP (Chapitres III à V), il est nécessaire de choisir, d'optimiser et de valider les procédures analytiques qui seront utilisées sur les échantillons. Ce deuxième chapitre aborde ainsi l'**étude analytique** qui a été mise en œuvre au sein du Laboratoire de Chimie Agro-industrielle pour mesurer les concentrations en HAP dans les dépôts totaux et dans les mousses. **Le matériel et les méthodes** utilisés au laboratoire sont tout d'abord présentés, puis le **développement, l'optimisation et la validation des procédures analytiques** sont détaillés (Figure II-1). En particulier, la qualité de l'analyse par CLHP-FLD en termes de sensibilité, de linéarité et de répétabilité a été vérifiée, puis la reproductibilité et la précision des procédures analytiques ont été évaluées. Un autre point important abordé est l'estimation de l'influence du stockage des échantillons de dépôts totaux. Enfin, dans le but de définir une procédure analytique plus rapide et moins consommatrice de solvants, qui allie sélectivité et sensibilité pour les HAP, l'extraction par liquide pressurisé des HAP contenus dans les mousses a été optimisée par une approche multivariée et des purifications différentes ont été testées.

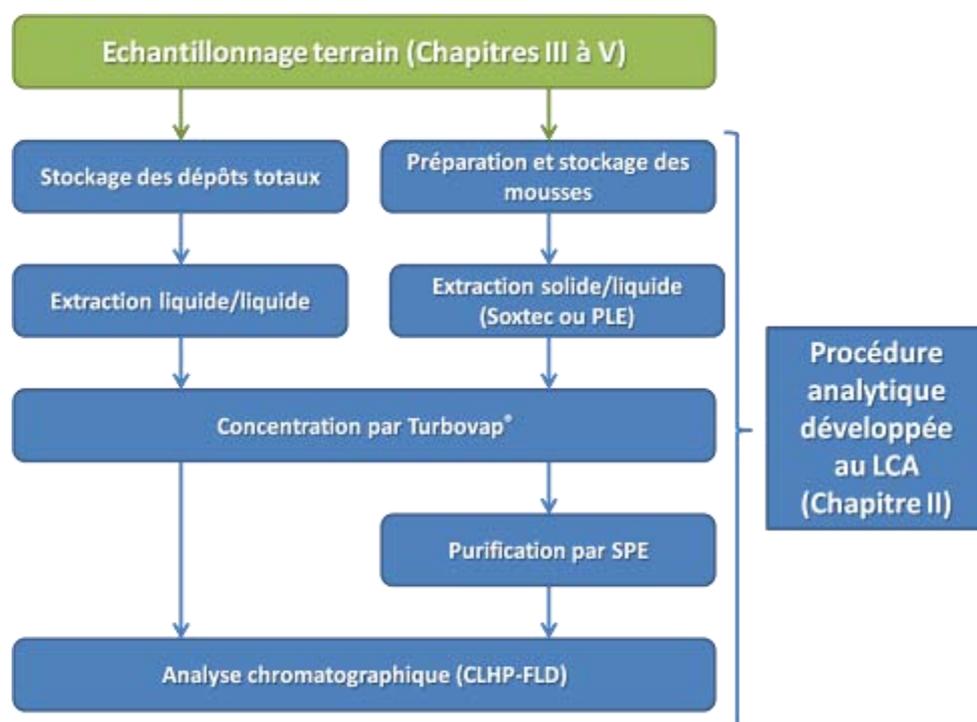


Figure II-1. Schéma représentant les étapes développées pour déterminer les teneurs en HAP dans les dépôts totaux et les mousses

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. SOLVANTS, RÉACTIFS ET ADSORBANTS

Les solvants utilisés pour l'ensemble des procédures analytiques sont de qualité spéciale pour l'analyse de traces. L'acétone, l'acétonitrile, le cyclohexane, le dichlorométhane (stabilisé avec 50 ppm d'amylène) et le *n*-hexane, de type « Multisolvent HPLC-grade ACS UV-VIS », sont fournis par VWR Scharlau (Espagne). L'eau Milli-Q est préparée par un système Millipore (VWR Millipore, France). Les propriétés de ces solvants sont présentées dans le [Tableau II-1](#). Des blancs ont été réalisés régulièrement afin de vérifier que ces derniers n'aient pas été contaminés après ouverture.

Tableau II-1. Propriétés des solvants utilisés

Solvant	CAS	Pureté ^a (%)	d^a (-)	T_f^b (°C)	T_e^b (°C)	μ^b (debye)	ϵ_r^b (-)
Acétone (C ₃ H ₆ O)	67-64-1	99,97	0,7905	-94,7	56,06	2,69 (liq)	20,9
Acétonitrile (C ₂ H ₃ N)	75-05-8	99,98	0,7820	-43,83	81,6	3,53	35,94*
Cyclohexane (C ₆ H ₁₂)	110-82-7	99,9	0,7785	6,72	80,73	-	2,02
Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂)	75-09-2	99,99	1,3257	-94,92	39,64	1,14 (liq)	8,93*
<i>n</i> -hexane (C ₆ H ₁₄)	110-54-3	99,3	0,6598	-95,32	68,74	0,08 (liq)	1,89

^a Données du fournisseur (VWR Scharlau, Espagne); ^b (Ferroud et Guy, 2007); CAS: nombre d'identification assignée par le Chemical Abstract Service; d : densité; T_f : température de fusion; T_e : température d'ébullition; μ : moment dipolaire mesuré entre 20 et 30 °C, (liq): mesuré pour le composé pur à l'état liquide (1 debye = 3,336.10⁻³⁰ C.m); ϵ_r : permittivité relative (ou constante diélectrique) à 20 °C (* ou à 25 °C).

Du Florisil® et du sulfate de sodium anhydre (U.S. Silica Company, USA) sont utilisés lors des extractions par solvant réalisées sur les mousses. Le Florisil® est un silicate de magnésium activé permettant d'adsorber les composés organiques susceptibles d'interférer lors de l'analyse des HAP, comme les pigments par exemple. Le sulfate de sodium anhydre est un agent de séchage des solutions organiques qui évite l'apparition d'une phase aqueuse lors de l'extraction.

Pour la purification des extraits de mousses par extraction en phase solide, différentes cartouches de SPE ont été testées : Supelclean LC-Florisil SPE 1 g/6 mL et Supelclean LC-Si SPE 1 g/6 mL de Supelco Analytical (Sigma-Aldrich, USA), ainsi que Strata NH₂ 1 g/6 mL et Strata Alumina-N 120 µm, 120 Å, 1 g/6 mL de Phenomenex (Le Pecq, France).

II.1.2. NETTOYAGE DU MATERIEL

Toute la verrerie utilisée a été préalablement nettoyée pendant 1 h dans un bac à ultrasons en présence d'un détergent hautement basique (Labwash Universal, VWR BDH Prolabo, USA) dilué à 5% dans de l'eau déminéralisée. Elle est ensuite rincée successivement à l'eau du robinet et à l'eau déminéralisée, puis séchée à l'étuve à 80 °C, avant d'être rangée dans des armoires propres enveloppée de papier aluminium. Avant utilisation, le matériel est rincé avec le solvant de la manipulation.

II.1.3. PRÉ-TRAITEMENT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

II.1.3.1. Les dépôts totaux

A l'arrivée des échantillons au laboratoire, le volume de dépôts totaux est évalué de façon gravimétrique. Les échantillons sont ensuite stockés sans pré-traitement (filtration ou ajout de composé). Étant donné que la durée de stockage des échantillons peut atteindre plusieurs semaines avant que ces derniers ne soient soumis à la procédure analytique, il a été décidé de les congeler à -20 °C. Pour cela, des volumes maximaux d'échantillon de 800 mL sont transvasés dans des flacons en polyéthylène (PE). Les pertes par adsorption lors du stockage sont évaluées dans ce chapitre.

Afin de pouvoir soumettre les échantillons à la procédure analytique, les flacons ont été décongelés durant 36 h à 4 °C puis 12 h à 20 °C.

II.1.3.2. Les mousses

Après prélèvement, les mousses sont stockées au congélateur à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans des sachets en polyéthylène. Afin de pouvoir préparer les échantillons pour la procédure analytique, les sachets congelés ont été placés pendant 48 h à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Des analyses de mousses avant et après stockage ont permis de vérifier l'absence de pertes de HAP durant le stockage.

La préparation consiste ensuite à trier les échantillons : après avoir éliminé les débris de litière, les segments apicaux sont récupérés à l'aide de ciseaux et de pinces en acier inoxydables propres. Les sections prélevées consistent en les pousses vertes ou vert-marron correspondant aux 3 dernières années de croissance. Ce travail est réalisé dans une pièce en surpression et à température et humidité constantes. Les mousses sont manipulées avec des gants sur du papier de laboratoire vierge. Les pousses triées sont placées dans des boîtes de Pétri en verre Duran® propres puis stockées à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La présence d'eau lors d'extractions menées avec des solvants apolaires peut empêcher la solvatisation de la matrice. Afin de s'assurer une élimination efficace de l'eau contenue dans les échantillons, ces derniers sont lyophilisés. Pour cela, les boîtes de Pétri sont placées à l'état congelé dans un lyophilisateur Alpha 2-4 LD (Martin Christ, Allemagne) (Figure II-2 a) puis soumis à des températures et des pressions très faibles pendant 24 h ($-87\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $< 0,01\text{ mPa}$ en fin de lyophilisation). Le lyophilisateur est recouvert de papier aluminium afin que les échantillons ne soient pas exposés aux rayons UV (afin d'éviter la photo-oxydation des HAP). L'aspect des échantillons triés et lyophilisés est présenté Figure II-2 b et c.

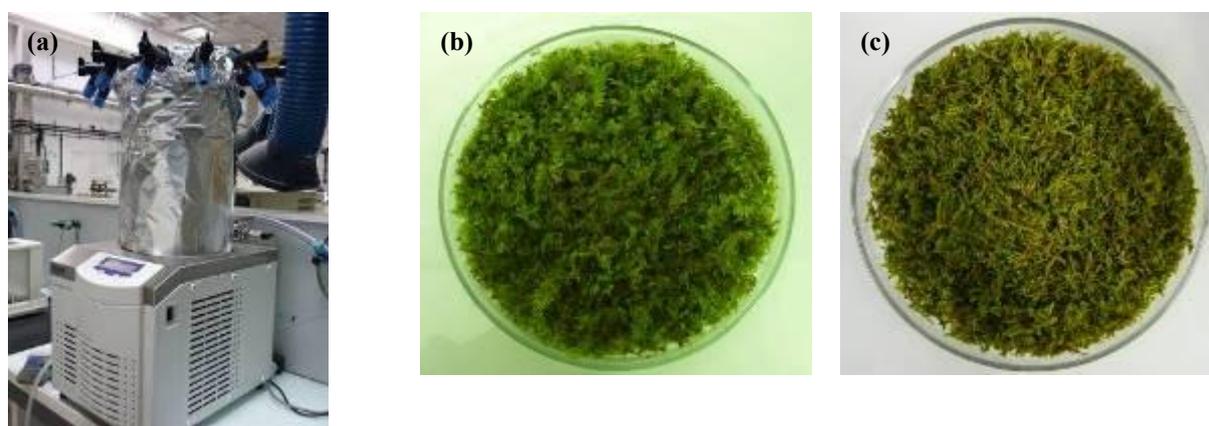


Figure II-2. Lyophilisation des échantillons de mousses : (a) Lyophilisateur Alpha 2-4 LD ; (b) *Isohetecium myosuroides* Brid. lyophilisé ; (c) *Hypnum cupressiforme* lyophilisé

Afin de réaliser l'extraction sur des échantillons homogènes et afin d'augmenter la surface de contact entre le solvant et la matrice lors de cette étape, les mousses lyophilisées sont préalablement broyées en une fine poudre dans un moulin électrique en acier inoxydable (Figure II-3 a,b). La segmentation d'images du broyat, obtenues en microscopie photonique (champ large 10x) au plateau technique IFR40, a permis d'évaluer la surface des particules. Environ 95% de ces dernières ont une surface inférieure ou égale à $2000 \mu\text{m}^2$. La granulométrie est donc en majorité inférieure à $50 \mu\text{m}$.

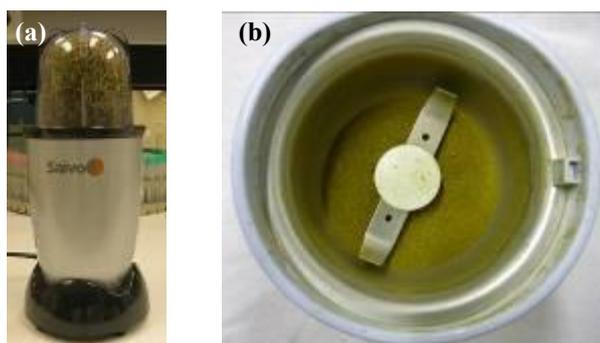


Figure II-3. Broyage des échantillons de mousses lyophilisées : (a) Broyeur de laboratoire ; (b) Broyat obtenu

Les mousses lyophilisées et broyées sont placées dans des flacons en verre ambré (avec des couvercles doublés de PTFE) puis stockées au congélateur à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ jusqu'à analyse.

II.1.4. EXTRACTION DES HAP DES ÉCHANTILLONS

II.1.4.1. Préparation d'étalons d'extraction

Afin d'évaluer le recouvrement des HAP lors de la réalisation de la procédure analytique, des composés deutérés sont utilisés : l'anthracène d_{10} (ANT d_{10}) et le benzo(a)pyrene d_{12} (B(a)P d_{12}) à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans l'acétonitrile (LGC Standards, Royaume-Uni). Ces molécules ont été choisies car elles ont des propriétés physico-chimiques proches de celles des molécules à doser : elles subissent la même perte lors des différentes étapes de la procédure analytique. ANT d_{10} a été pris comme référence pour la fraction HAP légère (NAP à PYR) et B(a)P d_{12} pour la fraction HAP lourde (CHR à IND). La limite entre les deux fractions a été fixée à partir de la constante de Henry K_H à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (Tableau I-2). Une solution fille à 300 ng.mL^{-1} dans l'acétonitrile est préparée afin de doper les échantillons avant l'étape d'extraction.

II.1.4.2. Extraction des HAP des dépôts totaux

Les échantillons collectés sur des périodes de 15 jours ont été mélangés lors de l'extraction afin de travailler sur des échantillons moyens mensuels. Cela permet de disposer d'échantillons de volumes plus élevés et peut éviter d'avoir des teneurs en HAP non quantifiables.

Les extractions sont réalisées dans des ampoules à décanter de 2 L en Teflon[®] avec un agitateur automatique Agitelec AG (Grosseron, France) (Figure II-4). Les échantillons sont dopés avec 150 µL de la solution fille d'étalons d'extraction, soit environ 45 ng d'ANT d₁₀ et de B(a)P d₁₂. Les extractions sont réalisées avec 50 mL de *n*-hexane pendant 10 min. Après décantation et séparation, la phase aqueuse inférieure est récupérée dans les flacons en PE utilisées préalablement pour stockées les échantillons et la phase organique a été versée dans des flacons en PE neufs et propres. La phase aqueuse est ensuite reversée dans l'ampoule à décanter et soumise à nouveau à une extraction avec 50 mL de *n*-hexane. Cette procédure est répétée à 3 reprises afin d'augmenter les rendements. Le choix du type et du volume de solvant ainsi que la durée d'extraction a été basé sur les normes et les études présentées dans le paragraphe I.4.1.1.1..

Les phases organiques sont récupérées dans le même flacon, qui est ensuite placé au congélateur à -20 °C pour une durée supérieure à 2 h. Étant donné que le *n*-hexane reste à l'état liquide à -20 °C (température de fusion : -94 °C, Tableau II-1), les résidus d'eau sont éliminés sous forme de glace lors d'une filtration de l'extrait congelé sur un lit de coton hydrophile. Afin d'éviter une contamination due au coton, ce dernier est rincé préalablement avec du *n*-hexane à 4 °C.



Figure II-4. Extraction de dépôts totaux réalisée dans des ampoules de 2 L en teflon[®] à l'aide d'un agitateur Agitelec AG

II.1.4.3. Extraction des HAP des mousses

II.1.4.3.1. Extraction par Soxtec

Des extractions ont été réalisées avec le Soxtec System HT 1045 (Tecator, France) (Figure II-5 a). Cet appareil est composé de deux parties : un bain d'huile et une unité comprenant deux plaques chauffées par l'huile, surmontée d'un système de fixation pour la cartouche et d'un système de réfrigération. Des cartouches en cellulose (Supelco Analytical, Sigma-Aldrich, USA) sont remplies de 0,75 g de sulfate de sodium anhydre et 0,75 g de Florisil[®], puis avec 1,5 g d'échantillon de mousse lyophilisée dopé avec 150 µL de la solution fille d'étalons d'extraction, soit environ 50 ng d'ANT d₁₀ et de B(a)P d₁₂. Les cartouches sont soumises à des extractions en 2 étapes. Tout d'abord, pendant deux heures elles sont immergées dans 100 mL de *n*-hexane à ébullition (mode « ébullition »). Ensuite, la cartouche est élevée au dessus du solvant, toujours à ébullition, et laissée une heure dans cette position afin que l'échantillon soit rincé par le solvant condensé (mode « rinçage ») (Figure II-5 b). Le refroidissement est maintenu durant 30 min après arrêt du chauffage du bain d'huile afin d'éviter les pertes d'extrait.

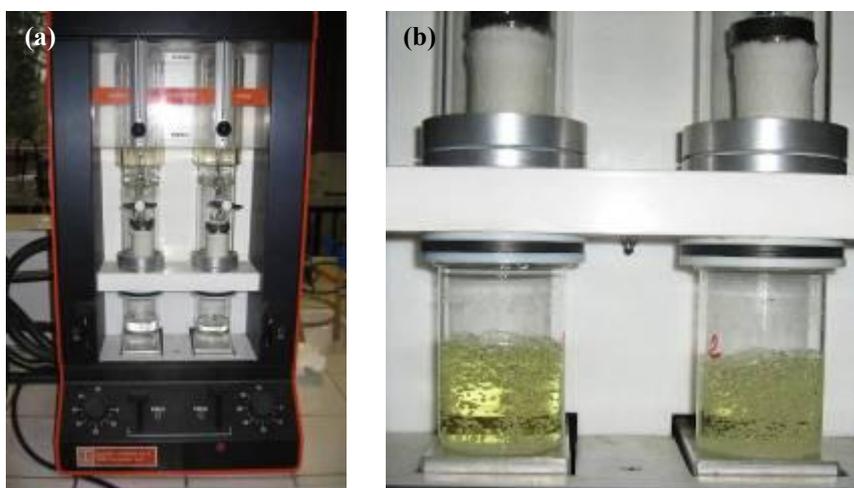


Figure II-5. Soxtec System HT2 (Tecator, France) en cours d'utilisation en mode « rinçage » : (a) Dispositif d'extraction ; (b) Extraits de mousses en fin d'extraction

Le solvant et la durée d'extraction ont été choisis à partir d'une étude antérieure menée au laboratoire ayant optimisé l'extraction par Soxtec de polluants organiques persistants des matrices végétales (Sablayrolles, 2004). Ainsi, après validation, l'extraction par Soxtec a été choisie comme méthode de référence pour l'extraction des HAP contenus dans les mousses.

II.1.4.3.2. Extraction par liquide pressurisé (PLE)

Une technique d'extraction rapide et automatisée a été développée dans un deuxième temps : l'extraction par liquide pressurisé, nommée dans la littérature *Pressurized Liquid Extraction* (PLE). Grâce à une mise sous pression du solvant, le système permet de travailler jusqu'à des températures de 200 °C tout en maintenant le solvant à l'état liquide. A haute température, la désorption des analytes de la matrice ainsi que la solubilisation et la diffusion des analytes dans le solvant sont intensifiées. D'autre part, la viscosité du solvant diminue, ce qui lui permet de pénétrer plus profondément dans la matrice et donc d'augmenter le transfert de matière (Björklund *et al.*, 2000).

Le dispositif utilisé est l'ASE 200 (Dionex, USA) (Figure II-6a). Les études sont menées en mode statique selon les étapes suivantes :

- **Pré-extraction** : le solvant est pompé dans une cellule en acier inoxydable de 11 mL contenant la matrice à extraire. La cellule est mise sous pression avec de l'azote et est chauffée dans un four (pression et température régulées électroniquement).
- **Extraction statique** : la pression et la température sont maintenues durant une durée déterminée (temps d'extraction statique). Plusieurs étapes d'extraction consécutives peuvent être réalisées (cycles d'extraction statique).
- **Rinçage et purge** : les extraits sont transférés dans des vials de collecte de 60 mL munis de bouchons contenant des septa ASE Ultralow Bleed Septa (Dionex, USA) alors que l'échantillon est rincé par du solvant d'extraction frais. La cellule est ensuite purgée avec de l'air comprimé. Un exemple d'extraits obtenus est présenté en Figure II-6 b.

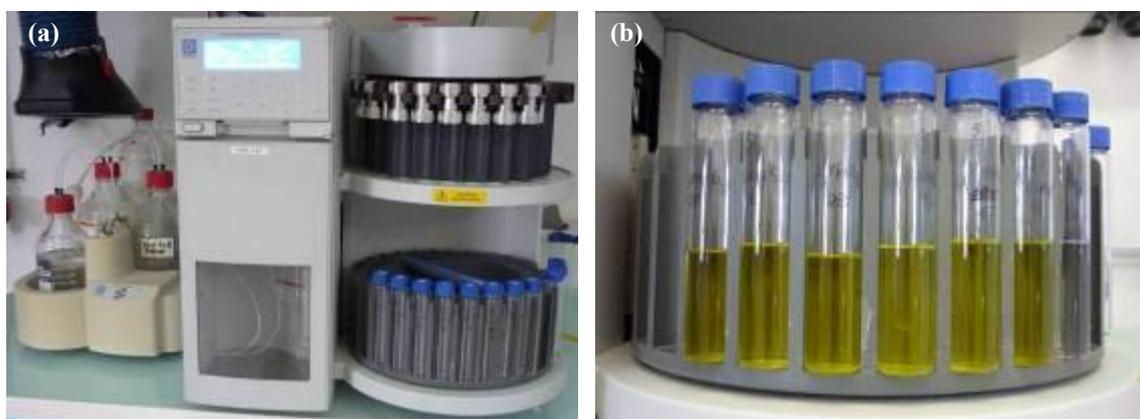


Figure II-6. Extraction de mousses par PLE : (a) Dispositif d'extraction ASE 200 ; (b) Extraits en fin d'extraction

Les cellules sont remplies de 0,75 g de sulfate de sodium anhydre et 0,75 g de Florisil[®], puis avec 1,5 g d'échantillon de mousse lyophilisée dopé avec 150 µL de la solution fille d'étalons d'extraction (soit environ 50 ng d'ANT d₁₀ et de B(a)P d₁₂). Les crépines en acier inoxydable des cellules sont recouvertes par des filtres en cellulose (Dionex, USA) afin d'éviter la circulation de particules dans le dispositif, susceptibles d'encrasser le système. L'échantillon est tassé afin de favoriser le contact entre le solvant et la matrice.

Les extractions sont réalisées avec du *n*-hexane sous une pression de 150 bar. Les cellules subissent systématiquement un préchauffage de 5 min avant d'être soumises à un ou plusieurs cycles statiques. Après chaque cycle, elles sont rincées avec un volume de solvant correspondant à 100% du volume de remplissage initial divisé par le nombre de cycles. À la fin de l'extraction, elles sont purgées avec de l'azote purifié pendant 120 s. Le choix du solvant, de la pression et des paramètres de préchauffage, de rinçage et de purge a été basé sur l'optimisation analytique disponible dans la littérature concernant l'extraction par PLE de polluants organiques persistants contenus dans les mousses (Wenzel *et al.*, 1998). Les paramètres opérationnels tels que la température et la durée d'extraction statique ainsi que le nombre de cycles d'extraction ont été optimisés.

II.1.5. CONCENTRATION

Les extraits, obtenus par extraction liquide-liquide des dépôts totaux et par extraction liquide-solide des mousses, sont concentrés à 1 mL sous azote purifié à 99,999% (Alpha 1, Air Liquide, France) à l'aide d'un dispositif Turbovap II apparatus (Caliper Life Sciences, USA) (Figure II-7 a). La pression est réglée à 1,8 bar et la température du bain à 25 °C.

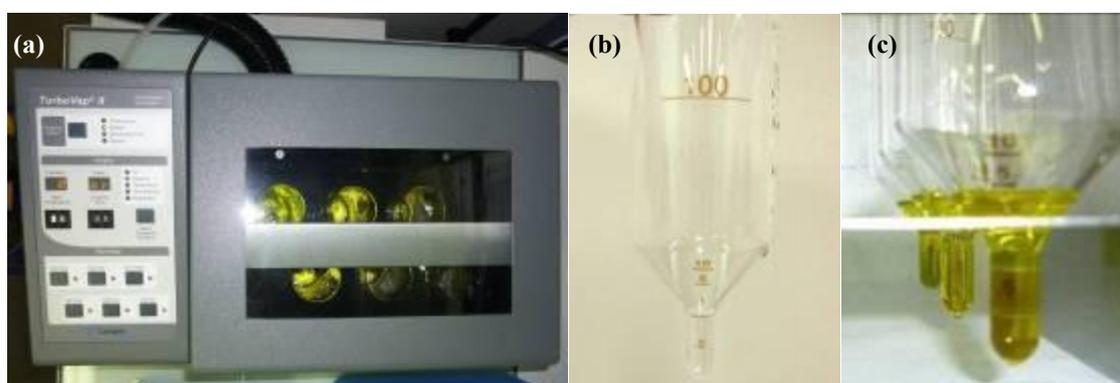


Figure II-7. Concentration des extraits : (a) Dispositif d'évaporation Turbovap II ; (b) Extrait concentré de dépôts totaux ; (c) Extrait concentré de mousses

II.1.6. PURIFICATION

Les extraits concentrés obtenus à partir des dépôts totaux sont incolores (Figure II-7 b), alors que ceux obtenus à partir des mousses sont colorés (Figure II-7 c), avec des nuances allant du jaune pâle au vert kaki en fonction des échantillons étudiés et des paramètres d'extraction utilisés. Les extraits de dépôts totaux ont donc pu être soumis à l'analyse sans étape de purification, alors que tous les extraits de mousses ont dû être purifiés par SPE.

Pour réaliser la purification, les cartouches d'extraction en phase solide sont placées sur un portoir « manifold » (Supelco, France) et conditionnées avec un solvant. Des récipients en verre sont placés sous le portoir pour collecter l'extrait sortant de la cartouche. Le volume d'extrait concentré après extraction (1 mL) est placé au sommet de la cartouche. Une élution, avec un débit de 1 à 2 gouttes par seconde, est réalisée avec un solvant approprié pour récupérer les HAP (Figure II-8).

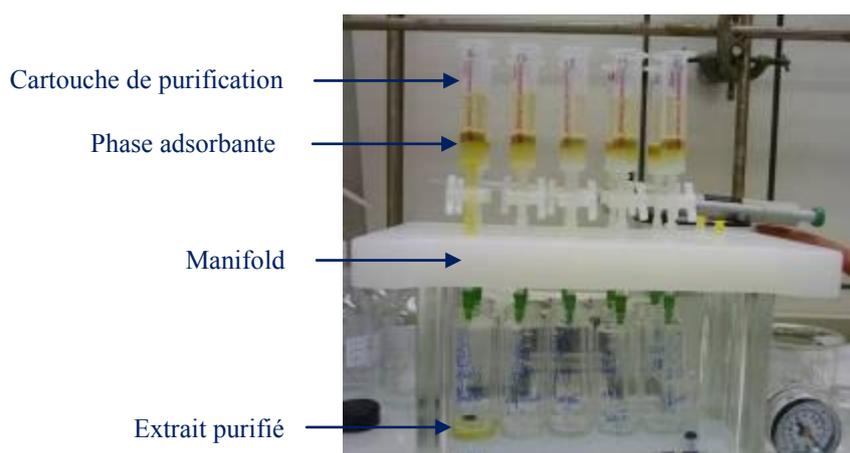


Figure II-8. Purification d'extraits de mousses par SPE

Chaque extrait purifié est alors concentré jusqu'à 0,1 mL sous courant d'azote (Figure II-9), puis est repris dans 1 mL d'acétonitrile (éluant utilisé en CLHP).



Figure II-9. Concentration des extraits purifiés sous courant d'azote

Dans un premier temps, durant la phase d'optimisation de l'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses (§ II.2.3.2.), des cartouches SPE contenant du Florisil[®] ont été utilisées. Les cartouches sont conditionnées avec 10 mL de *n*-hexane et l'élution est menée avec 8 mL de cyclohexane/dichlorométhane (60:40, v/v). Le type de cartouches ainsi que le protocole d'élution ont été validés précédemment au laboratoire pour la purification de matrices végétales contenant des HAP (Sablayrolles, 2004). Dans un deuxième temps, différentes cartouches (Florisil[®], NH₂, silice et alumine) ont été comparées afin de déterminer quel type d'adsorbant offre la meilleure sélectivité (§ II.2.3.3.).

II.1.7. ANALYSE PAR CLHP-FLD

Avant l'analyse, afin d'éliminer d'éventuels éléments de la matrice susceptibles d'encrasser les colonnes chromatographiques, les extraits sont filtrés à l'aide de filtres seringues en PTFE de diamètre 13 mm et de porosité 45 µm (Xilab, France). Afin d'évaluer les pertes d'extrait lors de cette étape, ce dernier est pesé avant et après filtration.

D'autre part, afin de réaliser un dosage par étalon interne, un composé deutéré est utilisé : le fluoranthène d₁₀ (FTN d₁₀). Pour cela, une solution fille à environ 1 µg.mL⁻¹ est préparée à partir de FTN d₁₀ à 100 µg.L⁻¹ dans l'acétonitrile (LGC Standards, Royaume-Uni), puis un volume de 100 µL est ajouté à chaque extrait purifié juste avant l'analyse chromatographique (soit 100 ng par échantillon).

Les analyses sont réalisées par un système de chromatographie liquide haute-performance associant une pompe P680 HPLC (Waters, USA), un régulateur de gradient 600 S (Waters, USA) et un détecteur fluorimétrique RF 2000 (Dionex, USA) (Figure II-10). Un injecteur automatique 717plus Autosampler (Waters, USA) est également utilisé. Le système est équipé d'une colonne C18 Supelcosil[™] LC-PAH (longueur : 250 mm, diamètre interne : 4,6 mm, taille des particules : 5 µm) et d'une colonne de garde (longueur : 20 mm, diamètre interne : 4,6 mm, taille des particules : 5 µm) (Supelco Analytical, Sigma-Aldrich, USA), lesquelles sont installées dans un compartiment thermorégulé Ultimate 3000 column compartment (Dionex, USA). L'acquisition de données est réalisée au moyen du logiciel Chromeleon 6.80 Chromatography Data System (SR10 Build 2818 (166959)) (Dionex, USA).



Figure II-10. Dispositif d'analyse par CLHP-FLD

Les éluants sont dégazés par de l'hélium purifié. L'élution est réalisée avec un gradient de solvants binaire constitué d'eau et d'acétonitrile avec un débit constant de $1,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Le gradient d'élution est présenté dans le [Tableau II-2](#). Les analyses sont réalisées en injectant $20 \mu\text{L}$ d'extrait. La température des colonnes est maintenue à $30 \text{ }^\circ\text{C}$ dans le compartiment isotherme, ce qui permet de réduire les temps d'élution et d'éviter que ces derniers ne varient avec les fluctuations de température ambiante.

Tableau II-2. Gradient d'élution binaire acétonitrile/eau utilisé pour l'analyse des HAP avec voie A : Acétonitrile et voie B : Acétonitrile/Eau (60/40, v:v)

Temps (min)	% A	% B
0	0	100
5	0	100
30	100	0
40	100	0
45	0	100
54	0	100

La détection est réalisée avec des longueurs d'onde de fluorescence spécifiques aux composés afin de permettre l'optimisation de la sensibilité et la minimisation des interférences. Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont données dans le [Tableau II-3](#). Le gain du fluorimètre est variable au cours de l'analyse (1, 4 ou 16). La sensibilité est fixée à « Medium ».

Tableau II-3. Paramètres analytiques de la détermination des HAP par CLHP-FLD

Fenêtre	Temps (min)	λ d'excitation (nm)	λ d'émission (nm)	Analytes	Temps de rétention (min)
1	0,0	206	320	NAP	6,1
2	8,0	233	320	ACE	9,2
				FLR	9,7
3	10,5	260	380	PHE	11,4
4	12,0	250	375	ANT d ₁₀	12,5
				ANT	13,1
5	13,8	365	462	FTN d ₁₀	14,3
				FTN	14,9
6	15,6	275	380	PYR	16,4
7	18,0	270	300	B(a)A	21,3
				CHR	22,5
8	22,1	302	431	B(b)F	26,5
				B(k)F	28,4
				B(a)P d ₁₂	29,0
				B(a)P	30,0
				D(ah)A	32,3
9	33,4	302	419	B(ghi)P	33,9
10	34,8	300	500	IND	35,8

NB : L'acénaphylène n'est pas observé en fluorescence. Un montage en série de deux détecteurs FLD-UV permettrait de l'étudier.

Un mélange standard, contenant les 16 HAP : NAP, ACE, ACL, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P et IND, à 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dans l'acétonitrile (Mix 16 HAP, LGC standards, Royaume-Uni), est utilisé pour l'étalonnage. Des solutions filles à 0, 2, 5, 10, 50 et 150 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ dans l'acétonitrile ont ainsi été préparées. Les composés deutérés utilisés comme étalon d'extraction (ANT d₁₀ et B(a)P d₁₂) et étalon interne (FTN d₁₀) ont été également introduits dans les solutions étalons. La même masse de fluoranthène d₁₀ est introduite dans les étalons et les extraits. La masse d'anthracène d₁₀ et de benzo(a)pyrène d₁₂ introduite dans les étalons correspond à la masse avec laquelle les échantillons sont dopés.

Les courbes d'étalonnage ont été réalisées pour chaque composé par régression linéaire du rapport entre l'aire du pic du HAP ciblé (A_{HAP}) et de l'étalon interne ($A_{\text{FTN d}_{10}}$) en fonction du rapport des concentrations des HAP injectés ($[\text{HAP}]/[\text{FTN d}_{10}]$) (Figure II-11).

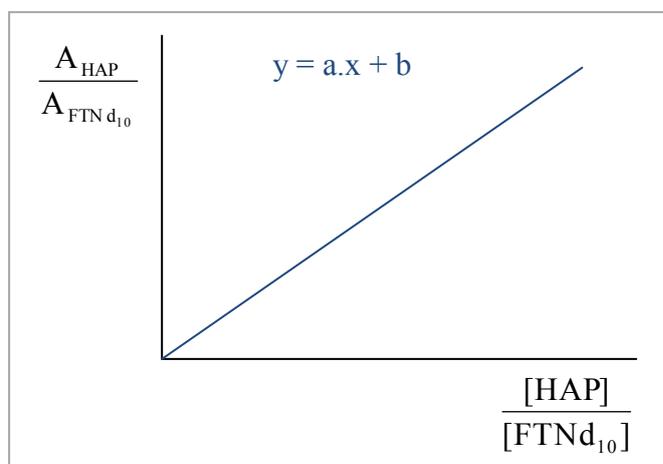


Figure II-11. Schéma représentant l'étalonnage réalisé pour les analyses de HAP par CLHP-FLD

Les concentrations en HAP dans les extraits injectés sont calculées avec l'équation de la droite d'étalonnage ($y = a.x + b$ avec $b \approx 0$) et la concentration connue en étalon interne. Le calcul de la concentration en HAP dans l'extrait purifié tient compte ensuite des pertes dues à la filtration et de la dilution par l'étalon interne.

Les rendements d'extraction de la fraction légère de HAP (NAP \rightarrow PYR) et la fraction lourde de HAP (B(a)A \rightarrow IND) sont évalués respectivement avec les étalons deutérés ANT d₁₀ et B(a)P d₁₂, dont la même masse est ajoutée aux échantillons avant l'étape d'extraction et dans les étalons utilisés pour l'étalonnage :

$$\text{Rendement en HAP légers (\%)} = \frac{\left[\frac{A_{\text{ANT d}_{10}}}{A_{\text{FTN d}_{10}}} \right]_{\text{extrait}}}{\left[\frac{A_{\text{ANT d}_{10}}}{A_{\text{FTN d}_{10}}} \right]_{\text{étalon}}} \times 100 \quad \text{Eq. II-1}$$

$$\text{Rendement en HAP lourds (\%)} = \frac{\left[\frac{A_{\text{B(a)P d}_{12}}}{A_{\text{FTN d}_{10}}} \right]_{\text{extrait}}}{\left[\frac{A_{\text{B(a)P d}_{12}}}{A_{\text{FTN d}_{10}}} \right]_{\text{étalon}}} \times 100 \quad \text{Eq. II-2}$$

Avec A : l'aire du pic d'étalon deutéré (dans l'extrait ou dans l'étalon)

II.2. Développement, optimisation et validation analytique

II.2.1. VALIDATION DE L'ANALYSE PAR CLHP-FLD

Le chromatogramme obtenu par CLHP-FLD d'une solution étalon contenant des HAP à l'état de traces (10 ng.mL^{-1}) est présenté en Figure II-12.

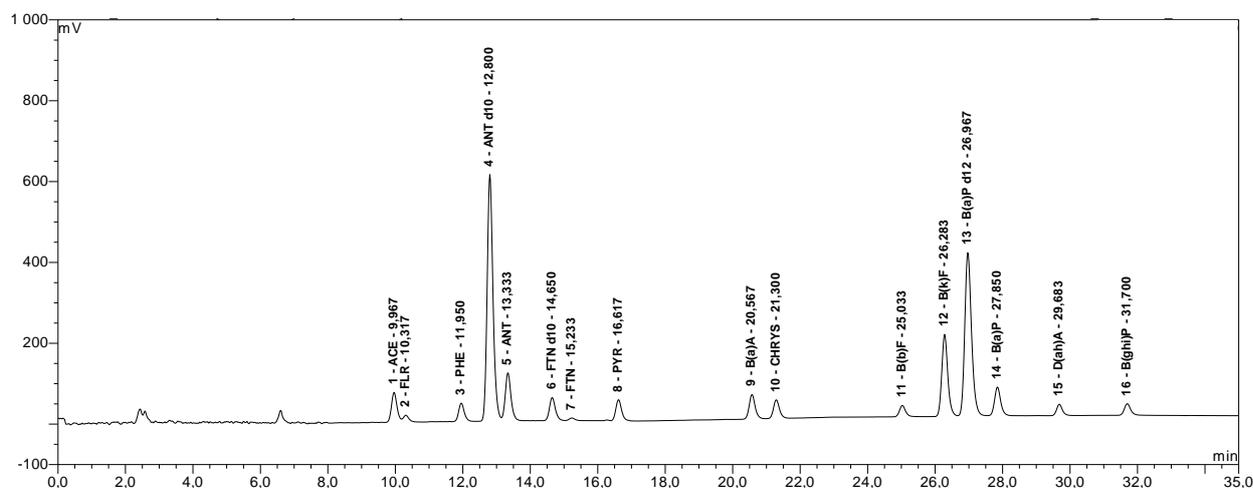


Figure II-12. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'une solution étalon de HAP à 10 ng.L^{-1} dans l'acetonitrile (*ANT* d_{10} et *B(a)P* d_{10} sont à 45 ng.mL^{-1} et *FTN* d_{10} à 100 ng.mL^{-1})

Les limites de détection et de quantification ont été déterminées par l'étude du chromatogramme d'une solution étalon à 2 ng.mL^{-1} . On a considéré que la LD correspond à 3 fois le bruit de fond ($S/N = 3$) et la LQ à 10 fois le bruit de fond ($S/N = 10$) (Tranchant, 1995). Les valeurs correspondantes sont données dans le Tableau II-4. La LQ étant très élevée pour le NAP ($\sim 30 \text{ ng.mL}^{-1}$), ce composé ne peut être quantifié lorsqu'il est à l'état de traces. Les autres composés présentent des LQ faibles qui s'étendent de 0,3 à $2,6 \text{ ng.mL}^{-1}$.

L'étalonnage a été réalisé avec 6 niveaux (0, 2, 5, 10, 50, 150 ng.mL^{-1}) et chaque niveau a été mesuré 5 fois. Le domaine de linéarité s'étend des limites de quantification à 150 ng.mL^{-1} avec des coefficients de régression compris entre 0,9993 (FLR) to 0,9999 (PHE, ANT, FTN, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, D(ah)A). Les droites d'étalonnage sont présentées en Annexe I. L'étalonnage a été régulièrement vérifié par injection d'étalons au cours des analyses.

Tableau II-4. Limites de détection et de quantification des HAP par CLHP-FLD

HAP	LD		LQ	
	Masses injectées (pg)	Concentrations injectées (ng.mL ⁻¹)	Masses injectées (pg)	Concentrations injectées (ng.mL ⁻¹)
NAP	177	8,86	591	29,53
ACE	7	0,33	22	1,09
FLR	16	0,79	52	2,62
PHE	8	0,41	27	1,37
ANT	1	0,06	4	0,21
FTN	8	0,42	28	1,39
PYR	4	0,20	13	0,65
B(a)A	5	0,23	15	0,75
CHR	5	0,23	16	0,78
B(b)F	2	0,09	6	0,31
B(k)F	1	0,05	3	0,16
B(a)P	3	0,17	12	0,58
D(ah)A	2	0,10	7	0,34
B(ghi)P	2	0,10	6	0,32
IND	7	0,34	22	1,12

La répétabilité de l'analyse a été déterminée par l'étude de la variabilité des mesures obtenues lors de 10 injections d'une solution très peu concentrée en HAP (2 ng.mL⁻¹). L'écart-type relatif s'est avéré satisfaisant : de 3% à 14% (pour ACE et PHE respectivement).

II.2.2. VALIDATION DE L'ANALYSE DES DÉPÔTS TOTAUX

II.2.2.1. Validation de la procédure analytique

Afin d'étudier les flux de HAP atmosphériques, il est nécessaire de valider la procédure analytique complète d'extraction liquide-liquide des dépôts totaux suivie de l'analyse par CLHP-FLD. La reproductibilité et la précision de cette procédure ont été évaluées sur un échantillon composite de 4 L obtenu par mélange des prélèvements de 5 collecteurs disposés en forêt entre le 20/12/2010 et le 3/01/2011. Un volume de 2 L d'échantillon composite a été dopé avec 100 µL d'une solution diluée à 200 ng.L⁻¹ dans l'acétonitrile du mélange commercial de 16 HAP (soit 10 ng ajoutés par litre). Des extractions

ont été réalisées sur 3 aliquots de 500 mL d'échantillon moyen dopé et sur 3 aliquots de 500 mL d'échantillon moyen non dopé.

Un chromatogramme obtenu avec un réplica d'échantillon non dopé est présenté [Figure II-13](#). Les rendements d'extraction obtenus et leurs écart-types associés (n=6) se sont avérés satisfaisants : $68 \pm 4\%$ pour la fraction légère (NAP → PYR) et $75 \pm 3\%$ pour la fraction lourde (B(a)A → IND).

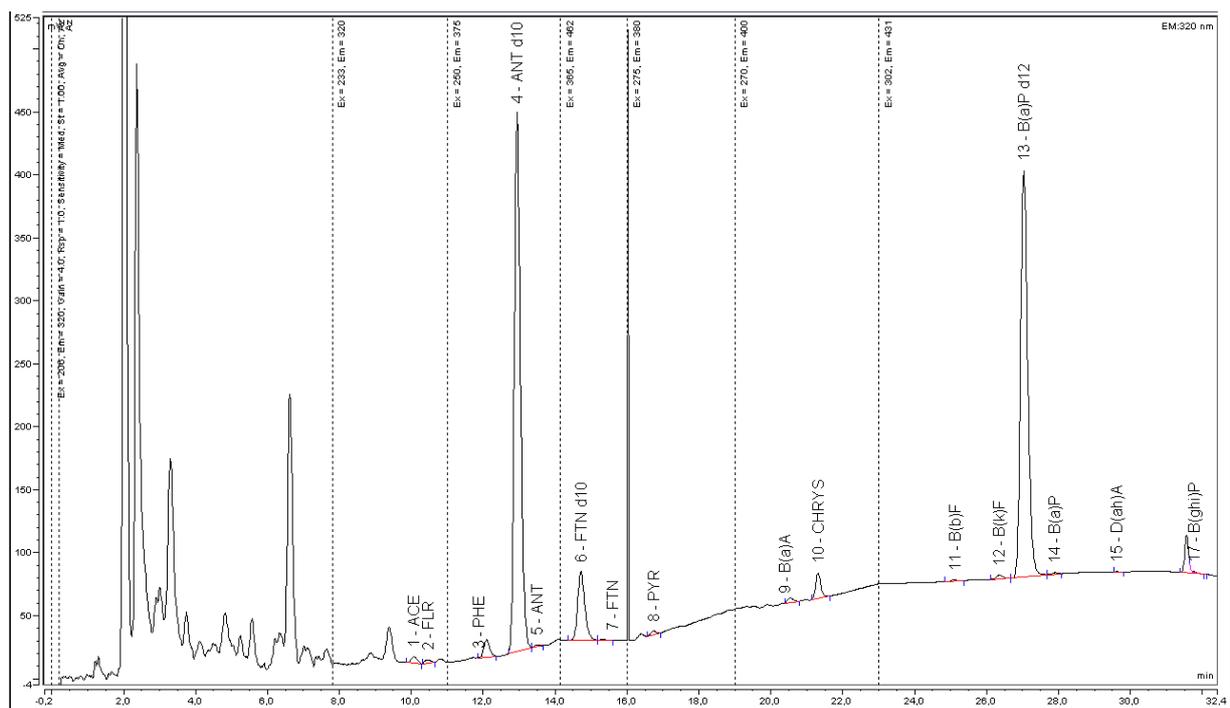


Figure II-13. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'un extrait de dépôts totaux échantillonné en 2011 dans le Parc Naturel de Bertiz obtenu par extraction liquide-liquide

Les limites de quantification moyennes dans les dépôts totaux sont données à titre indicatif en [Tableau II-5](#). Ces dernières ont été évaluées pour des échantillons de 500 mL avec les rendements moyens obtenus. L'analyse de l'échantillon composite a révélé des niveaux de concentrations supérieurs aux limites de quantification pour les composés suivants : NAP, ACE, FLR, PHE, FTN, ANT, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P et B(ghi)P. Le bruit de fond chromatographique est important pour le NAP, composé le plus léger, donc ce dernier n'a pas été quantifié. La détermination des teneurs en CHR a également été rendue impossible par la présence d'un composé interférent co-extrait de la matrice des dépôts totaux et co-élué au même temps de rétention. Les composés lourds D(ah)A et IND ont été détectés mais ne sont pas quantifiables. La validation de la procédure analytique a donc été menée sur 11 composés : ACE, FLR, PHE, FTN, ANT, PYR, B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P and B(ghi)P.

Tableau II-5. Validation de la procédure analytique d'extraction et d'analyse des HAP dans les dépôts totaux : évaluation des limites de quantification, de la reproductibilité et de la précision

HAP	Limite de quantification moyenne ^a (ng.L ⁻¹)	Reproductibilité (%)	Précision (%)
NAP	87	ND	ND
ACE	3,2	15	+25
FLR	7,6	18	- 5
PHE	4,0	6	+3
ANT	0,6	4	- 3
FTN	4,1	7	- 6
PYR	1,9	6	+1
B(a)A	2,0	6	+3
CHR	2,1	ND	ND
B(b)F	0,8	8	+17
B(k)F	0,4	5	+15
B(a)P	1,6	4	+19
D(ah)A	0,9	ND	ND
B(ghi)P	0,8	13	+45
IND	2,8	ND	ND

ND : Valeur non déterminée ; ^a Limites de quantification évaluées pour des échantillons de dépôts totaux de 500 mL avec les rendements moyens de 68% (NAP → PYR) et 75% (B(a)A → IND) obtenus pendant l'étape de validation.

La reproductibilité de la procédure analytique a été évaluée à partir des écarts-types des concentrations des différents HAP mesurées dans les échantillons non dopés (Tableau II-5). L'extraction des HAP des dépôts totaux est reproductible pour les 11 composés quantifiables car les écarts-types des concentrations mesurées dans les échantillons non dopés étaient inférieurs à 20% : de 4% pour le B(a)P à 18% pour le FLR.

La justesse de la procédure a été évaluée pour chaque HAP de la façon suivante :

$$\text{Justesse} = \frac{m_{\text{ajoutée}} - ([\text{HAP}]_{\text{D}} - [\text{HAP}]_{\text{ND}}) * V_{\text{échantillon}}}{m_{\text{ajoutée}}} \quad \text{Eq. II-3}$$

avec $m_{\text{ajoutée}}$ la masse théorique de HAP ajoutée par litre dans l'échantillon dopé (ng), $[\text{HAP}]_{\text{D}}$ et $[\text{HAP}]_{\text{ND}}$ les concentrations individuelles des HAP mesurées dans les échantillons dopés et non dopés (ng.L^{-1}), $V_{\text{échantillon}}$ le volume d'échantillon analysé (500 mL).

La procédure analytique présente une bonne justesse pour 9 composés : FLR, PHE, FTN, ANT, PYR, B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P. En effet, ces HAP ont montré des écarts par rapport à la masse théorique ajoutée inférieurs à 20% : de -6% pour le FTN à +19% pour le B(a)P (Tableau II-5). Deux composés n'ont pu être mesurés de façon précise : ACE and B(ghi)P (écarts de +25% et +45% respectivement à cause de la présence de composés interférents).

Des blancs analytiques ont été réalisés afin de détecter d'éventuelles contaminations durant les étapes d'extraction, de concentration ou d'analyse des échantillons de dépôts totaux. Ces derniers ont révélé des concentrations inférieures aux limites de quantification pour les composés FLR, ANT, FTN, B(a)A et B(b)F et de l'ordre des limites de quantification pour les composés PHE, PYR, B(k)F et B(a)P. La quantification des HAP dans les échantillons réels a tenu compte de cette légère contamination, qui peut être liée au fait que les ampoules n'ont pas pu être lavées aux ultrasons à cause de leur grande taille et que le solvant est exposé à l'air ambiant lors de la phase d'extraction.

Ainsi la procédure analytique a permis de quantifier dans l'échantillon de dépôts totaux étudié 5 composés appartenant à la fraction légère de HAP (FLR, PHE, ANT, FTN, PYR) et 4 composés appartenant à la fraction lourde de HAP (B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P) avec une précision satisfaisante. Les concentrations mesurées pour ces composés sont données dans le Tableau II-6. Il est à noter qu'elles sont proches des limites de quantification, avec des teneurs individuelles variant de $2,4 \pm 0,1 \text{ ng.L}^{-1}$ pour le benzo(a)pyrène à $11,8 \pm 0,8 \text{ ng.L}^{-1}$ pour le phénanthrène. Les teneurs totales des 9 composés quantifiées sont de $40 \pm 2 \text{ ng.L}^{-1}$.

Tableau II-6. Concentrations en HAP (ng. L⁻¹) mesurées dans un échantillon composite de dépôts totaux prélevé en décembre 2010 sous le couvert forestier du Parc Naturel de Bertiz

HAP	Concentrations (ng.L ⁻¹)		
	Moyenne	Médiane	Ecart-type
FLR	6,2	5,8	1,1
PHE	11,8	12,2	0,8
ANT	2,3	2,4	0,1
FTN	4,0	4,0	0,3
PYR	4,6	4,5	0,3
B(a)A	2,9	2,9	0,2
B(b)F	2,7	2,6	0,2
B(k)F	2,6	2,6	0,1
B(a)P	2,4	2,4	0,1
Σ_9HAP	39,6	39,4	1,8

Les flux de HAP atmosphériques dans les dépôts totaux seront donc évalués dans ce manuscrit pour les HAP suivants : FLR, PHE, FTN, ANT, PYR, B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P.

II.2.2.2. Influence du stockage

Les échantillons de dépôts totaux sont stockés à -20 °C dans des flacons en PE suite à leur prélèvement en attendant d'être analysés. Les pertes éventuelles des HAP par adsorption sur la paroi des récipients ont été évaluées grâce à un test de stockage. Pour cela, 12 solutions synthétiques ont été préparées avec 800 mL d'eau du robinet dopés avec 40 µL d'une solution diluée à 200 ng.L⁻¹ dans l'acétonitrile du mélange commercial de 16 HAP (soit 10 ng ajoutés par litre). Les solutions ont ainsi été préparées afin d'avoir des teneurs traces en HAP du même ordre que celles mesurées lors de la validation analytique (2-12 ng.L⁻¹). Des extractions ont été réalisées sur 6 aliquots directement après leur préparation (t = 0) puis sur les 6 aliquots restants après un mois de stockage dans des flacons en PE à -20 °C. Un témoin, constitué d'eau du robinet non dopée, a également été soumis à une extraction à t = 0 et au bout d'un mois de stockage dans les mêmes conditions que les solutions dopées. Enfin, des blancs analytiques ont été réalisés à t = 0 et t = 1 mois afin de détecter d'éventuelles contaminations.

Les pertes par adsorption sur les parois des flacons en PE durant un mois de stockage ont été évaluées de $50 \pm 20\%$ pour le fluorène à $85 \pm 7\%$ pour le benzo(b)fluoranthène (Figure II-14). Ainsi, la concentration totale des 9 composés quantifiés a subi des pertes relativement importantes de $67 \pm 7\%$ (évaluées avec $n = 6$ expériences). Toutefois, elles sont en adéquation avec une étude de stockage dans des flacons en verre ayant montré jusqu'à 70% de pertes de HAP par adsorption sur les parois (Wolska *et al.*, 2005). Lors de l'estimation des flux de HAP atmosphériques à partir des concentrations mesurées dans les échantillons de dépôts totaux, des facteurs de correction ont donc été appliqués.

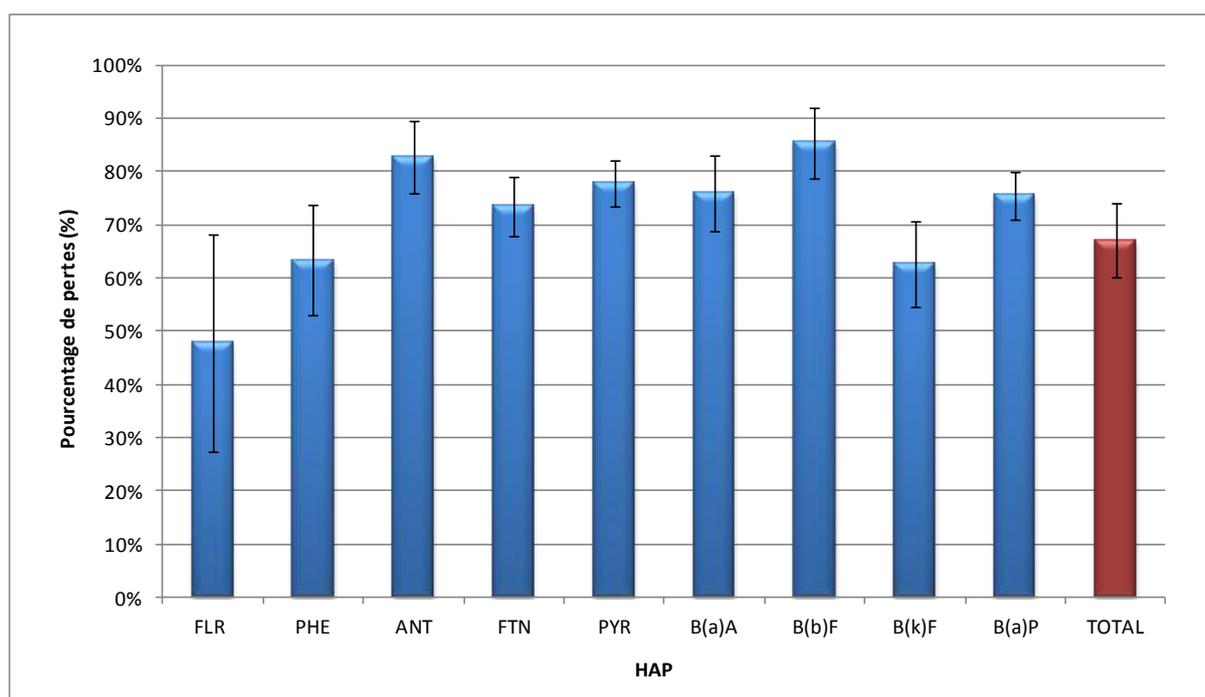


Figure II-14. Taux de pertes de HAP (%) lors d'un stockage de 1 mois à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans des flacons en PE d'un échantillon d'eau du robinet dopé avec 10 ng.L^{-1} avec chacun des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA

II.2.3. OPTIMISATION DE L'ANALYSE DES MOUSSES

II.2.3.1. Échantillons

Pour développer la procédure analytique, des mousses pleurocarpes *Isothecium myosuroides* Brid. et *Hypnum cupressiforme* Hedw. ont été prélevées sur le site du Parc Naturel de Bertiz (Navarre, Espagne) entre 2008 et 2010. *Isothecium myosuroides* Brid. a été utilisée pour l'optimisation de l'extraction des HAP par solvant sous pression (PLE) et pour comparer cette technique d'extraction avec une technique classique : le Soxtec. *Hypnum*

cupressiforme Hedw. a été utilisée pour comparer différents types de purification par extraction en phase solide. Deux espèces différentes ont dû être utilisées, car le développement analytique nécessite des masses considérables d'échantillon, alors que les autorités du Parc Naturel limitent les prélèvements afin de préserver les espèces. Pour chaque espèce, un échantillonnage composite a été réalisé et les sous-échantillons ont été mélangés en laboratoire afin de travailler sur un même échantillon homogène. Au total, environ 0,5 m² de chaque espèce a été prélevé, donnant respectivement 50 et 25 g (en masse sèche) d'*Isothecium myosuroides* Brid. et de *Hypnum cupressiforme* Hedw..

II.2.3.2. Extraction par PLE

II.2.3.2.1. Choix du solvant d'extraction

L'extraction par PLE des polluants organiques persistants présents dans les échantillons environnementaux est souvent menée avec les mêmes solvants que ceux utilisés pour les techniques d'extraction classiques (Björklund *et al.*, 2000 ; Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2001). Etant donné que le *n*-hexane est un solvant efficace pour l'extraction par Soxtec de polluants organiques contenus dans les matrices végétales (Sablayrolles, 2004), il est donc envisageable de l'utiliser également pour les extractions par PLE.

Afin de solubiliser les analytes recherchés, la polarité du solvant et celle des composés doivent être proches. L'extraction de composés lipophiles est donc souvent menée avec des solvants apolaires tels que le *n*-hexane (Carabias-Martínez *et al.*, 2005). D'après les moments dipolaires et constantes diélectriques (Tableau II-1), on peut classer les solvants les plus courants par ordre de polarité croissante : *n*-hexane < dichlorométhane < acétone < acétonitrile. Les HAP étant des composés très lipophiles ($\log K_{ow} > 3$ d'après le Tableau I-2), le choix du *n*-hexane semble donc judicieux. L'unique étude disponible dans la littérature concernant l'optimisation analytique de l'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses confirme ce choix puisque le *n*-hexane s'est avéré être le solvant le plus approprié (Wenzel *et al.*, 1998). Dans certaines études d'extraction par PLE des HAP d'échantillons environnementaux tels que les aiguilles de pin ou le sol (Saim *et al.*, 1998 ; Jánková *et al.*, 2004 ; Ratola *et al.*, 2006), des mélanges de solvants apolaires/polaires tels que dichlorométhane/acétone (1:1, v/v) ou *n*-hexane/acétone (1:1, v/v) ont montré des rendements plus élevés que le *n*-hexane seul. Ceci s'explique par le fait que le solvant polaire pénètre plus

facilement dans la matrice hydrophile. Toutefois, l'utilisation de solvants polaires induit une co-extraction de molécules interférentes (chlorophylle et autres pigments) ayant pour conséquence une diminution de la sélectivité lors de l'analyse.

D'autre part, le *n*-hexane présente l'avantage d'être très volatil, donc son utilisation assure une étape rapide de concentration des extraits, et d'être également compatible avec les phases normales utilisées pour l'étape de purification.

II.2.3.2.2. Optimisation des paramètres opérationnels

Élaboration d'un plan d'expériences

Les études menées dans la littérature afin d'optimiser les paramètres PLE pour l'extraction des HAP contenus dans des bioindicateurs tels que les mousses (Wenzel *et al.*, 1998) et les aiguilles de pin (Jánská *et al.*, 2004 ; Ratola *et al.*, 2006) se limitent à l'heure actuelle à une démarche univariée. En effet, chaque paramètre est optimisé en maintenant les autres paramètres constants. Or, certains paramètres expérimentaux peuvent avoir des interactions. C'est pour cette raison que nous avons opté pour une approche chimiométrique lors du développement analytique de l'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses. Afin d'appréhender simultanément les effets de trois facteurs expérimentaux sur les rendements d'extraction par PLE, un plan d'expériences de type factoriel centré du premier ordre a été mis en place. Cette approche multivariée permet non seulement de réduire le nombre d'essais par rapport à une approche univariée, mais aussi de cerner les interactions entre facteurs expérimentaux, afin de modéliser les réponses sur le domaine d'expérience et, par conséquent, de déterminer les conditions optimales d'extraction. Un tel plan d'expériences nécessite 16 essais à deux niveaux réduits (-1 et +1) et deux essais au point central du domaine expérimental (0). Le plan factoriel centré élaboré à l'aide du logiciel Nemrodw (LPRAI, France) est représenté [Tableau II-7](#).

Tableau II-7. Plan factoriel centré du premier ordre

Expérience	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1 + 9	-1	-1	-1
2 + 10	-1	1	1
3 + 11	-1	-1	1
4 + 12	-1	1	-1
5 + 13	1	-1	-1
6 + 14	1	-1	1
7 + 15	1	1	-1
8 + 16	1	1	1
17 + 18	0	0	0

Les paramètres optimisés sont :

- Facteur 1 : la température d'extraction (T),
- Facteur 2 : la durée de l'étape d'extraction statique (t_s),
- Facteur 3 : le nombre de cycles d'extraction statique (N).

Ces paramètres ont un impact significatif sur les rendements d'extraction (Björklund *et al.*, 2000 ; Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2001 ; DIONEX, 2004). Le transfert des analytes de la matrice au solvant d'extraction a lieu en 3 étapes : désorption de la matrice, diffusion dans le solvant qui imprègne la matrice, transfert vers le solvant en écoulement à l'extérieur de la matrice. Une augmentation de la température intensifie ce transfert (phénomènes expliqués § II.1.4.3.2.). D'autre part, des temps d'extraction plus longs peuvent permettre de désorber des analytes retenus dans des pores ou ayant une forte affinité pour la matrice étudiée. Enfin, la réalisation de plusieurs cycles d'extraction permet de réintroduire du solvant durant l'extraction et de maintenir ainsi un équilibre favorable. Il est à noter qu'une augmentation du nombre de cycles n'induit pas de dilution des analytes car le volume de purge est le même quel que soit le nombre de cycles (le volume de purge à chaque cycle est égal au volume total de purge divisé par le nombre de cycles).

La pression n'a pas été optimisée lors du développement analytique. En effet, le travail sous haute pression a pour unique objectif de maintenir le solvant à l'état liquide à des températures supérieures au point d'ébullition et les pressions de travail en PLE sont systématiquement situées largement au dessus des seuils nécessaires à cela. Ainsi, un changement de pression a une influence négligeable sur les rendements d'extraction des analytes (Björklund *et al.*, 2000).

Les limites d'utilisation des paramètres opérationnels ont été évaluées d'après les précédentes études disponibles dans la littérature concernant l'extraction de HAP contenus dans des bioindicateurs (Wenzel *et al.*, 1998 ; Jánská *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2005) :

- température d'extraction : 80 – 140 °C,
- durée d'extraction statique 5 – 15 min,
- 1 à 3 cycles d'extraction.

Ces limites ont été assignées au plan d'expériences (Tableau II-8). La durée totale d'extraction t , égale à $t_s * N$, est donnée à titre indicatif.

Tableau II-8. Plan factoriel centré utilisé pour l'extraction des HAP des mousses par ASE

Expérience	Température T (°C)	Durée statique t_s (min)	Nombre de cycles N	Durée totale t (min)
1 + 9	80	5	1	5
2 + 10	80	5	3	15
3 + 11	80	15	3	15
4 + 12	80	15	1	15
5 + 13	140	5	1	5
6 + 14	140	5	3	15
7 + 15	140	15	1	15
8 + 16	140	15	3	45
17 + 18	110	10	2	20

Les résultats du plan factoriel centré ont été évalués par régression multilinéaire (Nemrodw, LPRAI, France), avec une équation de la forme :

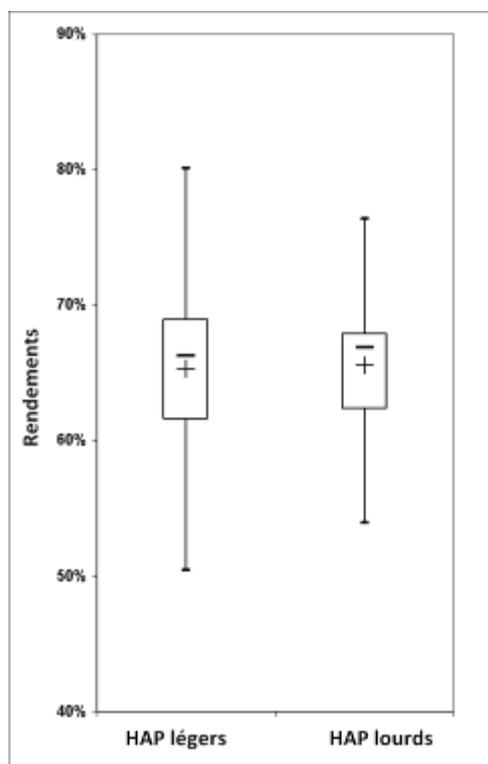
$$Y = b_0 + b_1T + b_2t_s + b_3N + b_{12}Tt_s + b_{13}TN + b_{23}t_sN \quad \text{Eq. II-4}$$

avec Y le rendement d'extraction, b_0 l'intersection, b_i les coefficients de régression des paramètres opérationnels et b_{ij} les coefficients d'interaction entre paramètres opérationnels.

Une étude de la variance des résultats du plan factoriel centré a été réalisée par un test de Fischer. Ensuite, les coefficients de régression du modèle du premier ordre ont été soumis à un test de Student : les facteurs ayant des p -values inférieures à 0,05 sont considérés comme étant non significatifs d'un point de vue statistique.

Validation du plan d'expériences

Le plan d'expériences a révélé des rendements de 56 à 75% pour la fraction légère de HAP (NAP → PYR) et de 58 à 71% pour la fraction lourde de HAP (B(a)A → IND) (Figure II-15). Ces résultats valident le choix du domaine d'expérience : il n'y a pas de discontinuité (c'est-à-dire de rendements très faibles) résultant de facteurs non adaptés à l'extraction par PLE.



Les limites des boîtes représentent les 25^{ème} et 75^{ème} percentiles.

Les lignes horizontales et les signes plus (+) représentent les valeurs médianes et moyennes respectivement.

Figure II-15. Boîtes à moustaches des rendements d'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses obtenus sur l'ensemble du domaine d'expérience du plan factoriel : rendements des HAP légers (NAP → PYR) évalués avec l'ANT d₁₀ et des HAP lourds (B(a)A → IND) évalués avec le B(a)P d₁₂

Le test de Fisher a permis de valider le choix d'un modèle du premier degré pour la modélisation du plan factoriel centré. En effet, on obtient un coefficient de variance $F = 2$, strictement inférieur au coefficient de Fischer $F_{\text{Fischer}} = 6$, ce qui signifie que la variance sur l'ensemble du plan d'expériences est significativement supérieure à la variance obtenue par la répétition du point central.

Conditions optimales : aspects quantitatifs

Une régression multilinéaire a été appliquée aux rendements des fractions légères et lourdes de HAP obtenus avec le plan factoriel centré. Le traitement statistique des résultats est donné en [Tableau II-9](#). Il en ressort que les paramètres opérationnels choisis (température, durée d'extraction et nombre de cycles) n'ont pas d'influence significative sur les rendements de la fraction légère de HAP (intervalle de confiance de 95%, $p < 0,05$). Ainsi, les rendements de NAP, ACE, PHE, ANT, FLR et PYR ne sont pas significativement plus faibles dans les conditions les moins favorables du domaine d'expérience : température de 80 °C et un cycle d'extraction statique de 5 min.

Tableau II-9. Coefficients obtenus par régression multilinéaire (modèle du premier ordre) des rendements d'extraction des fractions légères et lourdes de HAP, associés aux valeurs p obtenues par le test de Student ainsi que leur degré de significativité

Paramètre	Variable	Rendements en HAP légers (NAP → PYR)			Rendements en HAP lourds (B(a)A → IND)		
		Coefficient	p	Significativité ^a	Coefficient	p	Significativité ^a
b_0		0,6525	< 0,0001	***	0,6600	< 0,0001	***
b_1	T	-0,0022	0,8900	-	-0,0281	0,0038	**
b_2	t_s	-0,0041	0,7990	-	0,0128	0,0840	-
b_3	N	-0,0194	0,2540	-	-0,0020	0,7550	-
b_{12}	$T.t_s$	-0,0074	0,6480	-	0,0089	0,2000	-
b_{13}	$T.N$	0,0014	0,9310	-	-0,0206	0,0155	*
b_{23}	$t_s.N$	-0,0286	0,1030	-	-0,0008	0,8990	-

^a Significativité en fonction de la valeur p du test de Student : (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$.

Pour ce qui est de la fraction lourde de HAP, le modèle du premier degré montre une influence très significative de la température d'extraction T sur leurs rendements (intervalle de confiance de 99%, $p < 0,01$). Les termes correspondant à la durée d'extraction statique t_s et le nombre de cycles N ne sont quant à eux pas significatifs ($p < 0,05$). Ainsi la température d'extraction est le paramètre clé pour obtenir de bons rendements de B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, B(ghi)P et IND. D'autre part, le modèle du premier degré montre une influence significative du terme d'interaction de la température avec le nombre de cycles $T.N$ ($p < 0,05$). L'étude des diagrammes d'interaction obtenus avec Nemrodw[®] (Figure II-16) montrent que le rendement diminue lorsque la température d'extraction passe de 80 à 140 °C, quelles que soient les conditions opératoires. A des températures situées entre 80 et 100 °C, une augmentation de la durée d'extraction statique n'a pas d'influence sur le rendement en HAP lourds et les rendements sont légèrement plus élevés lorsque l'on passe de 1 à 3 cycles d'extraction.

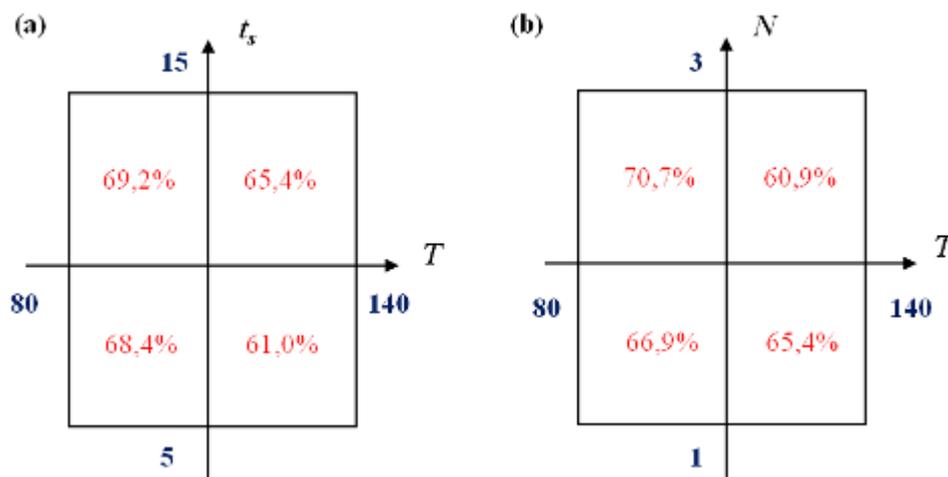


Figure II-16. Diagrammes d'interaction obtenus avec le logiciel Nemrodw[®] à partir des rendements obtenus pour la fraction lourde des HAP (B(a)A \rightarrow IND) : (a) Interaction entre la température (T) et la durée d'extraction statique (t_s) ; (b) Interaction entre la température d'extraction (T) et le nombre de cycles (N)

Les courbes d'iso-réponse, représentant les rendements en HAP lourds en fonction de la température et du temps total d'extraction ($t_s.N$) (Figure II-17), montrent que les conditions optimales d'extraction sont atteintes avec une température de 80 °C. Une durée d'extraction de 45 min montre également un rendement maximal. Cependant, l'écart avec la durée minimale d'extraction de 5 min est relativement faible (4% maximum). Afin de minimiser la durée totale de l'étape d'extraction, il semble donc judicieux de réaliser des extractions constituées d'un cycle de 5 min.

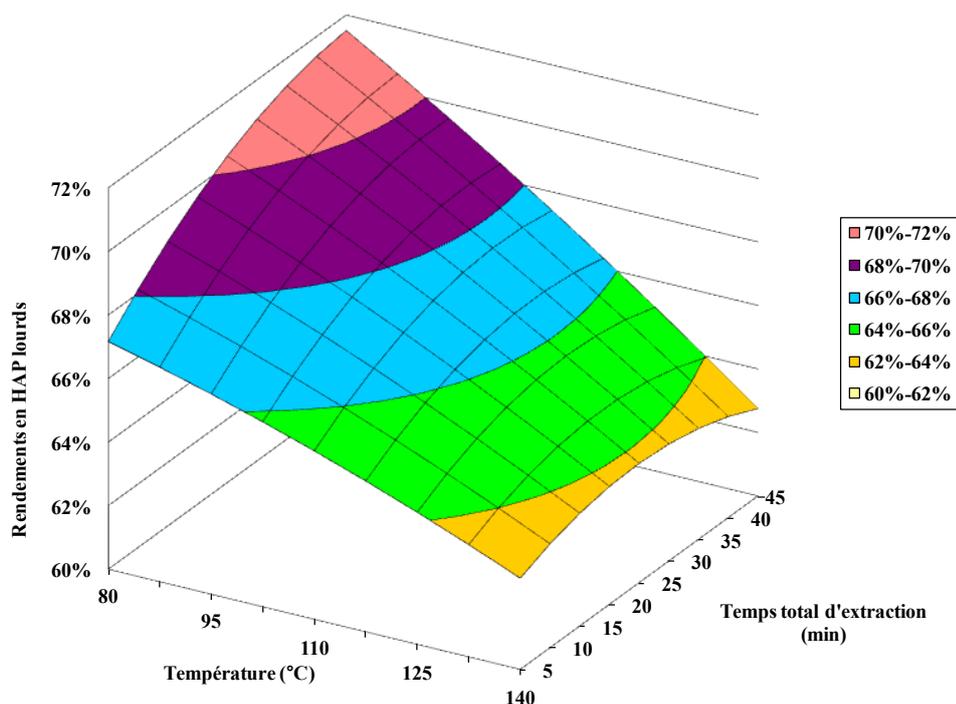


Figure II-17. Courbes d'iso-réponse représentant l'influence des paramètres opérationnels sur les rendements en HAP lourds

Conditions optimales : aspects qualitatifs

Les extraits obtenus lors de la réalisation du plan d'expériences étaient jaunes ou verts, plus ou moins intenses selon les conditions opératoires utilisées (Figure II-18). Avec des extractions à 80 °C (1-4), des extraits moins colorés qu'à 140 °C (5-8) ont été obtenus, car de plus basses températures engendrent moins de co-extraction de composés interférents provenant de la matrice. De plus, à 80 °C, les extraits contiennent plus de composés interférents lorsque la PLE est effectuée avec 1 cycle (1 & 4) qu'avec 3 cycles (2 & 3) d'extraction statique, alors que la durée totale d'extraction est la même pour les expériences 2 et 4 (15 min). En effet, la réalisation de plusieurs cycles permet une meilleure purification au sein de la cellule par le Florisil[®] (plusieurs passages d'un volume d'extrait plus faible).



Figure II-18. Extraits obtenus lors des expériences 1 à 8 du plan d'expériences

La présence de composés interférents tels que les pigments chlorophylliens pose un réel problème lorsque les analyses sont menées par CLHP-FLD. Afin d'éviter la présence de pics interférents, la meilleure sélectivité possible lors de l'extraction des HAP doit être obtenue, ce qui implique d'obtenir des extraits clairs. C'est pour cette raison que Jánková *et al.* (2004) ont choisi, pour extraire par PLE les HAP des aiguilles de pin, une température optimale de 100 °C alors que les rendements étaient plus élevés à 140 °C. D'après nos observations, les conditions les plus favorables d'un point de vue qualitatif sont les extractions à basse température (80 °C) pendant plusieurs cycles de courte durée. Nous avons vu précédemment que l'augmentation du nombre de cycles a peu d'effet sur les rendements en HAP, cependant cela permet d'obtenir une meilleure sélectivité. Nous avons donc opté pour des **extractions à 80 °C avec deux cycles d'extraction de 5 min** : cela permet de se placer dans les conditions optimales d'un point de vue quantitatif, d'obtenir des extraits jaunes clairs, tout en gardant une durée totale d'extraction relativement courte (10 min).

Les études d'extraction de HAP par PLE menées sur des échantillons environnementaux tels que le sol, les sédiments et la matière particulaire sont généralement réalisées avec des températures de 100 °C et des extractions de un ou deux cycles de 5 min (Björklund *et al.*, 2000 ; Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2001). Les paramètres optimaux déterminés dans cette étude pour l'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses sont donc en accord avec les choix précédents réalisés dans la littérature.

Validation des conditions optimales

Les conditions optimales (80 °C, 2 x 5 min) ont été testées par la réalisation de 6 répétitions de la procédure d'extraction. Les extraits obtenus étaient jaunes vifs et contenaient peu de résidus de matrice. Le chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'un des replicas est présenté [Figure II-19](#). On observe que de nombreux composés interférents sont élués durant les 10 premières minutes de l'analyse. Ainsi, la quantification du naphthalène (élué entre 6 et 7 min) est impossible. Quelques interférents apparaissent après 10 min d'élution, mais à des temps de rétention distincts des HAP. Le coefficient de réponse de l'indénopyrène étant très faible, il ne nous a pas été possible de le quantifier. La procédure analytique employée permet de quantifier 13 HAP, on peut donc considérer que les conditions d'extraction choisies offrent une bonne sélectivité.

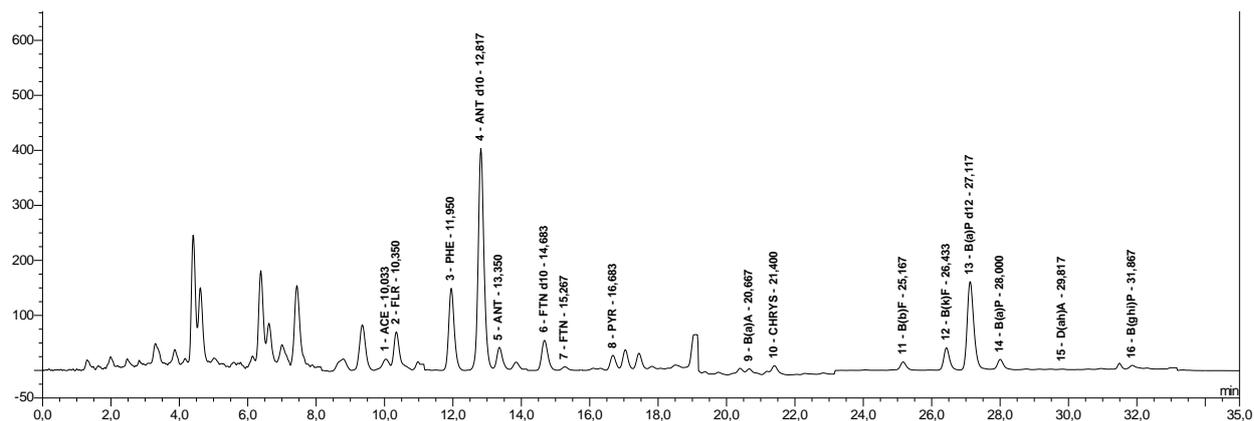


Figure II-19. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'un extrait de mousse *Hypnum cupressiforme* échantillonné en 2010 dans le Parc Naturel de Bertiz obtenu avec la procédure d'extraction optimale suivi d'une purification sur cartouches de Florisil®

D'autre part, des rendements de 70% et 68% pour les fractions légères et lourdes de HAP respectivement ont été obtenus. Les conditions choisies sont donc optimales puisque ces résultats appartiennent au premier quartile du plan d'expériences (cf. Figure II-15).

Les concentrations en HAP, déterminées dans les mousses avec l'optimum d'extraction par PLE, sont présentées dans le Tableau II-10. Les limites de quantification moyennes (de 0,1 à 2,5 ng.g⁻¹ (MS) pour B(k)F et FLR respectivement) sont inférieures aux concentrations mesurées, validant l'utilisation de la procédure analytique optimale pour la quantification de HAP à l'état de traces dans les mousses. Des concentrations totales de 233 ± 6 ng.g⁻¹ (MS) ont été mesurées pour 13 HAP dans l'échantillon composite d'*Isothecium myosuroides* Brid.. Les teneurs individuelles les plus élevées sont celles du FLR, PHE, FTN et PYR. Les valeurs obtenues sont du même ordre que celles référencées dans la littérature pour des mousses provenant de sites reculés en Europe (cf. Tableau I-6).

La procédure analytique réalisée avec les conditions optimales de PLE est reproductible car les teneurs totales sont déterminées avec 2% d'écart-type relatif et les teneurs individuelles avec de 1 à 22% d'écart-type relatif (pour PYR et ANT respectivement).

Tableau II-10. Concentrations en HAP (ng.g⁻¹, MS) mesurées dans les mousses *Isotheicum myosuroides* Brid. avec les conditions optimales d'extraction par PLE et comparaison avec les valeurs obtenues par Soxtec

HAP	Limite de quantification moyenne ^a	Optimum PLE (n=6)		Soxtec (n=3)	
		Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
ACE	1,0	2,0	0,1	2,6	0,2
FLR	2,5	35,6	3,3	14,0	2,2
PHE	1,3	29,4	3,1	29,6	3,7
ANT	0,2	1,8	0,4	1,7	0,2
FTN	1,3	43,4	1,8	42,0	6,8
PYR	0,6	96,7	1,3	100,5	18,1
B(a)A	0,7	3,4	0,6	4,2	0,4
CHR	0,8	9,5	1,1	11,0	1,3
B(b)F	0,3	2,3	0,2	2,4	0,1
B(k)F	0,1	2,2	0,4	2,1	0,1
B(a)P	0,6	4,1	0,5	4,1	0,2
D(ah)A	0,3	0,7	0,05	0,9	0,1
B(ghi)P	0,3	5,4	0,5	5,3	0,3
Σ HAP		233,5	5,5	220,3	31,1

^a Les limites de quantification moyennes, données à titre indicatif, correspondent aux concentrations équivalentes (en ng.g⁻¹, MS) calculées pour 1,5 g d'échantillon de mousse traitée soumis à un rendement d'extraction moyen de 70%.

II.2.3.2.3. Comparaison avec l'extraction par Soxtec

L'extraction par Soxtec a donné des extraits jaunes vifs, similaires à ceux obtenus avec les conditions optimales de PLE, et des rendements en HAP du même ordre : 77% en moyenne pour la fraction légère (ACE → PYR) et 67% en moyenne pour la fraction lourde (B(a)A → IND). Les concentrations en HAP mesurées avec cette méthode sont présentées dans le [Tableau II-10](#) avec celles obtenues par PLE afin de comparer les deux techniques d'extraction. La procédure analytique avec extraction par Soxtec est reproductible car l'ensemble des concentrations est déterminée avec un écart-type relatif inférieur à 20%. Les valeurs obtenues sont du même ordre qu'en PLE. En effet, les écarts relatifs entre les résultats obtenus avec les deux techniques sont inférieurs à 20% pour tous les HAP, à l'exception de l'acénaphène et du fluorène. Ces composés à deux cycles aromatiques présentent des temps de rétention chromatographiques faibles et sont donc coélués avec des composés interférents, ce qui rend leur quantification difficile. Ainsi, il paraît nécessaire de valider la procédure optimale finale par un matériau de référence (§ II.2.3.4.).

II.2.3.3. Purification par SPE

La purification d'extraits organiques non miscibles avec l'eau tels que les extraits hexaniques est généralement réalisée sur des phases normales. Ces dernières interagissent avec les groupements polaires des analytes à doser ainsi qu'avec les interférents à éliminer. D'après la synthèse bibliographique (§ I.4.2.2.), des adsorbants tels que la silice, l'alumine activée et le Florisil[®] (silicate de magnésium activé) ainsi que la silice greffée avec des fonctions polaires -NH₂ ont déjà été utilisés pour la purification d'extraits de matrices végétales pour la détermination de HAP. Afin de choisir la meilleure purification possible pour la détermination des HAP dans les mousses, ces phases ont donc été comparées avec des cartouches de même volume et contenant la même masse d'adsorbant :

- Supelclean LC-Florisil SPE 1 g/6 mL,
- Supelclean LC-Si SPE 1 g/6 mL,
- Strata NH₂ 1 g/6 mL,
- Strata Alumina-N 120µm, 120Å, 1 g/6 mL.

Les cartouches contenant les adsorbants LC-Florisil, LC-Si et N-Alumina ont été conditionnées avec 10 mL de *n*-hexane et l'élution a été menée avec 8 mL de cyclohexane/dichlorométhane (60:40, v/v). En ce qui concerne les cartouches greffées avec des groupements NH₂, le conditionnement a été réalisé avec 2 x 20 mL de *n*-hexane puis l'élution avec 6 mL *n*-hexane/dichlorométhane (65:35, v/v). Ces protocoles d'élution ont été validés précédemment dans la littérature (Sablayrolles, 2004 ; Blasco *et al.*, 2007). La combinaison d'un solvant apolaire (*n*-hexane ou cyclohexane) avec un solvant faiblement polaire (dichlorométhane) assure une élution efficace des HAP tout en évitant au maximum la co-élution des interférents adsorbés sur la cartouche.

Les cartouches Strata NH₂ ont été éliminées car les chromatogrammes obtenus par CLHP-FLD montrent la présence de pics interférents importants, rendant impossible la quantification des HAP (Figure II-20). La forte présence de composés interférents dans l'extrait final s'explique par une forte élution de ces derniers avec les HAP à analyser. En effet, après élution la cartouche n'est pas colorée et les extraits purifiés présentent la même couleur qu'avant la purification. Les cartouches de ce type n'ont donc pas une affinité suffisante avec les composés que l'on cherche à éliminer.

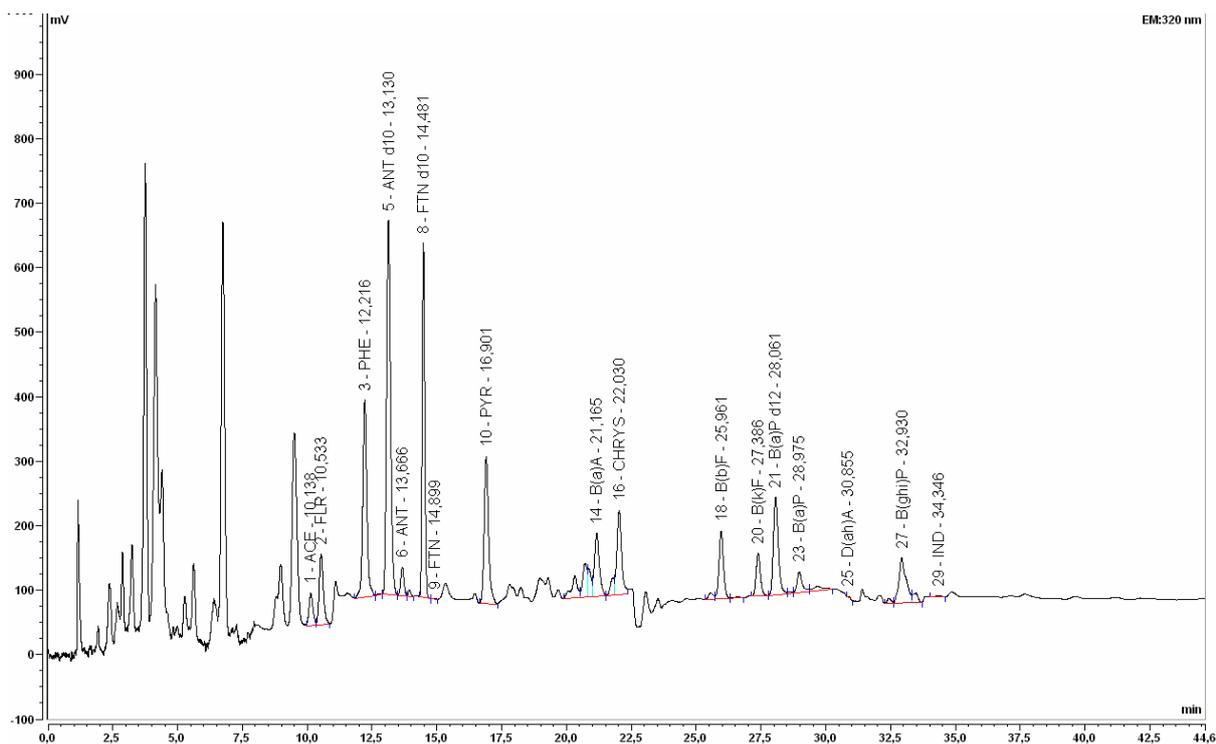


Figure II-20. Chromatogramme obtenu après une purification avec une cartouche Strata NH₂ (1 g/6 mL)

En ce qui concerne les trois autres types de cartouches, des extraits purifiés quasi-incolores à jaunes ont été obtenus à partir des extraits jaunes vifs (Figure II-21). D'un point de vue qualitatif, les cartouches Florisil présentent les meilleures performances : l'adsorbant fortement polaire a éliminé la majorité des pigments. Ainsi, le chromatogramme obtenu après purification sur Florisil contient très peu d'interférents (Figure II-19).

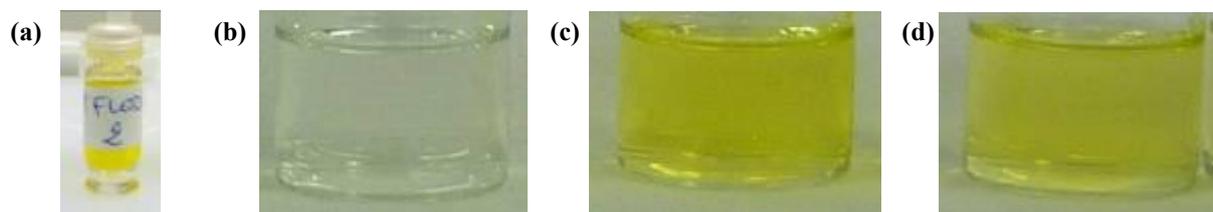


Figure II-21. Aspect des extraits avant purification (a) et après purification par les cartouches : LC-Florisil (b) ; LC-Si (c) ; Strata Alumina-N 120 µm (d)

Les rendements obtenus avec 5 cartouches de chaque type d'adsorbant sont présentés en Figure II-22. Avec la phase Alumina-N, les rendements sont significativement plus faibles : 51% et 59% pour les fractions légères et lourdes respectivement, contre 71% et 71% avec le Florisil et 67% et 75% avec la silice. Les rendements sont équivalents pour les cartouches LC-Florisil et LC-Si. Cependant, les rendements de la fraction légère sont plus variables avec la silice, avec un écart relatif de 20% contre 8% avec le Florisil. Ainsi, d'un point de vue quantitatif, les cartouches LC-Florisil sont plus performantes pour la purification des extraits de mousse obtenus par PLE.

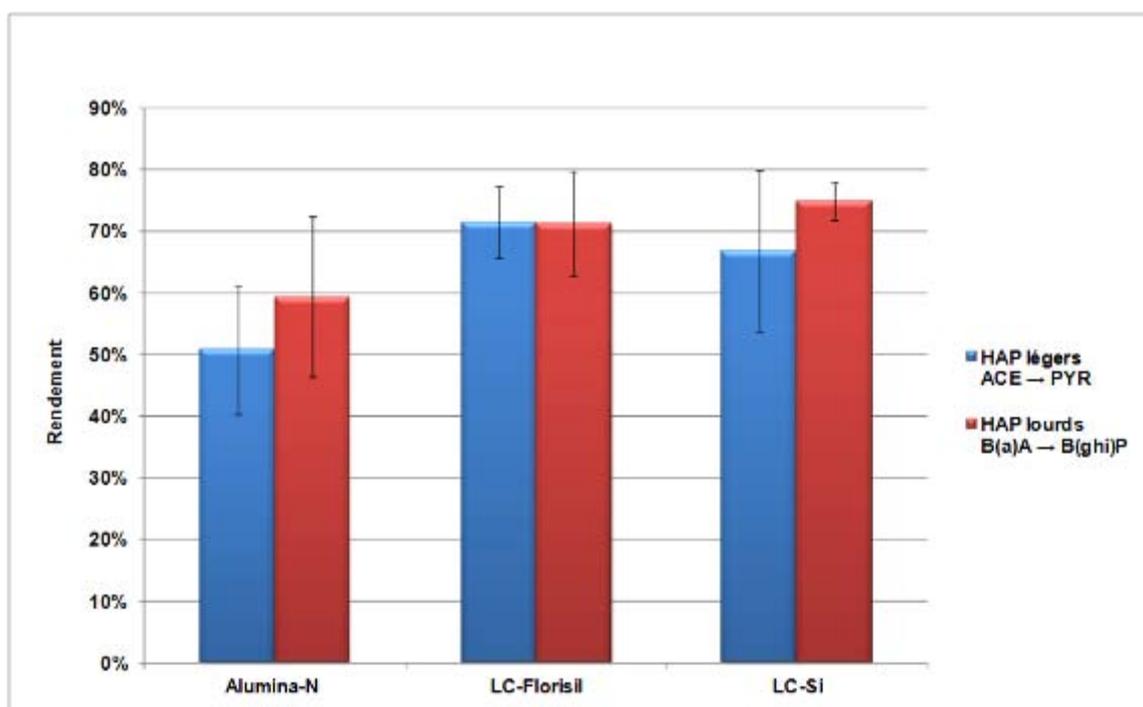


Figure II-22. Rendements d'extractions obtenus après extraction avec les conditions optimales de PLE suivi par différentes purifications

II.2.3.4. Validation avec le matériau de référence

L'agence internationale de l'énergie atomique (IAEA en anglais) prépare 90 matériaux de référence avec des matrices organiques et inorganiques afin que les différents laboratoires puissent évaluer la robustesse de leurs méthodes analytiques de mesure des radionucléides, des éléments traces métalliques, des contaminants organiques et des isotopes stables. L'unique matrice organique végétale disponible référençant les teneurs en contaminants organiques (pesticides organochlorés, PCB, hydrocarbures aliphatiques et HAP) est le matériau IAEA-140/OC Fucus (35g). Il est fourni par ANALAB (France).

L'algue brune commune, *Fucus* sp., utilisée pour la préparation de ce matériau, a été prélevée au large de la Normandie. Les échantillons ont été lyophilisés puis micronisés afin d'obtenir une granulométrie inférieure à 40 µm. La poudre a été homogénéisée par mélange dans un tambour rotatif en acier inoxydable pendant 2 semaines. Après vérification de l'homogénéité, des aliquots de 35 g ont été préparés dans des flacons en verre refermés avec des couvercles doublés de Teflon (IAEA, 2009).

Les teneurs de référence ont été établies à partir de la validation statistique de résultats obtenus lors d'une comparaison inter-laboratoire d'ampleur internationale organisée par l'AIEA (Villeneuve *et al.*, 1997). Des concentrations de référence sont données pour 10 HAP (ANT, PHE, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(k)F, B(a)P, B(ghi)P, IND) sur la base de résultats obtenus par 8 à 28 laboratoires (Tableau II-11). Des concentrations sont données également à titre d'information pour 4 HAP (ACE, FLR, B(b)F, D(ah)A), étant calculées à partir des résultats de 3 à 7 laboratoires seulement.

Tableau II-11. Valeurs certifiées et informatives de concentrations en HAP dans le matériau de référence IAEA-140/OC *Fucus* (médiane et intervalle de confiance de 95% établis avec n résultats)

Analyte	Concentration (ng.g ⁻¹ , MS)	Intervalle de confiance 95% (ng.g ⁻¹ , MS)	n
Valeurs certifiées			
ANT	14	4 - 93	11
PHE	76	40 - 110	28
FTN	88	57 - 110	23
PYR	67	46 - 79	24
B(a)A	25	14 - 32	23
CHR	40	25 - 49	27
B(k)F	19	15 - 27	8
B(a)P	20	16 - 22	15
B(ghi)P	20	17 - 35	15
IND	33	20 - 53	10
Valeurs informatives			
ACE	3,4	3,3 - 7,0	3
FLR	6,5	4,6 - 1600	7
B(b)F	37	33 - 37	6
D(ah)A	4,5	2,6 - 160	6

n : Nombre de résultats de différents laboratoires utilisés pour le calcul des concentrations médianes et des intervalles de confiance de 95%.

Afin de valider la procédure analytique optimale, les conditions optimales de PLE (80 °C, 2 x 5 min), suivies de la purification la plus performante avec les cartouches Supelclean LC-Florisil (1 g/6 mL), ont été testées 3 fois sur le matériau de référence IAEA-140/OC Fucus (Figure II-23). Les concentrations de 8 HAP (ANT, PHE, FTN, PYR, CHR, B(k)F, B(a)P, B(ghi)P) sont incluses dans les intervalles de confiance de 95% des valeurs certifiées par l'AIEA. Seule la teneur en benzo(a)anthracène a été légèrement surestimée à cause de pics chromatographiques interférents résultant de la présence d'autres polluants organiques (PCB et pesticides) au sein du matériau de référence.

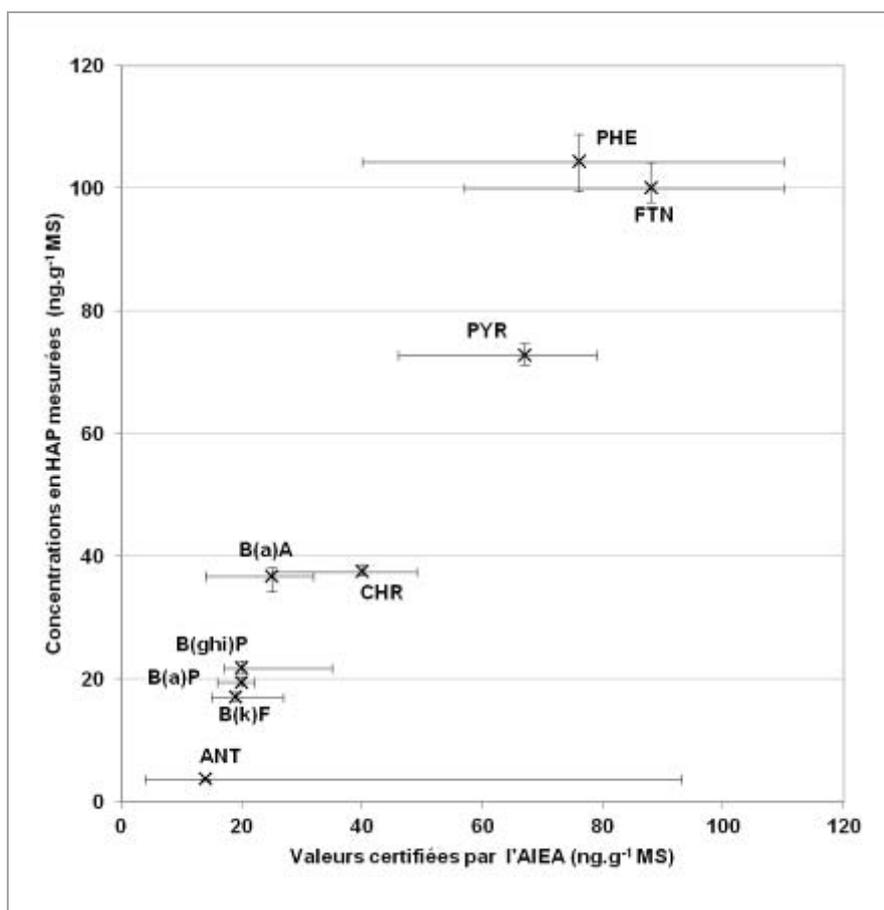


Figure II-23. Concentrations moyennes de 9 HAP mesurées dans le matériau de référence IAEA-140/OC Fucus en fonction des valeurs moyennes certifiées données par l'AIEA (ng.g⁻¹, MS)

Les barres d'erreur verticales correspondent aux concentrations minimales et maximales mesurées. Les barres d'erreur horizontales correspondent aux intervalles de confiance de 95% des valeurs certifiées.

Les concentrations mesurées pour le ACE, FLR, B(b)F et D(ah)A sont également incluses dans les intervalles de confiance de 95% des valeurs informatives données par l'AIEA.

II.3. Conclusion

Les travaux présentés dans ce chapitre ont permis d'optimiser et de valider la procédure analytique de détermination des HAP par CLHP-FLD dans les dépôts totaux et les mousses.

L'analyse par CLHP-FLD des HAP s'avère très sensible, avec des limites de quantification de l'ordre ou inférieures au ng.mL^{-1} , linéaire sur les domaines de concentrations étudiées (LQ-150 ng.mL^{-1}), et répétable, même pour des concentrations traces de 2 ng.mL^{-1} . Appliquée à l'analyse d'extraits de dépôts totaux et de mousses, cette technique permet de déterminer des teneurs traces de HAP, les limites de quantification moyennes étant situées entre $0,4$ et $7,6 \text{ ng.L}^{-1}$ pour les dépôts totaux et entre $0,1$ et $2,5 \text{ ng.g}^{-1}$ (MS) pour les mousses.

La procédure de détermination des teneurs en HAP dans les dépôts totaux, par extraction liquide-liquide suivie d'une analyse par CLHP-FLD, a été testée sur un échantillon prélevé dans le Parc Naturel de Bertiz (Espagne) en décembre 2010 et dopé avec 10 ng.L^{-1} de HAP étalons. En tout, 9 composés ont été quantifiés à des teneurs de 2 à 12 ng.L^{-1} avec une précision et une justesse satisfaisante. Parmi les HAP quantifiés, 5 appartiennent à la fraction légère : FLR, PHE, FTN, ANT, PYR, et 4 à la fraction lourde : B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P. Ces composés pourront ainsi être quantifiés lors de l'étude des flux de HAP atmosphériques dans le Parc Naturel de Bertiz. Cette détermination tiendra compte des pertes dues au stockage. La validation de la procédure analytique de détermination des teneurs en HAP dans les dépôts est contenue dans l'article "*Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbon deposition in a Nature Reserve in Navarra (Spain): Seasonal and spatial distribution*", *Environmental Engineering and Management Journal* (Foan *et al.*, accepté) présenté en Annexe XII.

L'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses a été optimisée grâce à la réalisation d'un plan d'expériences (plan factoriel centré du premier ordre). Dans les conditions optimales (2 cycles statiques de 5 min à $80 \text{ }^\circ\text{C}$), la procédure analytique présente l'avantage vis-à-vis du Soxtec de réduire par 3 la consommation de solvant (environ 30 mL contre 100 mL) et de diminuer par 5 le temps d'extraction (24 cellules extraites en 8 h contre

2 extraits obtenus en 3,5 h). Différentes phases normales ont été testées pour la purification des extraits de mousses et ont confirmé l'efficacité du Florisil® (silicate de magnésium activé). L'ensemble de la procédure a été validée par un matériau de référence. L'étude d'échantillons réels a permis de quantifier 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) à des teneurs allant d'environ 1 à 100 ng.g⁻¹ (MS). Le développement et l'optimisation analytique de la détermination des teneurs en HAP dans les mousses sont présentés dans l'article "*Optimization of pressurized liquid extraction using a multivariate chemometric approach and comparison of solid-phase extraction cleanup steps for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in mosses*" soumis à *Journal of Chromatography A* (Annexe XIII). La procédure optimale sera utilisée dans les chapitres suivants pour étudier les variations spatio-temporelles des teneurs en HAP dans les mousses.

CHAPITRE III.

**ÉTUDE HISTORIQUE DE LA QUALITÉ
DE L'AIR D'UN SITE FORESTIER
PYRÉNÉEN**

Au sein de cet environnement instable et turbulent, un seul élément
reste constant : le changement.

Tenzin Gyatso (1935- ...)

La pollution atmosphérique est une problématique ancienne déjà citée dans des récits du Moyen-Âge qui rapportent que l'air de villes médiévales d'Europe était vicié par la fumée des feux de bois ou de charbon à laquelle s'ajoutaient des odeurs provenant d'activités diverses. L'avènement du charbon comme moyen de chauffage marque le début du mécontentement populaire et le début du XIV^{ème} siècle est la date retenue par les historiens à laquelle la pollution atmosphérique est devenue un problème social. Les émissions anthropiques se sont intensifiées à partir du XVIII^{ème} siècle, lors de la révolution industrielle durant laquelle l'exploitation industrielle des mines de charbon a permis de développer des secteurs majeurs tels que la métallurgie (Halliday, 1961). Mais l'historique scientifique par le suivi des concentrations et des émissions de polluants est beaucoup plus récent. Ainsi, la surveillance de la qualité de l'air ambiant extérieur a débuté en France dans les années 1960, à l'aide de méthodes manuelles basées essentiellement sur l'analyse chimique différée en laboratoire, et s'est développée à partir de la fin des années 1970 grâce aux techniques instrumentales automatiques (Mathé et Houdret, 2009). Les émissions des HAP les plus toxiques, tels que le benzo(a)pyrène, ont été recensées à l'échelle européenne à partir du début des années 1980 par le programme EMEP qui a également mis en place un réseau européen de mesure de ces composés dans l'air ambiant et les précipitations (Gusev *et al.*, 2011). Ce développement a résulté d'une prise de conscience de l'impact sanitaire et écologique de la qualité de l'air, associée à des progrès techniques permettant son étude.

Afin d'étudier les retombées atmosphériques datant de périodes antérieures au milieu du XX^{ème} siècle, des « témoins » environnementaux sont à notre disposition. En ce qui concerne les HAP, des études ont déjà été effectuées avec des glaces polaires (Vehviläinen *et al.*, 2002), de la tourbe (Sanders *et al.*, 1995) et des cernes d'arbres (Kuang *et al.*, 2011). Une autre possibilité consiste à utiliser des végétaux bioaccumulateurs conservés dans des herbiers, notamment des bryophytes. Ces dernières ont déjà été utilisées afin de reconstruire l'évolution des dépôts atmosphériques de métaux lourds et d'azote depuis le XIX^{ème} siècle (Shotbolt *et al.*, 2007 ; Wilson *et al.*, 2009). Elles constituent des matrices adaptées, étant donné que leur nutrition se fait quasi-exclusivement par voie aérienne. Toutefois, à ce jour, aucune étude réalisée à l'aide de bryophytes n'a recensé les retombées historiques de HAP.

L'objectif des travaux présentés dans ce chapitre consiste à étudier la faisabilité de l'utilisation d'échantillons de bryophytes afin de reconstruire les variations temporelles des retombées atmosphériques de HAP sur un site rural pendant une période d'environ 130 ans et

d'identifier les sources historiques de contamination atmosphérique. Pour répondre à cette problématique, des échantillons de mousses d'herbier, collectés sur le site de Bertiz au cours de trois périodes du XIX^{ème}, XX^{ème} et XXI^{ème} siècle et conservés dans l'herbier de l'Université de Navarre, ont été caractérisés par rapport à leur teneur en HAP. Afin de faciliter l'identification des sources historiques de pollution atmosphérique, l'abondance d'isotopes naturels stables de carbone et d'azote dans les mousses a également été mesurée. En effet, la composition isotopique des éléments majeurs tels que le carbone et l'azote évolue de manière prévisible lors de leur transfert dans la biosphère, ce qui en fait des traceurs idéaux des sources et des voies de dispersion de ces éléments dans l'environnement (Solga *et al.*, 2005 ; Liu *et al.*, 2008a)

Ce chapitre est constitué d'une présentation de l'histoire du Parc Naturel de Bertiz, suivi d'un descriptif de la méthodologie appliquée pour l'étude des mousses d'herbier ainsi que d'une discussion des résultats permettant de valider l'utilisation de mousses d'herbier pour reconstruire les tendances historiques des retombées atmosphériques de HAP. L'ensemble de l'étude est présentée dans l'article "*Reconstructing historical trends of PAH deposition in a remote area of Spain using moss material from a herbarium*", *Atmospheric Environment* (Foan *et al.*, 2010) (Annexe XI).

III.1. Historique du Parc Naturel de Bertiz

Le Parc de Bertiz a été une propriété privée entre le XIV^{ème} siècle et 1949. Il a notamment appartenu à Pedro Miguel Bertiz, dont le nom a été donné au Parc par le Roi Carlos III en reconnaissance des tâches diplomatiques que ce dernier a entreprises pour maintenir le Royaume de Navarre. Au XIX^{ème} siècle, la forêt de Bertiz était exploitée pour la production de charbon végétal destiné aux aciéries des vallées voisines (Lesaka, Extalar...) et du Guipuzcoa (Pays Basque) ainsi que pour l'approvisionnement en bois pour la construction de Donostia-San Sebastián (Erdozáin et Mikelarena, 2002 ; Esparza, 2000). La production de charbon par pyrolyse du bois récolté était réalisée au sein même du Parc dans des loges appelées charbonnières (Figure III-1).



Figure III-1. Charbonnières reconstituées au sein du Parc Naturel de Bertiz

Suite au rachat du Parc par Pedro Ciga et Dorotea Fernández en 1898, l'exploitation forestière et la production de charbon végétal ont cessé. Les nouveaux propriétaires ont également repeuplé des clairières et réalisé les chemins d'accès au Parc. Les villageois se chargeaient de couper le bois mort, utilisé pour le chauffage domestique (Esparza, 2000). En 1949, le Parc fut légué par Pedro Ciga à la Communauté Autonome de Navarre, afin d'en conserver sa biodiversité. Le site a ensuite été déclaré Parc Naturel en mars 1984 (directive 92/43/CEE du 21 mai 1992). Ainsi, à l'exception de l'abattage de chênes vers 1950 pour la fabrication de bateaux et de tonneaux à Carthagène, ainsi que lors du ramassage du bois après les tempêtes, aucune exploitation forestière n'a été recensée au XX^{ème} siècle (GN, 2007).

III.2. Méthodologie

III.2.1. SPÉCIMENS DE MOUSSES D'HERBIER

L'étude historique des retombées atmosphériques de HAP sur le site forestier du Parc Naturel de Bertiz a été réalisée au moyen de mousses conservées dans l'herbier PAMP de l'Université de Navarre. Les bryophytes sont stockées dans des enveloppes en papier, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Les espèces *Dicranum scoparium* Hedw., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Thamnobryum alopecurum* Hedw. Gangulee et *Thuidium tamariscinum* Hedw. Schimp ont été sélectionnées pour l'étude par rapport à leur morphologie et leur habitat (Figure III-2). Au total, 28 spécimens prélevés à différentes saisons ont été choisis et datent de 1879-1881 (Lacoizqueta, 1885), 1973-1975 (Fuertes et Álvarez, 1982) et 2006-2007. Les dates, lieux et supports d'échantillonnage sont référencés en Annexe II.



Figure III-2. Espèces analysées pour l'étude historique des retombées atmosphériques de HAP à Bertiz : (a) *Dicranum scoparium* Hedw., (b) *Thuidium tamariscinum* Hedw. Schimp, (c) *Thamnobryum alopecurum* Hedw. Gangulee (d) *Hypnum cupressiforme* Hedw. (Source : www.biopix.eu)

III.2.2. PROCEDURE ANALYTIQUE

Une procédure analytique spécifique a été utilisée pour l'étude des mousses issues de l'herbier en ce qui concerne la préparation des échantillons et l'extraction des HAP. En effet, le travail a été effectué avec l'approche classique utilisée au laboratoire avant la phase de développement analytique (présentée Chapitre II). D'autre part, des analyses élémentaires et isotopiques de carbone et d'azote ont été effectuées sur les échantillons d'herbier afin de faciliter l'identification des sources historiques de contamination atmosphérique.

III.2.2.1. Préparation des échantillons

Les pousses terminales des mousses ont été prélevées et placées à l'étuve à 30 °C jusqu'à obtention d'une masse constante, correspondant à la masse sèche. Les échantillons ont ensuite été broyés dans un moulin électrique en acier inoxydable.

III.2.2.2. Extraction et analyse des HAP

Afin d'analyser les HAP dans les mousses d'herbier par CLHP-FLD, des extractions par Soxtec suivies de purifications sur cartouches SPE ont été effectuées. La procédure analytique est résumée en [Figure III-3](#). Etant donné que peu de matière était disponible dans l'herbier, les extractions ont été réalisées sur seulement un réplica de 1 g de mousse sèche. Le protocole d'extraction par Soxtec est présenté § II.1.4.3.1.. L'extrait a été concentré à 10 mL avec un évaporateur rotatif placé dans un bain thermostaté à 30 °C (Rotavapor, Büchi, Suisse), puis à 1 mL par un courant d'azote (alpha 1, air Liquide, France). La purification a été réalisée sur des cartouches Supelclean LC-Florisil SPE 1 g (Supelco, France) suivant le protocole présenté § II.1.6.. Deux analyses ont été réalisées par échantillon.

Les rendements globaux du procédé analytique varient de 25 à 71% avec une moyenne de 54% pour la fraction légère de HAP (ACE à PYR) et de 27 à 79% avec une moyenne de 60% pour la fraction lourde de HAP (B(a)A à IND).

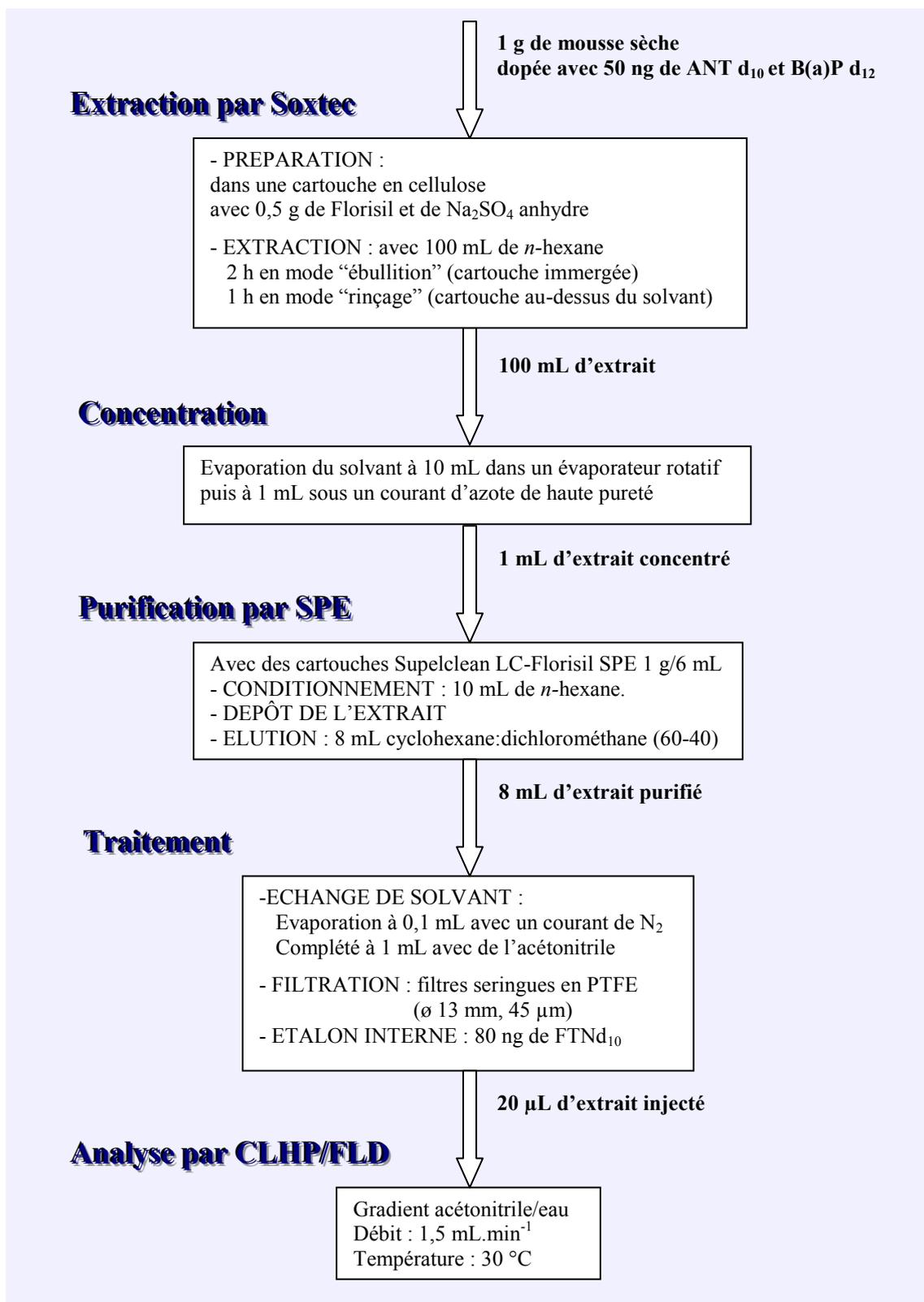


Figure III-3. Procédure analytique appliquée aux mousses d'herbier (*Dicranum scoparium*, *Hypnum cupressiforme*, *Thamnobryum alopecurum* ou *Thuidium tamariscinum*) pour déterminer leurs teneurs en HAP

III.2.2.3. Analyses élémentaires et isotopiques de C et N

III.2.2.3.1. Principe de l'analyse isotopique

Un même élément chimique (caractérisé par son « nombre de charges », Z) peut se présenter sous différentes formes nommées isotopes. Celles-ci diffèrent les unes des autres uniquement par le « nombre de masse », c'est-à-dire le nombre de neutrons dans le noyau atomique. Certains isotopes sont naturels, d'autres sont créés artificiellement par des réactions nucléaires. Par exemple, si tous les atomes de carbone possèdent 6 protons, certains possèdent 5 neutrons (^{11}C , isotope artificiel), d'autres 6 (^{12}C), 7 (^{13}C) voire 8 (^{14}C). Les isotopes sont dits « stables » lorsqu'ils ne conduisent pas à une désintégration radioactive. Le ^{14}C se désintègre naturellement de façon radioactive, produisant un rayonnement β^- . Le ^{12}C et le ^{13}C , en revanche, existent de façon permanente et sont qualifiés de stables. Pratiquement tous les éléments essentiels constituant la matière vivante présentent différentes formes isotopiques stables. C'est le cas notamment du carbone (^{12}C , ^{13}C) et de l'azote (^{14}N , ^{15}N).

Les isotopes ayant un (ou des) neutron(s) supplémentaire(s) ont une masse molaire plus élevée et sont ordinairement qualifiés de « lourds ». C'est grâce à cette propriété que les différents isotopes sont analysés en spectrométrie de masse. En effet, le fonctionnement de cette technique reposant sur le comportement des particules chargées (après ionisation) lancées avec une vitesse initiale dans un champ magnétique constant, leur rayon de courbure ne dépend que du rapport masse/charge (m/q). Par exemple, les molécules de CO_2 sont ionisées en $\text{CO}_2^{\bullet+}$ et projetées dans un champ magnétique. Les ions $^{13}\text{CO}_2^{\bullet+}$ et $^{12}\text{CO}_2^{\bullet+}$ vont décrire une trajectoire circulaire uniforme, mais le rayon de celle de $^{13}\text{CO}_2^{\bullet+}$ sera légèrement plus grand. Si on est capable de compter les ions décrivant des trajectoires de différents rayons, on peut remonter aux proportions de ^{12}C et ^{13}C dans le CO_2 .

Les analyses sont réalisées en flux continu par un spectromètre de masse isotopique couplé à un dispositif préparatif : un analyseur élémentaire. Cet appareil brûle la matière organique (oxydation) dans un mélange He- O_2 en présence d'un catalyseur métallique (oxyde de cobalt argenté). Les gaz issus de la combustion (H_2O , CO_2 , NO_2) sont alors réduits en présence de cuivre métallique (NO_2 est converti en N_2) puis séparés par chromatographie en phase gazeuse. Le N_2 et le CO_2 obtenus sont donc temporellement séparés, et l'analyse isotopique est rapidement réalisée car le spectromètre de masse isotopique est directement connecté en aval de l'analyseur élémentaire (Tcherkez, 2010).

III.2.2.3.2. Protocole d'analyse

Les analyses élémentaires et isotopiques de carbone et d'azote ont été pris en charge au sein du LICA par l'équipe du Pr. Jesús Miguel Santamaría. Les teneurs des mousses en C et N (% , masse sèche) ont été déterminées par analyse élémentaire (EA1108, Carlo Erba, Milano, Italie) avec une précision analytique de 0,1%. L'étalonnage est réalisé avec de l'atropine (ThermoQuest Italia, Milan, Italy). Les isotopes stables de C et N ont été mesurés à l'aide d'un spectromètre de masse isotopique (CONFLO II interface, Thermo Finnigan MAT, Bremen, Allemagne) opérant en flux continu. L'étalonnage est réalisé avec des étalons internationaux validés par des comparaisons inter-laboratoires menées par l'AIEA : Pee Dee Belemnite (PDB) pour le carbone et N₂ atmosphérique pour l'azote. Les données isotopiques sont présentées avec des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$, qui représentent des différences relatives en pour mille (‰) entre les compositions isotopiques de l'échantillon et de l'étalon :

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Eq. IV-1}$$

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Eq. IV-2}$$

avec $R_{\text{échantillon}}$ et $R_{\text{étalon}}$ le rapport isotopique ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) ou ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) dans l'échantillon et l'étalon.

La précision analytique est de $\pm 0,15\text{‰}$ pour $\delta^{13}\text{C}$ et $\pm 0,3\text{‰}$ pour $\delta^{15}\text{N}$.

III.3. Résultats et discussion

III.3.1. ANALYSES ÉLÉMENTAIRES ET ISOTOPIQUES DE C & N

III.3.1.1. Concentrations des mousses en C et N

Les mousses provenant de l'herbier présentent des teneurs en azote de 0,8% à 1,8%. Les concentrations sont significativement plus élevées ($p < 0,05$) dans les échantillons du XIX^{ème} siècle que dans ceux du siècle actuel (Figure III-4). Or, plusieurs études précédentes ont montré au contraire une augmentation historique des teneurs en azote dans les mousses (Peñuelas et Filella, 2001 ; Solga *et al.*, 2006 ; Wilson *et al.*, 2009). Les activités historiques du site de Bertiz expliquent toutefois pourquoi les teneurs en azote ne concordent pas avec la tendance générale. En effet, au XIX^{ème} siècle, les poêles à bois, qui constituaient l'unique mode de chauffage domestique aux alentours du site, et les charbonnières, mises en place au sein de la forêt de Bertiz, ont été localement des sources importantes de NO_x. La disparition des charbonnières et des aciéries locales à la fin du XIX^{ème} siècle et la baisse de l'utilisation du chauffage au bois au cours du XX^{ème} siècle ont probablement conduit à une baisse des émissions de NO_x et par conséquent à des teneurs plus faibles en azote dans les mousses (Erdozáin et Mikelarena, 2002 ; Esparza, 2000). D'autre part, une étude menée en Espagne suggère que la baisse des teneurs en azote dans les plantes vasculaires et les mousses entre les périodes 1940-1950 et 1960-1970 résulte de l'augmentation globale des teneurs atmosphériques en CO₂ (Peñuelas et Filella, 2001). En effet, la disponibilité plus importante du CO₂ favorise l'activité photosynthétique, ce qui conduit à un accroissement de la biomasse. A Bertiz, la baisse des teneurs en azote dans les mousses peut donc également s'expliquer par une dilution des nutriments tels que l'azote par la biomasse.

L'espèce *Thamnobryum alopecurum* a montré des teneurs en azote significativement plus élevées ($p < 0,05$), expliquées par son habitat qui diffère des trois autres espèces. En effet, il s'agit d'une mousse hygrophyte qui croît sur les rochers situés au bord des ruisseaux, à hauteur du niveau moyen du cours d'eau. Par conséquent, la source principale d'eau et de nutriments est constituée par les eaux de surface, plus chargées en azote que l'eau de pluie. Les autres espèces sont des mousses mésophytes, qui poussent sur le sol ou le bois, et dont les précipitations sont la principale source d'eau (Mägdefrau, 1982 ; Dierssen, 2001).

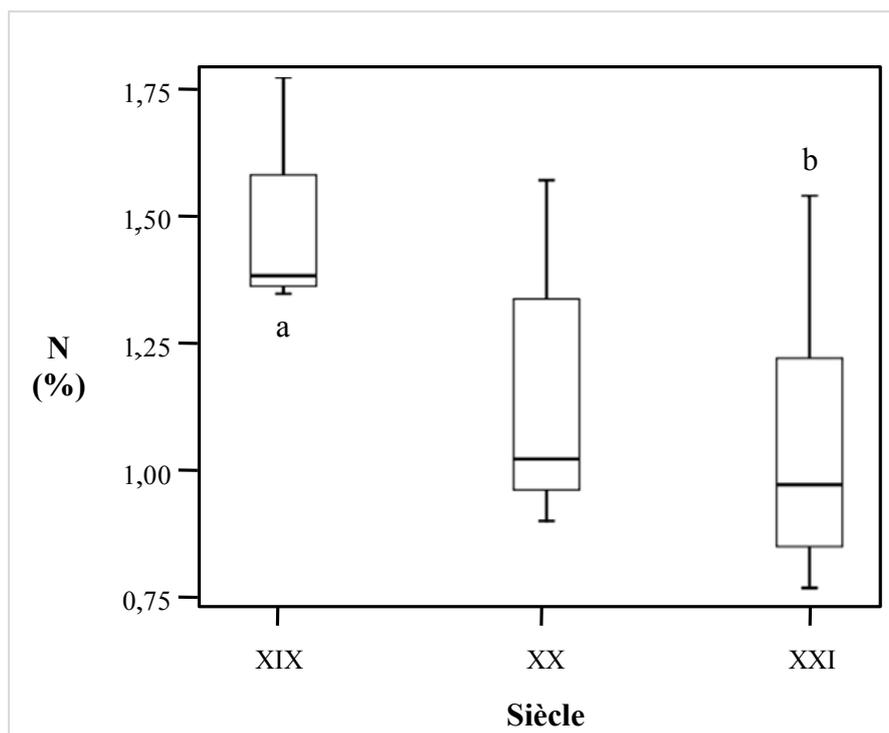


Figure III-4. Variations temporelles des teneurs en azote (% de masse sèche) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz pendant trois périodes d'échantillonnage : 1879 – 1881 (XIX^{ème} siècle), 1973 – 1975 (XX^{ème} siècle) et 2006 – 2007 (XXI^{ème} siècle), puis conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune

Les limites inférieures et supérieures des boîtes à moustache représentent les 25^{ème} et 75^{ème} percentiles et la ligne au sein des boîtes la médiane des valeurs mesurées. Les boîtes auxquelles sont accolées des lettres différentes contiennent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

En ce qui concerne le carbone, les concentrations varient entre 30,9% et 43,9%, mais aucune différence significative n'est observée entre les différentes périodes d'échantillonnage ainsi qu'entre les différentes espèces.

III.3.1.2. Signatures isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ des mousses

Les rapports isotopiques moyens mesurés dans les mousses d'herbier s'étendent de -30,5‰ à -25,1‰ pour $\delta^{13}\text{C}$ et de -9,3‰ à 0,6‰ pour $\delta^{15}\text{N}$. Le rapport $\delta^{13}\text{C}$ moyen a montré une diminution significative ($p < 0,05$) au fil des siècles, alors qu'en ce qui concerne le rapport $\delta^{15}\text{N}$, seules les mousses collectées au XIX^{ème} siècle ont révélé des valeurs significativement supérieures ($p < 0,05$) à celles du XXI^{ème} siècle (Figure III-5).

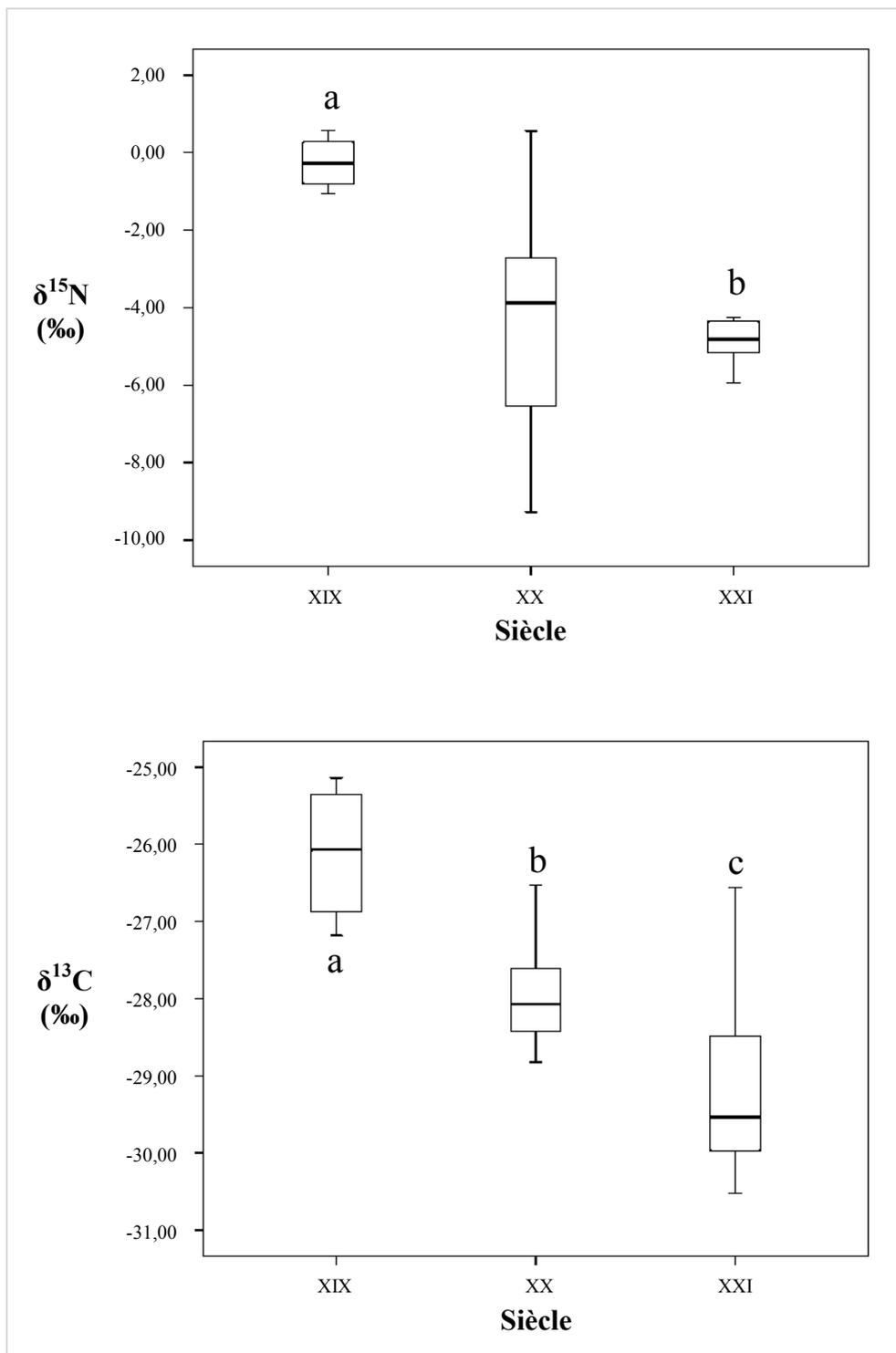


Figure III-5. Variations temporelles de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz pendant trois périodes d'échantillonnage : 1879 – 1881 (XIX^{ème} siècle), 1973 – 1975 (XX^{ème} siècle) et 2006 – 2007 (XXI^{ème} siècle), puis conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune.

Les limites inférieures et supérieures des boîtes à moustache représentent les 25^{ème} et 75^{ème} percentiles et la ligne au sein des boîtes la médiane des valeurs mesurées. Les boîtes auxquelles sont accolées des lettres différentes contiennent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

L'appauvrissement des mousses de Bertiz en ^{15}N entre 1879 et 2007 est en accord avec les autres études menées en Europe sur des échantillons de mousses d'herbier (Peñuelas et Filella, 2001 ; Solga *et al.*, 2006). La gamme des signatures isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ mesurées dans les mousses de Bertiz sur 128 ans est sensiblement plus faible que les valeurs d'environ -3‰ à 5‰ recensées par Peñuelas et Filella (2001) dans des échantillons *Grimmia laevigata*, *Hypnum cupressiforme*, et *Pleurochaete squarrosa* du nord-est de l'Espagne datant de 1920 à 1990. En revanche, elle est similaire aux rapports d'environ -8‰ à 0‰ observées par Solga *et al.* (2006) dans des échantillons de *Pleurozium schreberi* et *Scleropodium purum* prélevés dans l'ouest de l'Allemagne entre 1857 et 2000. La diminution historique des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ dans les mousses reflète un appauvrissement en ^{15}N , c'est-à-dire une incorporation plus importante d'azote d'origine anthropique appauvri en ^{15}N . La tendance observée peut être expliquée par l'intensification progressive de l'agriculture au cours du XX^{ème} siècle conduisant à l'augmentation des émissions d'azote sous forme réduite (NH_x), appauvries en ^{15}N (Peñuelas et Estiarte, 1996). D'autre part, la combustion de la biomasse émet des aérosols et des cendres riches en ^{15}N (Turekian *et al.*, 1998). Ainsi, les valeurs élevées de $\delta^{15}\text{N}$ observées dans les échantillons du XIX^{ème} siècle résulteraient de la pyrolyse du bois des hêtres dans les charbonnières ainsi que de sa combustion par le chauffage domestique.

Les signatures isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ observées dans les mousses sont du même ordre de grandeur que celles mesurées dans les plantes vasculaires possédant un métabolisme en C_3 . En effet, le rapport isotopique $\delta^{13}\text{C}$ de l'atmosphère est d'environ -8‰ et la photosynthèse fractionne en défaveur du ^{13}C jusqu'à une valeur médiane de -27‰ chez les plantes terrestres en C_3 (Marshall *et al.*, 2007). La diminution historique des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ dans les mousses est liée à l'appauvrissement progressif de l'atmosphère terrestre en ^{13}C . En effet, le rapport isotopique $\delta^{13}\text{C}$ moyen dans l'atmosphère a baissé de -7,8‰ à -8,2‰ entre 1992 et 2005 (mesures d'une station reculée du Canada, rapportées par Tcherkez (2010)). Cela va de pair avec l'augmentation de la teneur atmosphérique globale en CO_2 , associée à sa libération par les activités humaines, en particulier par la combustion des matières fossiles (5 $\text{Gt}\cdot\text{an}^{-1}$ de carbone), ces dernières étant appauvries en ^{13}C (pétrole : -32‰, méthane : -45‰) (Tcherkez, 2010). L'augmentation des émissions de CO_2 depuis le début du XX^{ème} siècle, suite à l'augmentation graduelle du parc automobile mondial jusqu'à plus d'un milliard de véhicules actuellement (source : www.cdfa.fr), a donc conduit à un appauvrissement de l'atmosphère en ^{13}C .

Aucune différence significative n'a été observée entre les rapports $\delta^{13}\text{C}$ mesurés dans les 4 espèces. Les rapports $\delta^{15}\text{N}$ mesurés dans les espèces *Dicranum scoparium* et *Thamnobryum alopecurum* sont significativement différents ($p > 0,05$), avec respectivement les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ les plus faibles et les plus élevées. Comme pour les teneurs en azote, ces différences peuvent s'expliquer par leurs biotopes. En effet, les précipitations sont appauvries en N, alors que les eaux de surface sont enrichies en ^{15}N (Heaton *et al.*, 1997 ; Asada *et al.*, 2005). Ainsi les espèces mésophytes telles que *Dicranum scoparium* ont tendance à être plus appauvries en ^{15}N que les espèces hygrophytes telles que *Thamnobryum alopecurum*. D'autre part, *Dicranum scoparium* est une espèce acrocarpe, dont la morphologie ne permet pas d'absorber autant d'eau que les autres espèces étudiées qui sont pleurocarpes.

III.3.2. TENEURS HISTORIQUES DES MOUSSES EN HAP

A l'exception de l'anthracène et le dibenzo(a,h)anthracène dont les teneurs sont faibles, les concentrations des HAP étudiés ont diminué significativement entre 1879-1881 et 1973-1975 ($p < 0,01$) (Tableau III-1). Seules les concentrations en benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(g,h,i)perylène et indeno(c,d)pyrène ont également diminué significativement entre 1973-1975 et 2006-2007 ($p < 0,01$). Il en résulte que les teneurs en HAP ont baissé significativement entre le XIX^{ème} et le XX^{ème} siècle ($p < 0,01$) mais pas entre le XX^{ème} et le XXI^{ème} siècle. La teneur moyenne en 13 HAP est de 172 ng.g⁻¹ (masse sèche) dans les échantillons de 2006-2007 contre 1219 ng.g⁻¹ (masse sèche) dans les échantillons de 1879-1881. Le phénanthrène est le HAP majoritaire quel que soit l'âge de la mousse. En effet, ce composé constitue 47% de la concentration totale moyenne mesurée dans les échantillons de 2006-2007 et ce pourcentage a augmenté depuis 1879 (respectivement 24% et 39% dans les échantillons du XIX^{ème} et XX^{ème} siècle). Le fluoranthène et le pyrène sont les autres composés majoritaires mesurés dans les mousses de Bertiz, avec une contribution de 33 à 39% de la teneur totale. Les HAP appartenant à la fraction lourde (benzo(a)anthracène à indeno(c,d)pyrène) ont contribué à environ la moitié de la concentration totale dans l'échantillon du XIX^{ème} siècle mais sont apparus comme des composés minoritaires dans les mousses de 2006-2007, avec une contribution de 12% à la teneur totale en HAP et des concentrations individuelles inférieures à 6 ng.g⁻¹ (MS).

Tableau III-1. Concentrations en HAP (ng.g⁻¹, masse sèche) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz au XIX^{ème}, XX^{ème} et XXI^{ème} siècles : valeurs moyennes et étendue des mesures (minimum – maximum)

HAP	Période de prélèvement		
	1879 – 1881	1973 – 1975	2006 – 2007
ACE	39,0 12,2 – 62,4	2,5 < 1,5 – 3,3	4,1 < 1,5 – 12,7
FLR	85,5 37,9 – 143,2	13,9 < 10,4 – 18,7	15,1 < 10,4 – 21,3
PHE	298,8 118,9 – 622,0	127,9 98,6 – 174,3	81,1 26,9 – 142,2
ANT	6,2 2,9 – 9,4	4,7 3,2 – 9,6	3,2 1,2 – 9,9
FTN	252,2 145,5 – 466,4	65,4 32,7 – 123,0	38,1 10,2 – 152,7
PYR	220,9 127,4 – 436,7	44,8 29,1 – 66,4	18,5 6,8 – 39,0
B(a)A	97,0 66,9 – 120,1	8,3 4,2 – 11,9	3,1 < 1,2 – 7,0
B(b)F	86,8 65,6 – 95,5	18,8 9,3 – 40,9	3,0 1,8 – 5,5
B(k)F	40,6 29,6 – 49,1	6,6 3,2 – 14,3	0,8 < 0,5 – 1,8
B(a)P	31,6 28,5 – 34,8	9,7 < 1,4 – 17,8	2,4 < 1,4 – 1,7
D(ah)A	3,6 3,0 – 4,6	1,8 < 1,3 – 3,3	4,2 < 1,3 – 7,8
B(ghi)P	31,2 21,7 – 55,1	18,5 10,9 – 35,3	5,6 2,0 – 16,1
IND	25,2 17,5 – 35,0	9,9 5,8 – 21,0	2,0 < 2,0 – 2,5
<i>Total</i>	<i>1218,6</i> <i>782,8 – 2009,1</i>	<i>328,2</i> <i>206,1 – 464,6</i>	<i>171,8</i> <i>86,0 – 372,5</i>

Les concentrations individuelles et totales en HAP n'ont pas montré de variations significatives entre les espèces étudiées.

En prenant en compte l'ensemble des concentrations mesurées dans les mousses de Bertiz, trois groupes de HAP apparaissent comme significativement corrélés ($p < 0,01$, $r = [0,955 - 0,989]$) :

- l'acénaphène et le fluorène (HAP à 2 cycles aromatiques),
- le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène (HAP à 3 cycles aromatiques),
- le benzo(a)anthracène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène, le benzo(a)pyrène et l'indeno(c,d)pyrène (HAP à 4-5 cycles aromatiques).

Les mousses de Bertiz échantillonnées en 2006 - 2007 présentent des concentrations totales du même ordre de grandeur que d'autres études de biosurveillance passive menées durant la dernière décennie en Autriche (Zechmeister *et al.*, 2006 ; Krommer *et al.*, 2007) et en République Tchèque (Holoubek *et al.*, 2007b). La contribution des HAP individuels à la concentration totale est également similaire, avec le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène comme composés majoritaires. D'autre part, les études menées par Holoubek *et al.* (2000, 2007) ont montré une baisse significative des teneurs en HAP entre 1988 - 1994 et 1996-2005, en accord avec l'appauvrissement en HAP des mousses de Bertiz en HAP depuis 1879.

La diminution significative des teneurs en HAP dans les mousses de Bertiz depuis 1879 ($p < 0,01$) s'explique par l'évolution des émissions anthropiques dans cette zone. Au cours du XIX^{ème} siècle, la production de charbon végétal par pyrolyse du bois dans les charbonnières situées dans la forêt, la combustion du charbon dans les aciéries locales et la combustion du bois pour le chauffage domestique sont des activités qui ont dû émettre des quantités considérables de HAP, étant donné qu'il s'agit de combustions de biomasse dans des conditions non optimales (Freeman et Cattell, 1990). Ainsi, les teneurs en HAP ont chuté au cours du XX^{ème} siècle suite à l'abandon des activités liées au charbon végétal et au changement des modes de chauffage domestique, tels que le fioul ou le gaz, qui émettent des quantités moindres de HAP. En effet, l'émission de HAP lors de la combustion dans des poêles à bois peut être 100 fois plus élevée que dans une chaudière à fioul pour la même quantité d'énergie produite (Smith, 1987) et les appareils alimentés au gaz émettent peu de carbone organique particulaire (Rogge *et al.*, 1993a).

D'autre part, la diminution significative des HAP lourds entre 1973-1975 et 2006-2007 ($p < 0,01$) est liée à la limitation des émissions atmosphériques suite à la signature en 1979 de la Convention de Genève sur la Pollution Atmosphérique Transfrontalière Longue

Distance. Un protocole concernant les POP a notamment été ratifié à Aarhus en 1998. Ce dernier régule les émissions des HAP les plus toxiques : le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène, le benzo(a)pyrène et l'indeno(c,d)pyrène. Ainsi, l'émission de ces composés a baissé de 56% en France entre 1991 et 2007 (CITEPA, 2011a) grâce au contrôle des émissions industrielles, à l'utilisation dans les transports routiers de pots catalytiques depuis 1990 et aux progrès récents en matière d'efficacité de combustion dans les systèmes de chauffage. Une étude a notamment montré des émissions de HAP 25 fois plus faibles pour des véhicules munis de pots catalytiques (Rogge *et al.*, 1993b). La limitation simultanée de ces HAP lourds explique probablement pourquoi leurs teneurs dans les mousses sont significativement corrélées ($p < 0,01$).

Le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène, dont les teneurs dans les mousses sont corrélées ($p < 0,01$), sont les composés majoritaires dans les retombées atmosphériques de HAP à Bertiz depuis 1879. Ces composés sont des marqueurs de la combustion du bois (Khalili *et al.*, 1995 ; Smith et Harrison, 1998). Ainsi les teneurs très élevées ($> 200 \text{ ng.g}^{-1}$, MS) mesurées dans les échantillons prélevés en 1879-1881 et leur diminution significative dans ceux prélevés en 1973-1975 peuvent être expliqués par les activités d'exploitation du charbon végétal et à la prédominance du chauffage domestique au bois aux alentours de Bertiz à la fin du XIX^{ème} siècle.

Toutefois, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène restent majoritaires dans les mousses prélevées à Bertiz au XX^{ème} et XXI^{ème} siècle, probablement en raison de la présence à proximité de trafic routier, en particulier de la route nationale N-121A qui relie Pampelune à la France. En effet, ces trois composés sont des marqueurs des émissions du trafic routier : le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène sont émis par les moteurs diesel, le fluoranthène et le pyrène par les moteurs essence (Duval et Friedlander, 1981 ; Masclet *et al.*, 1986 ; Khalili *et al.*, 1995 ; Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). Ainsi, l'augmentation entre le XX^{ème} et le XXI^{ème} siècle de la contribution du phénanthrène aux teneurs totales de HAP dans les mousses relativement au fluoranthène et au pyrène suggère que le trafic diesel est prédominant actuellement. D'autre part, les poids lourds émettent davantage de HAP à 3 cycles aromatiques (phénanthrène, fluoranthène and pyrène) que les véhicules légers, qui émettent relativement plus de HAP à 4 ou 5 cycles aromatiques (Marr *et al.*, 1999). Ainsi, la densité importante du transport de marchandises entre Pampelune et la France apparaît comme la première source de contamination aux HAP dans les mousses du Parc Naturel de Bertiz.

Les concentrations d'équivalence toxique (TEQ) dans les mousses du XIX^{ème}, XX^{ème} et XXI^{ème} ont été évaluées avec la relation ci-après. Les valeurs de facteurs d'équivalence toxiques utilisées sont celles fournies par l'AFSSA (Tableau I-3).

$$TEQ = \sum_i (FET_i \times [HAP]_i) \quad \text{Eq. IV-1}$$

Avec : TEQ la concentration d'équivalence toxique ($ng.g^{-1}$, MS) ; FET_i : facteur équivalent toxique du composé i (sans unité) ; $[HAP]_i$: concentration du composé i dans la mousse ($ng.g^{-1}$, MS).

Les concentrations totales en HAP sont plus faibles dans les mousses les plus récentes et les retombées atmosphériques de ces composés représentent actuellement une toxicité moins importante pour les écosystèmes (Figure III-6). La diminution des proportions relatives en HAP lourds a amplifié cette variation. Ces HAP présentent, en effet, une toxicité plus importante.

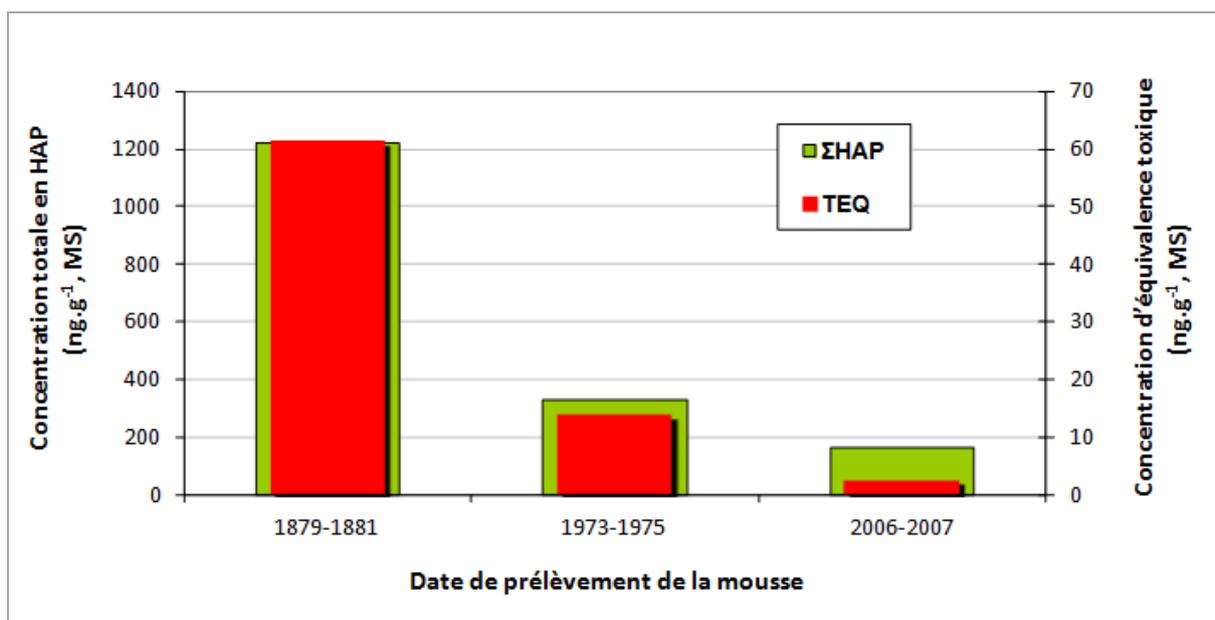


Figure III-6. Concentration totale en HAP dans les mousses datant du XIX^{ème}, XX^{ème} et XXI^{ème} siècle ($ng.g^{-1}$, MS) et concentrations d'équivalence toxique (TEQ) ($ng.g^{-1}$, MS).

III.3.3. ANALYSE MULTIVARIÉE AVEC LES MÉTAUX LOURDS

Les concentrations en éléments traces métalliques Al, Fe, Ti, Cd, Co, Cu, Mn, Pb, V et Zn ont été mesurées dans les mousses historiques de Bertiz par l'équipe du Pr. Santamaría au LICA de l'Université de Navarre. Les échantillons ont été soumis, après séchage à 30 °C, à une minéralisation par micro-ondes (MarsXpress, CEM, Matthews, NC, USA) avec de l'acide sulfurique concentré (9 mL pour 0,2 g d'échantillon). Après dilution dans 25 mL d'acide nitrique à 1%, le minéralisat est soumis à une analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (Agilent 7500a ICP-MS). L'étalonnage a été réalisé à l'aide de solutions préparées avec des étalons contenant les éléments ciblés. La méthode a été validée avec des matériaux de référence : les aiguilles de pin SRM 1575a et des mousses *Pleurozium schreberi* Brid. issues d'un étalonnage inter-laboratoires.

Les données ont été soumises à une Analyse par Composantes Principales (ACP), ou *Principal Component Analysis* (PCA). Il s'agit d'une méthode statistique multivariée qui consiste à remplacer une famille de variables par de nouvelles variables de variance maximale, non corrélées deux à deux et qui sont des combinaisons linéaires des variables d'origine. Ces nouvelles variables, appelées composantes principales (PC ou facteurs), définissent des plans factoriels qui servent de base à une représentation graphique plane des variables initiales. L'interprétation des résultats se restreint généralement aux deux premiers plans factoriels, sous réserve que ceux-ci expliquent la majeure partie de la variance du nuage des variables initiales (Jolliffe, 2002). L'ACP des concentrations en HAP et en métaux lourds mesurés dans les échantillons prélevés à Bertiz entre 1879 et 2007 et conservés dans l'herbier de l'Université de Navarre, obtenue avec le logiciel Unscrambler[®], a permis d'expliquer 84% des données avec les composantes principales PC1, PC2 et PC3 (Figure III-7).

En ce qui concerne les métaux lourds, on distingue clairement deux groupes : Co, Fe, Al, Ti et Mn, dont les teneurs sont stables dans les échantillons prélevés entre 1879 et 2007, du fait de leur origine crustale (Gonzalez-Miqueo, 2009), et Cd, Pb, V, Zn, dont les teneurs dans les mousses ont varié entre 1879 et 2007 (Figure III-8). Les concentrations de ces derniers éléments sont particulièrement élevées dans les échantillons de 1973-1975. Ces éléments sont d'origine anthropique, émis principalement par l'industrie métallurgique et le trafic automobile. La nette diminution des teneurs en plomb entre 1973-1975 et 2006-2007 est liée à la suppression en 2000 des carburants contenant du plomb. D'autre part, les concentrations de l'ensemble de ces métaux ont diminué grâce au contrôle des émissions industrielles depuis la

signature en 1998 du protocole à la Convention de Genève relatif aux métaux lourds. Ainsi, en France, les émissions atmosphériques de Cd, Zn et Pb ont baissé de 88%, 92% et 98% respectivement entre 1990 et 2009 (CITEPA, 2011b).

Malgré des sources d'émission communes pour les HAP et les métaux lourds (industries, trafic routier...), l'étude des mousses historiques n'a pas révélé de tendances communes (Figure III-8).

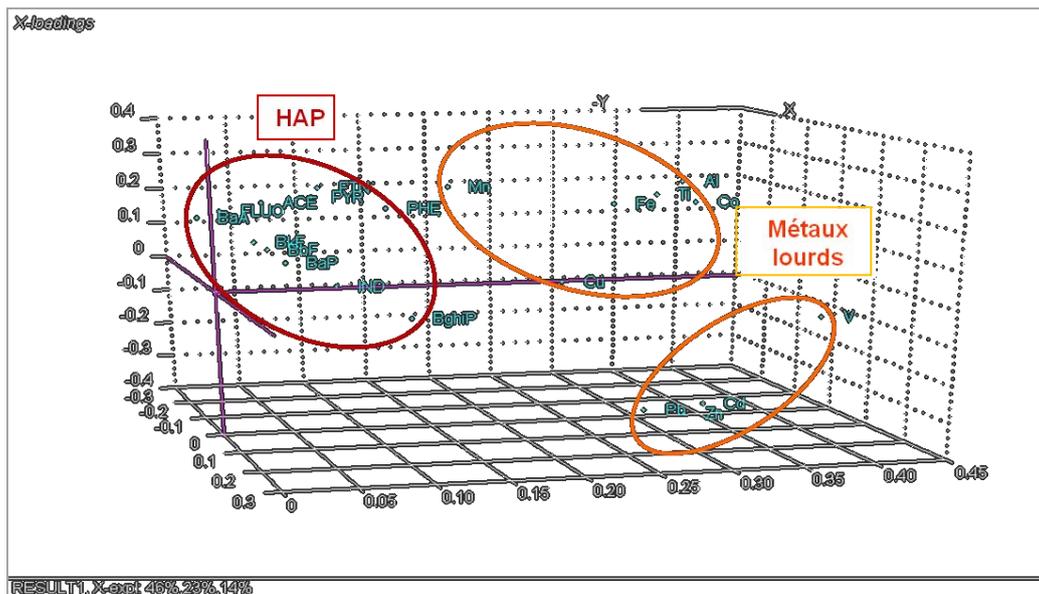


Figure III-7. Analyse par composantes principales (ACP) des concentrations en HAP et en métaux lourds mesurés dans les échantillons prélevés à Bertiz entre 1879 et 2007 et conservés dans l'herbier de l'Université de Navarre (obtenue avec le logiciel Unscrambler®)

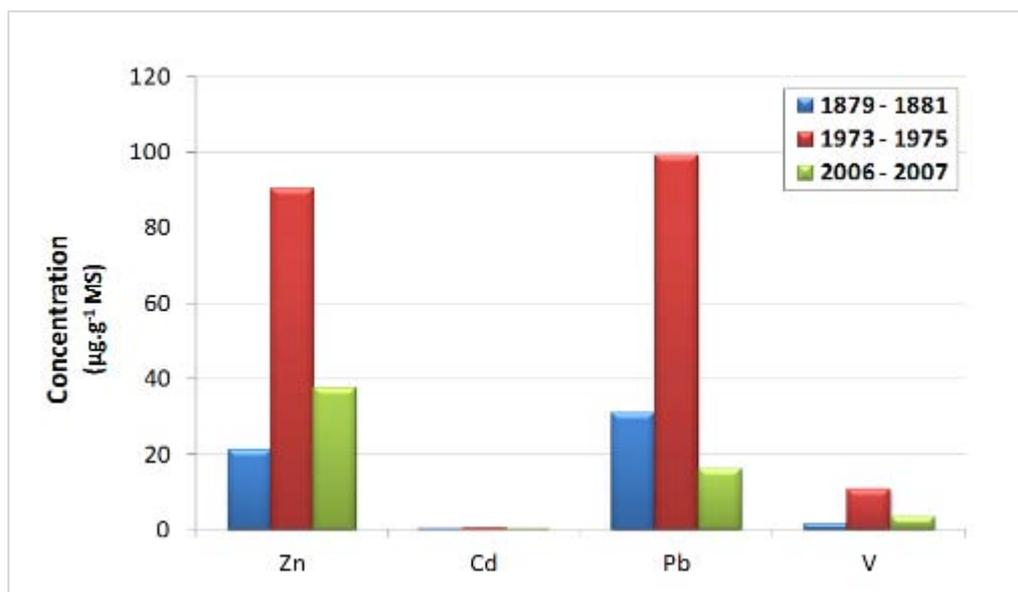


Figure III-8. Concentrations moyennes en métaux lourds (en µg.g⁻¹, MS) dans les mousses prélevées à Bertiz pendant les périodes 1879-1881, 1973-1975 et 2006-2007, et conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune

III.3.4. LIMITES DE L'UTILISATION DE MOUSSES D'HERBIER

La biosurveillance passive de la qualité de l'air, réalisée avec des spécimens échantillonnés *in situ*, est limitée par des facteurs qui influent sur les teneurs en HAP tels que la variabilité biologique au sein des espèces et les conditions environnementales, en particulier les conditions météorologiques et l'altitude du site de prélèvement (Niu *et al.*, 2003 ; Liu *et al.*, 2005). D'autre part, il se peut que les bryophytes soient contaminées par le sol, du fait d'une réémission de HAP volatils ou d'une mise en suspension des particules par le vent, ou qu'elles perdent des HAP sorbés à leur surface par lessivage des précipitations (Steinnes *et al.*, 1992). Il se peut également que l'échantillonnage ou les conditions de stockage soient une source de contamination des échantillons, en particulier lors de l'utilisation de produits de conservation dans l'herbier (Ross, 1990).

Pour cette étude, le nombre d'échantillons d'herbier était limité et la masse des échantillons disponibles faible. De plus, les renseignements concernant l'échantillonnage des spécimens se limitent à l'espèce, l'âge et le lieu de prélèvement. L'analyse multivariée des teneurs en HAP en fonction des espèces analysées a montré des tendances en fonction de l'espèce étudiée (Figure III-9). Toutefois, aucune différence significative n'a pu être montrée statistiquement, probablement en raison du nombre limité d'échantillons analysés. Or, la morphologie des mousses et leurs habitats conditionnent l'accumulation des polluants. Par exemple, Galuszka (2007) a observé des teneurs plus élevées en HAP chez *Hylocomium splendens* que chez *Pleurozium schreberi*. Les résultats de ce chapitre ont permis toutefois de montrer que les teneurs élémentaires et isotopiques d'azote varient entre les différentes espèces. Enfin, l'étude n'a pas permis de montrer de tendances liées au support d'échantillonnage (bois, pierre, sol...).

Afin de réaliser une analyse multivariée plus poussée, d'avantage d'échantillons seraient nécessaires, accompagnés de données concernant le site et la date de prélèvement, les conditions météorologiques ainsi que les conditions de stockage (température, produits de conservation...).

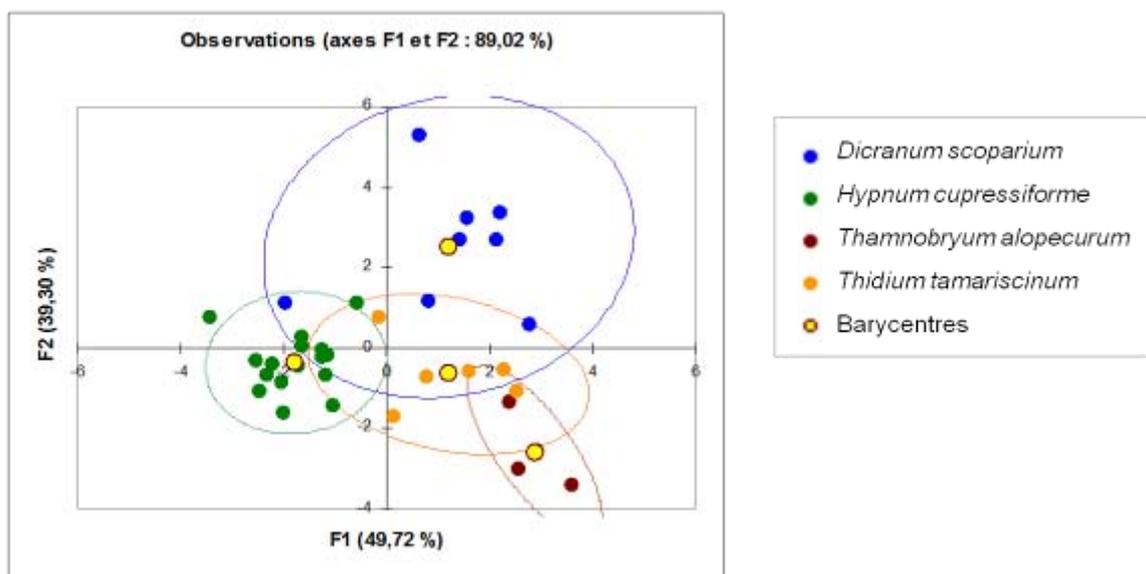


Figure III-9. Analyse par composantes principales des concentrations en HAP dans les différentes espèces de mousses prélevées à Bertiz entre 1879 et 2007 et conservées dans l'herbier de l'Université de Navarre (obtenue avec le logiciel XLSTAT® 2008)

III.4. Conclusion

Les bryophytes conservées dans un herbier se sont révélées d'excellents outils pour la biosurveillance *a posteriori* des dépôts atmosphériques de HAP sur le site de Bertiz. L'étude des signatures isotopiques de carbone et d'azote a permis d'identifier des sources d'émission anthropogéniques communes avec les HAP. Les teneurs élevées en HAP et en azote ainsi que le rapport $\delta^{15}\text{N}$ élevé dans les spécimens du XIX^{ème} siècle sont liés d'une part à la production historique de charbon végétal au sein de la forêt pour les aciéries locales, et d'autre part à l'utilisation exclusive pour le chauffage de poêles à bois. La disparition des charbonnières à la fin du XIX^{ème} siècle, ainsi que l'évolution du chauffage domestique au cours du XX^{ème} siècle vers des systèmes moins polluants, expliquent la baisse significative des teneurs en HAP, en azote et en isotope ^{15}N dans les mousses datant de 1973-1975. Entre 1973-1975 et 2006-2007, les teneurs relatives en HAP dans les mousses ont évolué vers un enrichissement en composés à 3 cycles aromatiques, du fait du contrôle des émissions industrielles de HAP lourds depuis 1998 et de l'augmentation régulière de la densité du trafic routier (en particulier des poids lourds), ce qui est confirmé par l'appauvrissement des mousses en ^{13}C . Les émissions de métaux lourds suivent des tendances différentes car leur source principale est l'industrie manufacturière. Les retombées atmosphériques actuelles de HAP présentent une toxicité moindre, mais restent préoccupantes du fait de l'accroissement des émissions du trafic routier.

Malgré ces conclusions, l'utilisation de mousses d'herbier est limitée par la quantité d'échantillons disponibles ainsi que par le manque de données sur l'échantillonnage et le stockage de ces dernières. Ainsi, en ce qui concerne les teneurs en HAP, aucune variabilité inter-espèces n'a pu être montrée statistiquement. L'étude des teneurs élémentaires et isotopiques d'azote a toutefois révélé des différences significatives pour *Thamnobryum alopercurum* Hedw. Gangulee et *Dicranum scoparium* Hedw.. Etant donné que *Thamnobryum alopercurum* est une espèce hygrophyte, c'est-à-dire dont les nutriments proviennent majoritairement des eaux de surface, cette mousse ne paraît pas être adaptée pour la biosurveillance des retombées atmosphériques. D'autre part, *Dicranum scoparium* Hedw. est une mousse acrocarpe et a donc une capacité de bioaccumulation moindre du fait de sa morphologie. Les mousses pleurocarpes mésophytes telles que *Thuidium tamariscinum* Hedw.

Schimp. et *Hypnum cupressiforme* Hedw. semblent être en revanche de bons outils pour la biosurveillance des dépôts atmosphériques.

Enfin, les prélèvements des mousses d'herbier ayant été réalisés à différentes périodes de l'année, cette étude soulève la question de la variabilité saisonnière des teneurs en HAP dans les mousses. Une étude de biosurveillance active avec des bryophytes a donc été réalisée durant une année sur le site du parc Naturel de Bertiz. Elle est présentée dans le Chapitre IV.

CHAPITRE IV.

ÉTUDE ANNUELLE DES RETOMBÉES ATMOSPHÉRIQUES DE HAP SUR UN SITE FORESTIER PYRÉNÉEN

Par nous, la nature se renvoie une image d'elle-même.

Hubert Reeves (1932- ...)

Les teneurs en HAP dans l'air ambiant varient au cours de l'année en fonction des émissions atmosphériques et des conditions météorologiques (Prevedouros *et al.*, 2004a). Il en résulte que les retombées atmosphériques de HAP sont également variables en fonction des saisons (Wang *et al.*, 2011). Ainsi, les teneurs en HAP accumulés dans les bryophytes sont susceptibles de varier durant l'année. Les variations saisonnières des teneurs en HAP ont déjà été étudiées pour certains bioindicateurs, notamment des feuilles persistantes de *Quercus Ilex* (De Nicola *et al.*, 2005) et de *Ficus bengladensis* (Prajapati et Tripathi, 2008) ainsi que des aiguilles de pin (Lehndorff et Schwark, 2009a ; Ratola *et al.*, 2010b). Mais, à ce jour, aucune étude similaire n'a été réalisée pour des bryophytes.

Ainsi, l'étude présentée dans ce chapitre a pour objectif de réaliser l'étude de la bioaccumulation des HAP par les mousses durant une année. Le travail a été effectué de juin 2010 à mai 2011 au niveau du Parc Naturel de Bertiz. Une biosurveillance active a été menée avec des mousses *Hylocomium splendens* et *Hypnum cupressiforme*, préalablement échantillonnées sur un site reculé situé dans le Massif d'Aralar, à 35 km de Bertiz. Des échantillons de mousses ont ensuite été prélevés tous les mois afin d'observer les variations saisonnières des concentrations en HAP dans ces bioindicateurs. Deux espèces de mousses distinctes ont été prélevées afin de réaliser une comparaison inter-espèces de la bioaccumulation des HAP.

Parallèlement à cela, les dépôts totaux ont été échantillonnés par quinzaine afin d'estimer le flux annuel de HAP atmosphériques au niveau du site de Bertiz et d'établir une relation entre les retombées atmosphériques de HAP et les concentrations dans les mousses. Dans le contexte global de l'étude de l'impact de la pollution atmosphérique sur les écosystèmes, les flux de HAP ont été étudiés dans les pluviollessivats collectés sous la canopée d'une forêt de hêtres (*Fagus sylvatica*) et comparés aux flux mesurés dans les dépôts totaux collectés hors couvert forestier. Cette étude est présentée dans l'article "*Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in remote bulk and throughfall deposition: Seasonal and spatial trends*", *Environmental Engineering and Management Journal*, présenté en Annexe XII.

L'ensemble des échantillonnages a été réalisé grâce à une collaboration avec le laboratoire LICA (*Laboratrio Integrado de Calidad Ambiental*) de l'Université de Navarre de

Pampelune (Espagne) qui exploite des parcelles de surveillance intensive des écosystèmes dans le Parc Naturel de Bertiz.

Dans ce chapitre, le site d'étude est présenté dans un premier temps, afin de faire émerger ses caractéristiques géomorphologiques, climatologiques et socio-économiques. S'ensuit une présentation des protocoles mis en place pour le suivi annuel des teneurs en HAP dans les dépôts totaux ainsi que pour la biosurveillance active de ces dépôts par les bryophytes. Enfin, les résultats obtenus lors de l'étude annuelle sont présentés en trois temps :

- Après validation du protocole d'échantillonnage des dépôts totaux, la variabilité saisonnière des flux de HAP dans ces dépôts ainsi que l'influence de la canopée sur ces flux sont discutés. Les flux atmosphériques annuels de HAP sont également évalués.
- Les tendances saisonnières des teneurs en HAP dans les bryophytes placées sous la canopée forestière sont discutées après évaluation de l'influence de la canopée sur ces teneurs et de la variabilité entre les deux espèces étudiées.
- Les teneurs en HAP dans les dépôts totaux et dans les mousses sont comparées et le facteur de bioconcentration des HAP lors de leur transfert dans les mousses est calculé afin de rechercher une relation avec leurs caractéristiques physico-chimiques.

IV.1. Présentation du site d'étude : le Parc Naturel de Bertiz

Le Parc Naturel de Bertiz est situé au nord de la Navarre, une Communauté autonome du nord de l'Espagne (Figure IV-1). Le site est situé près de la frontière française, à l'extrémité occidentale de la chaîne pyrénéenne, dans une zone rurale entourée par des agglomérations de tailles importantes situées à des distances de 30 à 110 km : Bayonne-Anglet-Biarritz (111 338 habitants), Vitoria-Gasteiz (239 562 habitants), Pampelune (326 394 habitants), Saint-Sébastien (405 099 habitants) et Bilbao (906 386 habitants) (INSEE, 2009a ; INE, 2011). Afin de conserver la biodiversité et d'étudier les écosystèmes naturels, ce site a été déclaré Parc Naturel en mars 1984 (directive 92/43/CEE du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages). Il s'agit d'un Lieu d'Importance Communautaire (LIC) de la Région Atlantique, intégré au réseau Natura 2000 (GN, 2007).

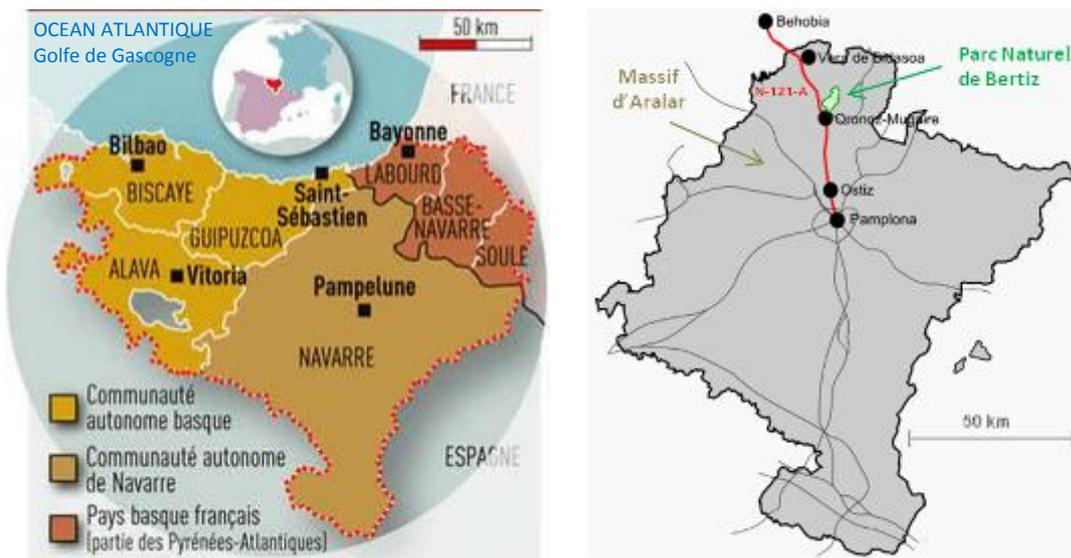


Figure IV-1. Localisation du Parc Naturel de Bertiz en Espagne et en Navarre

(A gauche : localisation des agglomérations principales de la région ; à droite : localisation de Bertiz en Navarre ; Sources : www.sitna.navarra.es, http://www.cfnavarra.es/obraspublicas/carreteras/lden_rig.htm)

Le Parc occupe la vallée du Bertiz sur une superficie de 2052 ha (Figure IV-2). L'altitude varie de 110 m à l'entrée du site au sud à 841 m au sommet Aizkolegi dans le nord. Le relief est de type arrondi, mais présente sur 75% du territoire un dénivelé supérieur à 20%. D'autre part, 50% du territoire présente des versants orientés vers l'est, le sud-est et le sud. La zone particulière d'intérêt écologique s'étend sur 91% du parc (GN, 2007).

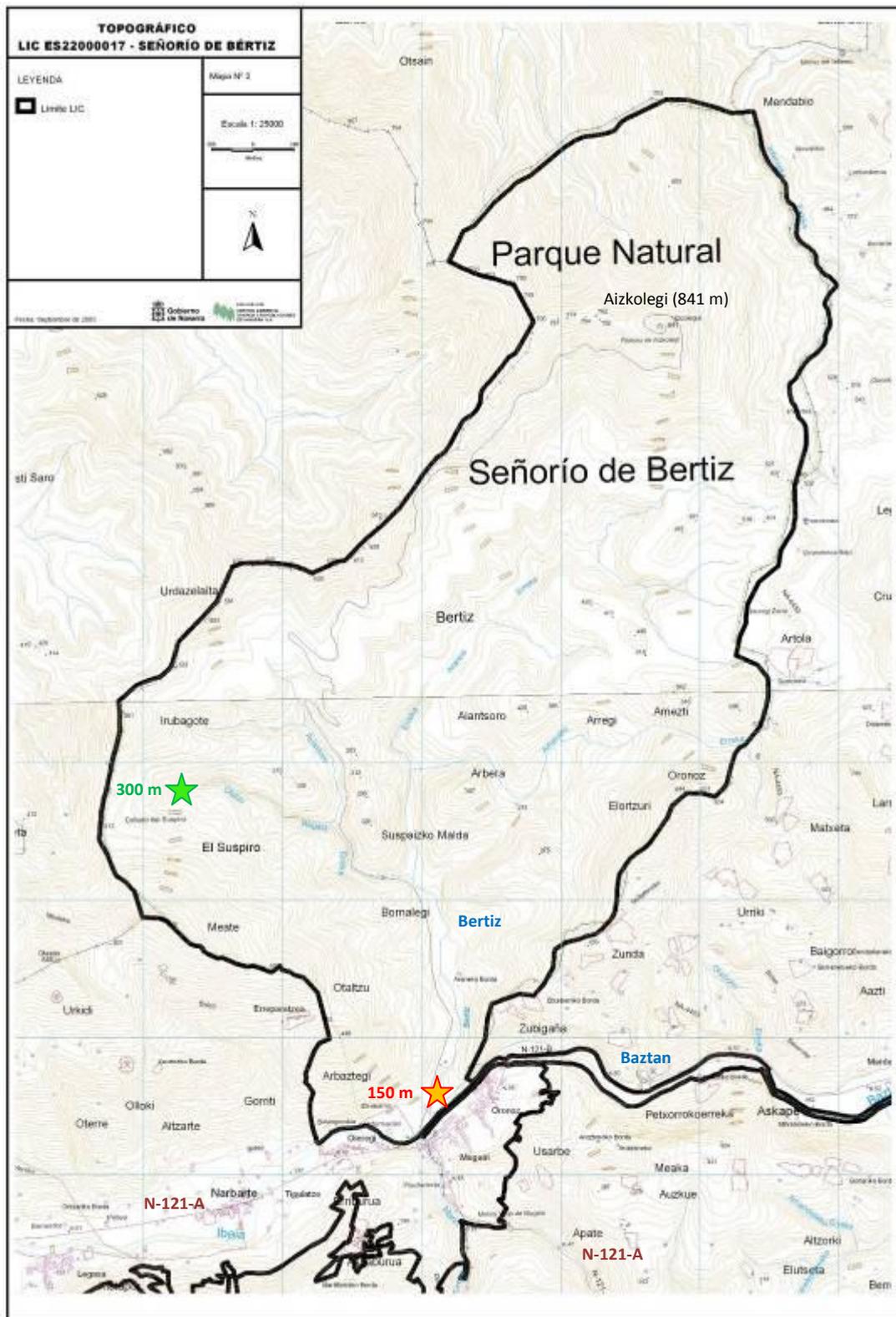


Figure IV-2. Carte topographique du Parc Naturel de Bertiz (GN, 2007)

Les étoiles localisent les parcelles intensives permanentes de surveillance écologique de l'Université de Navarre (★ : parcelle située hors couvert forestier, ☆ : parcelle localisée dans une forêt de hêtres).

Le climat est de type océanique, du fait de la proximité du Golfe de Gascogne (Océan Atlantique). Il est caractérisé par des étés peu caniculaires, des hivers relativement doux et des amplitudes mensuelles de température peu importantes. Toutefois, les zones situées en altitude sont caractérisées par des températures plus basses qu'à l'entrée du site. La température moyenne annuelle dans le parc est de 14 °C. Les précipitations sont très abondantes, avec une moyenne de 1800 mm par an. Elles sont plus abondantes entre octobre et mai. Le nord du parc, exposé aux vents dominants de direction nord-ouest sud-est chargés en humidité, reçoit plus de précipitations que le sud (GN, 2007).

Le substratum est majoritairement silicaté avec sur les reliefs une mosaïque d'ardoises, grauwackes, schistes, grès et conglomérats. De plus, on peut souligner la présence dans la partie méridionale du parc d'une bande orientée nord-est sud-ouest de calcaires et de marnes intercalés d'ardoises et de schistes. Les sols ont un caractère siliceux marqué, dû à la présence des roches acides sous-jacentes altérées par les pluies abondantes. De l'interaction du climat et du substratum résulte la formation de Litosols, qui génèrent des sols de type Ranker puis des horizons plus matures comme les sols bruns acides. Dans les vallées, se trouvent également des sols de type Gley formés grâce à la réduction du fer par les eaux des nappes phréatiques. Le réseau hydrographique est formé par une myriade de ruisseaux éphémères de faible extension et de forte pente qui affluent dans les ravins pour former des ruisseaux aux cours permanents. La majorité des eaux affluent dans le Baztan, rivière qui se situe au sud de Bertiz (GN, 2007).

La végétation est constituée de forêts caduques mixtes acidophiles influencées par le climat océanique, la géomorphologie du site et leur usage historique. Le parc est recouvert à 80% par des hêtraies (*Fagus sylvatica* L.) et à 10% par des chênaies, majoritairement constituées de *Quercus robur* L.. Quelques prairies bordent les hameaux situés au sud et de petites zones de bruyère sont dispersées aux altitudes les plus élevées (GN, 2007). Plus d'une centaine de bryophytes ont été recensées dans le Parc Naturel, où elles trouvent un habitat optimal pour leur développement grâce à une humidité importante, des substrats variés et l'absence de menaces pour leur développement. On distingue les espèces terricoles vivant sur le sol de la forêt, les espèces aquatiques submergées dans les ruisseaux, les espèces épiphytes présents sur les troncs et les branches jusqu'à 3 m de hauteur et les espèces lignicoles qui poussent sur le bois mort en décomposition. Les espèces les plus présentes dans les hêtraies sont *Dicranum scoparium*, *Hylocomium splendens*, *Thuidium tamariscinum* et *Polytrichum formosum* (Ederra et Villaroya, 2009).

Le Parc de Bertiz occupe à 47% la commune de Bertizarana de 650 habitants, soit une densité faible de 16,7 habitants/km². L'activité principale de la commune est l'agriculture. L'élevage est interdit au sein du parc. En revanche, au sud-ouest se trouvent des pâturages, où parfois la bruyère (*Ulex* sp.) est brûlée, ce qui peut induire une contamination atmosphérique du site. A l'est du parc, des animaux tels que des porcs, des chèvres ou des brebis sont parfois laissés en liberté. Toutefois, l'activité d'élevage reste très réduite. A l'exception de quelques potagers et prairies, il n'y a aucune culture agricole dans le parc. L'exploitation forestière se limite au dégagement des voies d'accès. La commune est traversée à Oronoz-Mugaire par la route nationale N-121-A qui constitue l'axe principal de communication entre Pampelune et la France (Figure IV-1) (GN, 2007).

Bertiz est situé dans une zone d'influence socio-économique de 800 km², regroupant 22 142 habitants (chiffres de 2007), répartis dans 19 communes des vallées du Baztan, Bertiz, Bortzirriak, Malerreka, Urdazubi-Urdax et du Zugarramurdi. Les secteurs d'activité ayant le plus grand poids économique sont l'industrie et les services. Il est à noter toutefois que les exploitations agricoles et l'élevage gardent encore une certaine importance dans la région. L'habitat est dispersé, caractérisé par des logements isolés (fermes basques nommées *caseríos*) ou regroupés autour d'un noyau central. La majorité des communes de la zone présentent une basse densité de population, surtout celles dont l'activité économique principale est l'agriculture. Les communes de Baztan (Elizondo), Bera et Lesaka sont les plus peuplées du fait de leur industrialisation (GN, 2007).

En Navarre, les industries les plus importantes sont situées au niveau de l'agglomération de Pampelune, où 45% des emplois industriels sont recensés. L'entreprise "UCAR Electrodo Iberica S.L." notamment, située à 37 km de Bertiz, produit des électrodes en graphite destinées à la sidérurgie. La Barranca, située dans la partie occidentale de la Navarre, à 30-50 km de Bertiz, regroupe des usines métallurgiques (Magotteaux...) et la cimenterie "Portland Valderrivas S.A.". A 25 km à l'ouest de Bertiz, se trouve la papeterie "Compañía Papelera de Leitza". Des carrières se situent également aux alentours de Bertiz (par exemple "Magnesitas de Navarra S.A." à Zubiri). La Communauté Autonome du Pays Basque, situé à l'ouest de Navarre, est également très industrialisée, avec notamment les usines métallurgiques "Arcelor Mittal" à Zumarraga et "AFORA" à Aizkoitia, à environ 50 km de Bertiz, et la cimenterie "Rezola Añorga" à Saint-Sébastien, à environ 35 km de Bertiz. Ces entreprises figurent dans le registre européen d'émission des polluants (*European Pollutant Emission Register* (EPER)).

IV.2. Protocole de l'étude des dépôts totaux de HAP

IV.2.1. ÉCHANTILLONNAGE DES DÉPÔTS TOTAUX

IV.2.1.1. Sites d'échantillonnage

Les dispositifs de prélèvement des dépôts totaux ont été installés au sein du Parc Naturel de Bertiz sur deux parcelles de surveillance intensive des écosystèmes (Figure IV-2), appartenant au site ES02 du réseau ICP-IM (*International Cooperative Program on Integrated Monitoring of Air Pollution Effects on Ecosystems*) de l'UNECE. Dans le cadre de ce programme, le terme « parcelle intensive » se rapporte à un emplacement équipé avec de nombreux dispositifs consacrés à la surveillance simultanée de différents compartiments de l'écosystème. Une parcelle est localisée dans un champ situé à la lisière de la forêt à l'extrémité sud du Parc, à une altitude de 150 m et à 400 m de la route nationale N-121-A (Figure IV-3a). L'autre se situe dans une forêt de hêtres au sud-ouest du Parc, à une altitude de 300 m, à plus de 200 m du chemin d'accès forestier (emprunté uniquement par les personnes autorisées) et à 3 km de la route nationale N-121-A (Figure IV-3b). Un total de 8 collecteurs a été réparti sur la zone d'étude : 2 en champ et 6 en forêt. Un nombre élevé de collecteurs a été disposé sous la canopée du fait de la variabilité élevée du volume et de la composition des pluviollessivats, tandis que deux mesures parallèles hors couvert ont été considérées suffisantes pour compenser la variabilité des dépôts totaux (Thimonier, 1998).



Figure IV-3. Parcelles intensives, localisées (a) dans un champ et (b) dans une forêt de hêtres, où ont été prélevés les dépôts totaux de juin 2010 à mai 2011

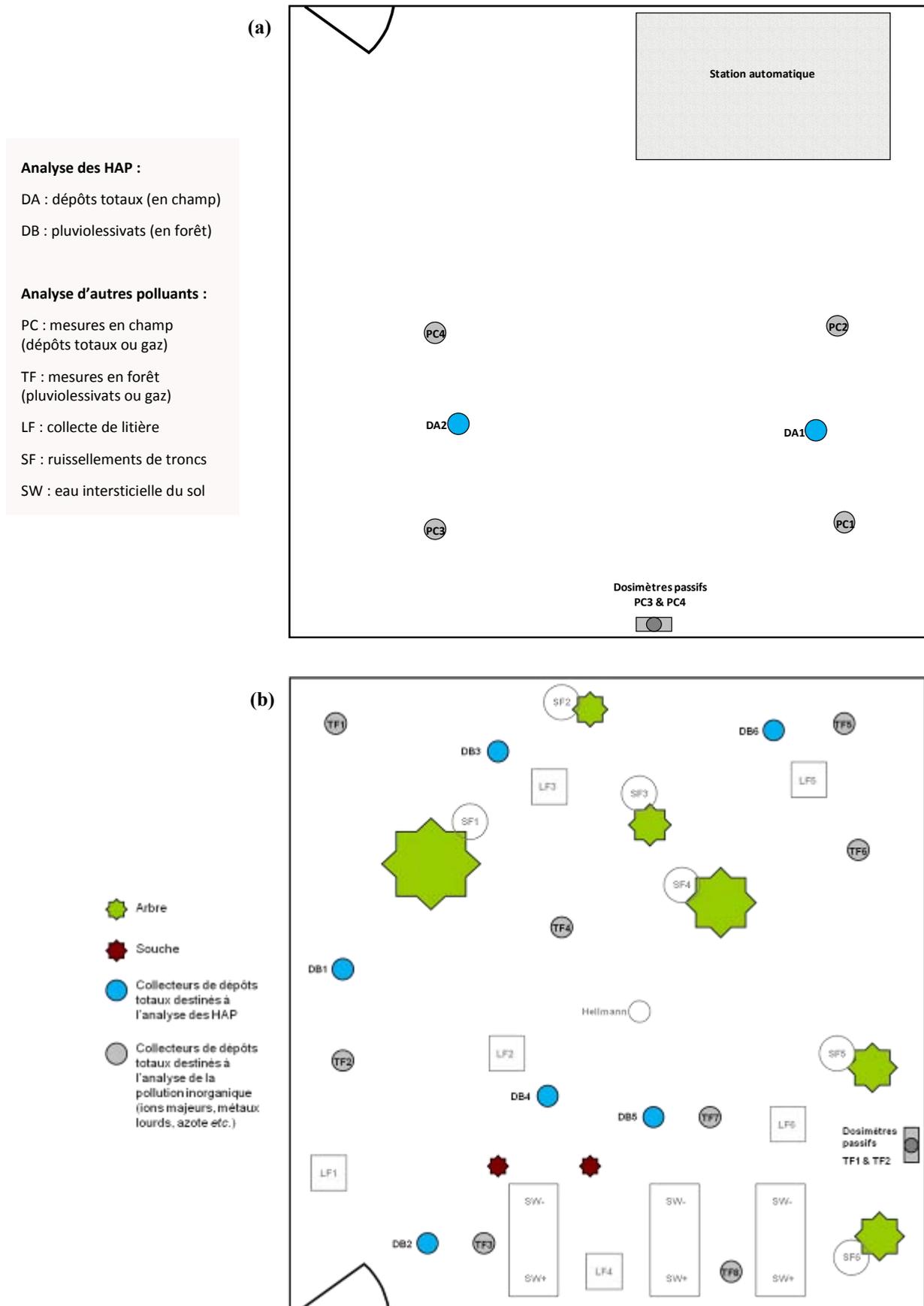


Figure IV-4. Schémas représentant les parcelles intensives où ont été disposés les collecteurs de dépôts totaux destinés à l'analyse des HAP : (a) Parcelle située dans un champ, (b) Parcelle située en forêt

La disposition des collecteurs de dépôts totaux destinés à l'analyse des HAP est schématisée sur les [Figure IV-4a](#) et [Figure IV-4b](#), pour les parcelles localisées respectivement en champ (collecteurs DA) et en forêt (collecteurs DB). La parcelle en champ est située à plus de 20 m de la lisière de la forêt. Toutefois, un arbre se trouve au bord de la parcelle. Les collecteurs DA1 et DA2 ont été installés respectivement à 8 m et 5 m de la limite externe de la couronne de l'arbre afin d'éviter l'influence de sa canopée (*canopy drip*). Dans la parcelle en forêt, les collecteurs ont été disposés de manière aléatoire, à des distances variables des troncs d'arbres, afin d'intégrer la variabilité spatiale des pluviollessivats. Le laboratoire LICA de l'Université de Navarre possède sur ces parcelles de nombreux autres collecteurs et instruments de surveillance, en particulier des collecteurs des dépôts totaux destinés à l'analyse de contaminants inorganiques (ions majeurs, métaux lourds, azote), nommés PC en champ et TF en forêt.

IV.2.1.2. Matériel et protocole d'échantillonnage

Des dispositifs de collecte de dépôts totaux spécifiques ont été conçus et fabriqués pour cette étude. Les collecteurs sont composés d'entonnoirs en verre, de diamètre interne 11,8 cm et avec des bords verticaux de 25 cm, adaptés à des bouteilles en verre Pyrex[®] de 2 L ([Figure IV-5a](#)). Des tubes en Teflon[®] de 5 mm de diamètre interne sont insérés au fond des entonnoirs afin de limiter l'évaporation des échantillons durant la durée de prélèvement. Pour éviter l'entrée de litière (feuilles, branches ou insectes) dans les bouteilles de collecte, des plaques en Teflon[®] perforées et fixées à des crochets en acier inoxydable sont placées dans les entonnoirs ([Figure IV-5b](#)). Les collecteurs sont disposés sur des supports en acier inoxydable à une hauteur de 1 m au-dessus du sol afin d'éviter d'éventuelles contaminations du sol ([Figure IV-5c](#)). Les HAP pouvant être photo-oxydés, les bouteilles de collecte ont été couvertes de papier aluminium et placées dans des tubes en PVC afin de les protéger de la lumière. D'autre part, des cylindres en polystyrène ont été insérés entre les collecteurs et les tubes en PVC afin de minimiser les variations de température. Ces derniers ont été fabriqués à partir de sous-couche murale de 4 mm d'épaisseur enroulée et collée avec du plâtre. Enfin, des anneaux en acier inoxydable ont été fixés sur les tubes en PVC afin d'empêcher l'atterrissage des oiseaux sur les dispositifs de collecte et donc le souillage des échantillons par leurs excréments.

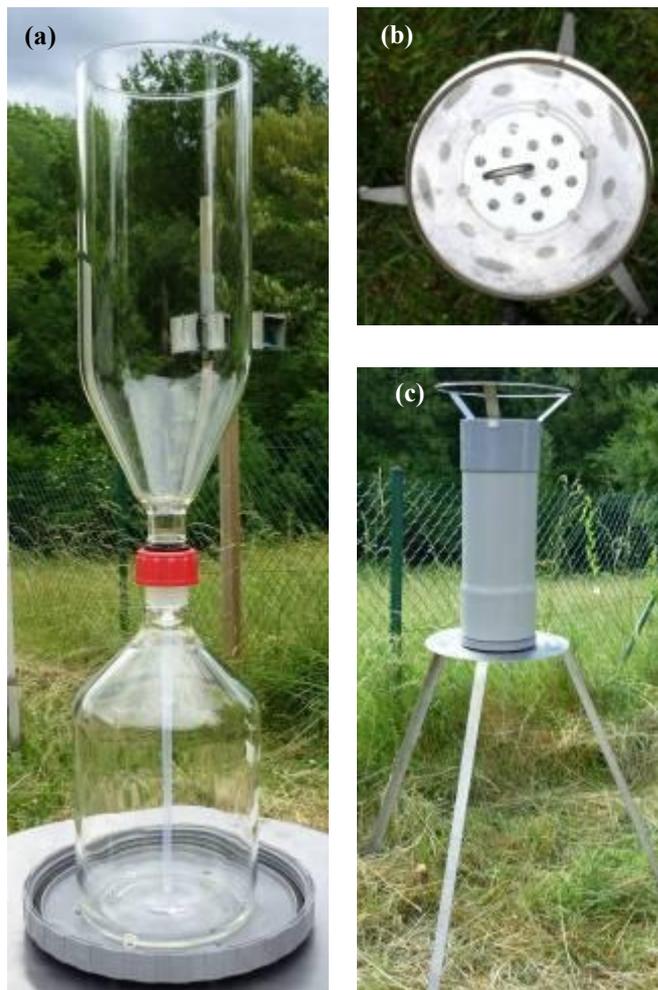


Figure IV-5. Collecteur de dépôts totaux pour l'évaluation des dépôts atmosphériques de HAP : (a) Entonnoir en verre et bouteille de collecte, (b) Plaque en Teflon® perforée pour la récupération de la litière, (c) Support du collecteur en acier inoxydable et tube en PVC pour la protection contre la lumière

Avant leur mise en place, les entonnoirs et les bouteilles de collecte en verre ont été nettoyés pendant 1 h dans un bac à ultrasons en présence d'un détergent hautement basique (Labwash Universal, VWR BDH Prolabo, USA) dilué à 5% dans de l'eau déminéralisée. Le matériel a ensuite été rincé successivement à l'eau du robinet et à l'eau déminéralisée, puis séché à l'étuve à 80 °C, avant d'être enveloppé dans du papier aluminium pour le transport.

Les échantillons de dépôts totaux ont été collectés en champ et en forêt tous les 15 jours pendant un an, de juin 2010 à mai 2011. A partir de la connaissance des données de pluviométrie du Parc Naturel de Bertiz, les collecteurs ont pu être dimensionnés afin que le volume maximal collecté chaque quinzaine soit inférieur à 2 L. Avant récupération des échantillons, les entonnoirs ont été rincés avec 50 mL d'eau milli-Q (Millipore, Billerica, MA,

USA). Les bouteilles en verre ont ensuite été ramenées au laboratoire dans des glacières. Après chaque prélèvement, les bouteilles ont été remplacées par de nouvelles bouteilles propres et les entonnoirs ont été soigneusement nettoyés avec 100 mL d'un mélange de solvants constitué d'acétonitrile/cyclohexane 50:50 (v/v) (HPLC-grade, Scharlau, Sentmenat, Espagne), préparé au préalable dans des bouteilles en PE propres.

Au laboratoire, le volume des échantillons a été évalué par gravimétrie. Pour leur stockage à -20 °C, les échantillons ont été transférés dans des flacons en PE de 1 L neufs. Un maximum de 800 mL a été conservé afin de prendre en considération la dilatation de l'eau durant la congélation. Par conséquent, le volume final d'échantillon gardé pour l'analyse était de 50 à 800 mL.

IV.2.1.3. Blancs de terrain et de laboratoire

Afin de détecter d'éventuelles contaminations lors de la procédure d'échantillonnage, des blancs de terrain ont été réalisés durant l'année. Ils ont été préparés au laboratoire dans des bouteilles en verre Pyrex[®] de 2 L (les mêmes que celles utilisées pour la collecte des dépôts). Pour chaque période de prélèvement de 15 jours, une bouteille a été remplie avec 1 L d'eau milli-Q et transportée sur le terrain avec les bouteilles destinées à la collecte des dépôts totaux. La bouteille était ouverte pendant la récupération des échantillons, puis refermée et laissée dans la parcelle, recouverte de papier aluminium. Au bout de 15 jours, elle était ramenée au laboratoire, où, de la même manière que les échantillons, 800 mL étaient transférés dans des flacons en PE puis stockés à -20 °C.

D'autre part, l'efficacité du procédé de nettoyage du collecteur a été vérifiée en essuyant les entonnoirs avec des disques de coton après la collecte du dernier échantillon en mai 2011. Trois disques ont été utilisés par collecteur, puis pliés et insérés dans des flacons en PE de 100 mL, transportés au laboratoire dans une glacière et stockés à -20 °C jusqu'à l'analyse. Des disques non utilisés ont également été soumis au même protocole.

Afin de vérifier l'absence de contamination organique lors du stockage des échantillons dans la chambre froide, dans du matériel neuf en PE utilisé sans nettoyage préalable, des blancs de laboratoire ont également été effectués. Pour cela, des flacons en PE de 1 L ont été remplis avec 800 mL d'eau milli-Q puis stockés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

IV.2.2. SUIVI DE PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX

IV.2.2.1. Suivi des paramètres météorologiques

Dans le Parc de Bertiz, à côté de la parcelle intensive en champ située à une altitude de 147 m, une station météorologique du Gouvernement de Navarre fournit des relevés quotidiens de la pluviométrie et des températures minimales et maximales. Les données météorologiques mensuelles mesurées entre juin 2010 et mai 2011 sont présentées sur la [Figure IV-6](#). Les précipitations mensuelles ont varié entre 25 mm et 273 mm, pour les mois de juillet et novembre 2010 respectivement. La pluviométrie a été globalement plus importante en automne et en hiver, à l'exception du mois de janvier 2011, où les précipitations ont été faibles (39 mm), et du mois de juin 2010, où des orages ont contribué à une pluviométrie relativement élevée (125 mm). Il n'a pas neigé sur la période d'étude. Le cumul annuel des précipitation s'élève à 1239 mm (ou $L.m^{-2}$). Les températures quotidiennes ont varié entre $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (26/12/2010) et $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ (8/07/2010). En ce qui concerne les moyennes mensuelles, les températures minimales ont varié entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $16\text{ }^{\circ}\text{C}$, tandis que les températures maximales se sont étendues de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $26\text{ }^{\circ}\text{C}$, pour les mois de décembre et juillet respectivement.

Une station météorologique automatique située à Gorramendi (1071 m), à 15 km au nord-est du Parc Naturel de Bertiz, mesure en continu l'éclairement ($W.m^{-2}$) et l'ensoleillement (h). Les variations de l'éclairement mensuel moyen et de l'ensoleillement total mensuel mesurés entre juin 2010 et mai 2011 sont représentées sur la [Figure IV-7](#). Ces deux paramètres suivent des tendances similaires à celle des températures minimales et maximales mesurées à Bertiz. Les maxima sont atteints de juin à août 2010 et en mai 2011, avec un éclairement moyen d'environ $200\text{ }W.m^{-2}$ et environ 200 h d'ensoleillement par mois. L'éclairement est faible ($< 120\text{ }W.m^{-2}$) entre octobre 2010 et février 2011, avec un minimum en novembre 2010 de $51\text{ }W.m^{-2}$. L'ensoleillement minimal est aussi atteint en novembre 2010, avec 66 h par mois, soit un tiers de l'éclairement estival.

Ces données ont été utilisées afin de valider l'échantillonnage des dépôts totaux et afin d'interpréter les variations saisonnières des retombées atmosphériques de HAP et des teneurs en HAP mesurées dans les mousses.

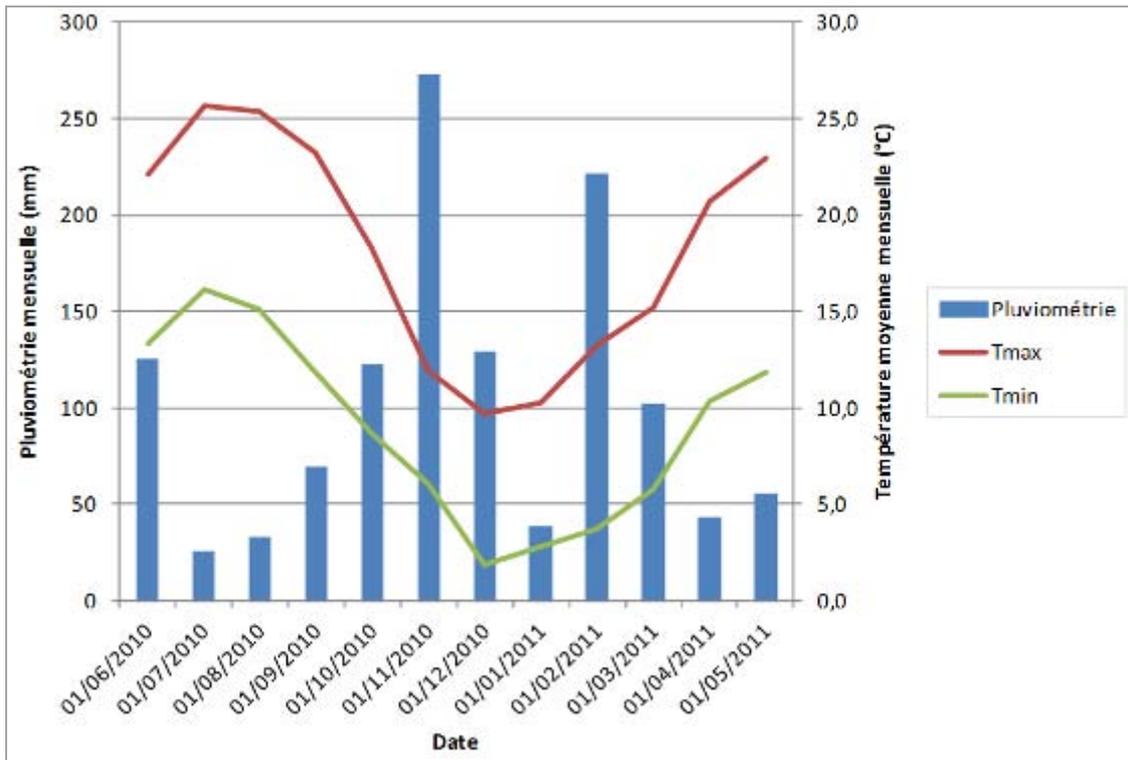


Figure IV-6. Evolution de la pluviométrie et des températures minimales (*Tmin*) et maximales (*Tmax*) dans le Parc Naturel de Bertiz de juin 2010 à mai 2011 (GN, 2011)

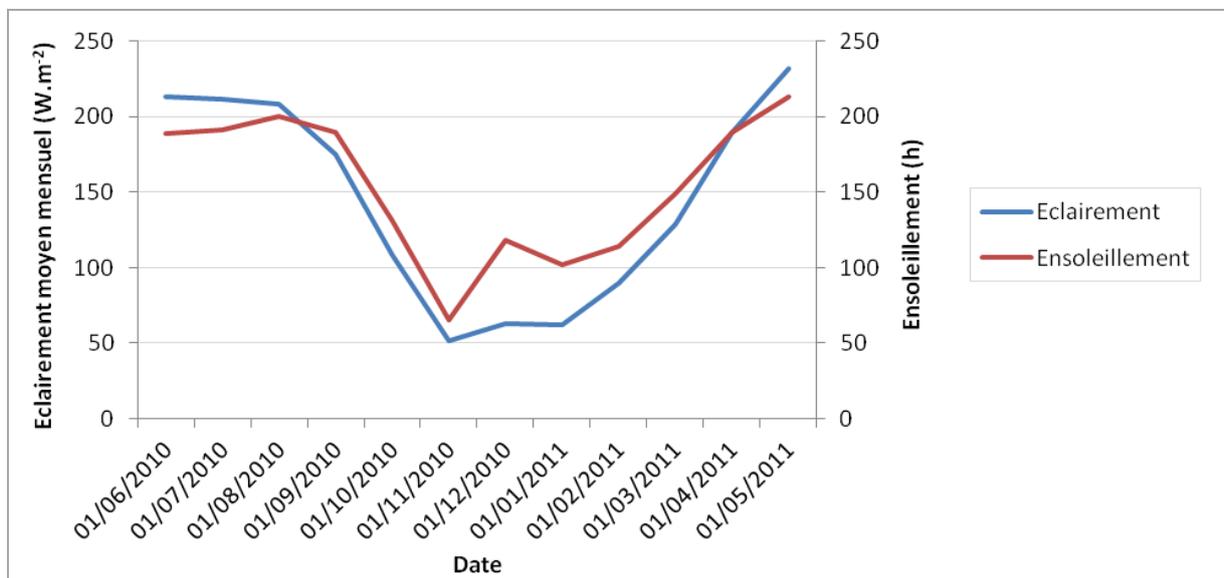


Figure IV-7. Evolution de l'éclairement moyen mensuel (en $W.m^{-2}$) et de l'ensoleillement total mensuel (en h) à Gorrameni (station météorologique située à 15 km de Bertiz) entre juin 2010 à mai 2011 (GN, 2011)

IV.2.2.2. Étude de la couverture végétale

Des informations sur l'architecture de la canopée peuvent être fournies indirectement par la photographie hémisphérique (Chen *et al.*, 1991 ; Leblanc *et al.*, 2005). Cette technique consiste, en effet, à projeter sur un plan l'ensemble des images visibles à 180° (Figure IV-8a). Un exemple est présenté en Figure IV-8b. Ce type de photographie est utilisé pour étudier la surface foliaire de la canopée grâce à un paramètre appelé *Leaf Area Index* (LAI). Ce dernier est exprimé par une grandeur sans dimension égale à la superficie de la projection au sol du tissu photosynthétique par unité de surface de sol. Les écologues ont d'abord utilisé le LAI afin d'étudier la pénétration du rayonnement solaire à travers la canopée (Neumann *et al.*, 1989). Dernièrement, le LAI a été utilisé pour déterminer les espacements dans la canopée, appelés *canopy gap* (Frank *et al.*, 2005). Ce paramètre pourrait donc *a priori* être utilisé pour interpréter les variations temporelles en forêt du rapport entre le volume de pluviollessivats collecté en forêt et le volume de précipitations collecté hors canopée.

Afin d'étudier l'influence du feuillage caduque des hêtres sur les dépôts en forêt, des photographies hémisphériques ont été réalisées chaque mois au niveau de la parcelle en forêt entre juillet et novembre 2010. Des photographies ont été réalisées au dessus de chaque auge de mousses afin d'étudier la variabilité spatiale de la canopée. Le LAI a été déterminé à partir de ces photographies pour angles relatifs au zénith θ (cf. Figure IV-8a) de 17,5°, 27,5°, 42,5° et 85,7°.

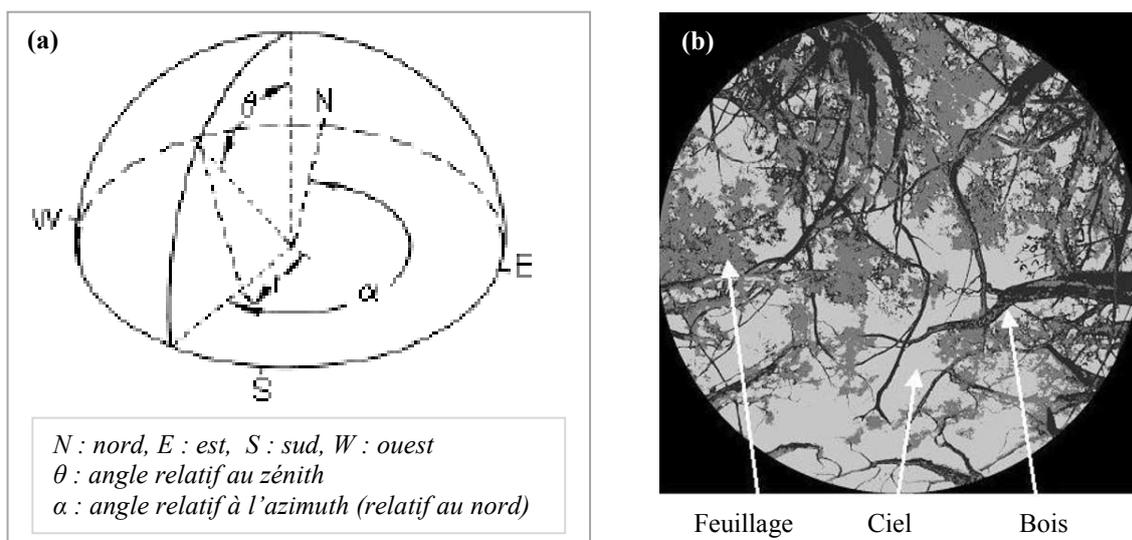


Figure IV-8. (a) Représentation graphique du panorama projeté lors de la réalisation de photographies hémisphériques ; (b) Exemple de photographie hémisphérique de canopée (D'après Frank *et al.*, 2005)

IV.2.3. ANALYSE DES HAP DANS LES DÉPÔTS TOTAUX

Pour la détermination des teneurs en HAP dans les dépôts totaux, les échantillons moyens mensuels ont été soumis à une extraction liquide/liquide, suivie d'une étape de concentration puis d'une analyse par CLHP-FLD (Figure IV-9). Le protocole de la procédure analytique employée ainsi que sa validation ont été présentés au Chapitre II.

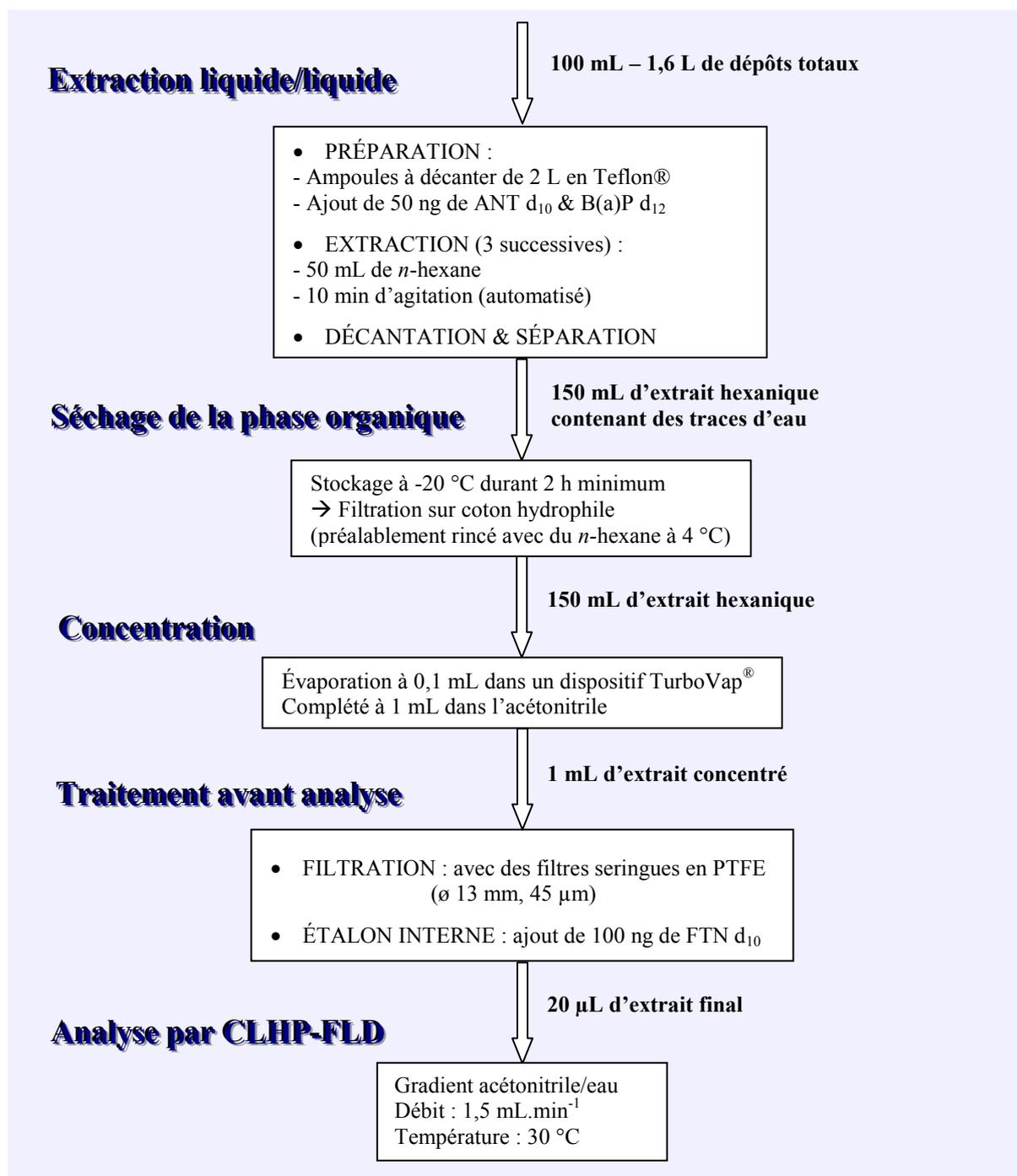


Figure IV-9. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les dépôts totaux

IV.2.4. ÉVALUATION DES FLUX DE HAP ATMOSPHERIQUES

Les flux journaliers moyens de HAP atmosphériques ont été évalués à partir de l'étude d'échantillons moyens mensuels de dépôts totaux au moyen de l'expression suivante :

$$\Phi(\text{HAP}) = \frac{[\text{HAP}] \times V}{S \times T} \quad \text{Eq. III-1}$$

avec $\Phi(\text{HAP})$ le flux moyen journalier de HAP ($\text{ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$), $[\text{HAP}]$ la concentration en HAP mesurée dans les dépôts totaux collectés (ng.L^{-1}), V le volume de dépôts totaux collectés (L), S la surface du collecteur (m^2) et T le nombre de jours de la période d'échantillonnage (d).

La variabilité spatiale des retombées atmosphériques de HAP sur le site d'échantillonnage a été évaluée à partir d'échantillons de dépôts totaux collectés à deux périodes de l'année qui se distinguent par leurs conditions climatiques et la couverture forestière : au début de l'été (prélèvement du 11/06/2010 au 20/07/2010) et au milieu de l'automne (prélèvement du 13/10/2010 au 10/11/2010). Durant ces périodes, les prélèvements des 2 collecteurs localisés en champ et des 6 collecteurs placés en forêt ont été analysés.

La variabilité saisonnière des dépôts de HAP a été évaluée entre le 11/06/2010 et le 03/05/2011 avec les échantillons moyens mensuels de 2 collecteurs positionnés en champ (DA1) et en forêt (DB3). Le collecteur DA1 a été choisi car sa position est la plus éloignée de l'arbre qui est à proximité de la parcelle intensive en champ (Figure IV-4a). Le collecteur DB3 a, quant à lui, été choisi car c'est le collecteur positionné sous la canopée forestière la plus dense (Figure IV-4b).

IV.3. Protocole de biosurveillance des HAP avec les mousses

IV.3.1. BIOSURVEILLANCE ACTIVE DES DÉPÔTS DE HAP

La biosurveillance des dépôts de HAP durant un an nécessite un volume important de mousses. Or, à proximité des parcelles intensives de Bertiz, la quantité de mousse disponible était insuffisante. Une étude de biosurveillance passive sur l'ensemble de la surface du Parc Naturel serait nécessaire pour assurer une quantité suffisante de matière. Cependant, les valeurs mesurées seraient difficiles à interpréter du fait de la variabilité spatiale, liée à des altitudes variables et des couvertures végétales différentes. Une étude de biosurveillance active a donc été mise en place. Pour cela, des mousses ont été prélevées sur un site du massif d'Aralar, peu contaminé et recouvert de bryophytes. Les mousses placées dans des bacs ont été transportées sur le site de Bertiz où elles ont été laissées durant un an.

IV.3.1.1. Prélèvement des mousses dans le Massif d'Aralar

Les mousses choisies pour l'étude de biosurveillance active ont été prélevées le 11 juin 2010 sur un site reclus situé dans le Massif d'Aralar en Navarre, à 35 km du Parc Naturel de Bertiz (Figure IV-1). Deux espèces ont été collectées après identification de ces dernières par Alicia Ederra, chercheur au département de biologie végétale de l'Université de Navarre : *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. et *Hypnum cupressiforme* Hedw.. Il s'agit des mousses les plus utilisées en biosurveillance des dépôts atmosphériques de HAP (§ I.2.3.3.3). Les deux espèces ont été prélevées afin d'étudier la variabilité inter-espèces. *Hylocomium splendens* est l'espèce la plus répandue au niveau de ce site de prélèvement. Ainsi, une superficie de 7 m² de tapis de mousses a pu être prélevée sur une distance de 200 m à la lisière d'une forêt de hêtres (Figure IV-10). Pour perturber le moins possible la disposition du tapis et ne pas désolidariser les brins, les premiers centimètres de litières sont prélevés avec le tapis. Quant à *Hypnum cupressiforme* Hedw., il s'agit d'une espèce épiphyte qui croît sur les troncs et les souches des hêtres (Figure IV-11). Cette espèce recouvre des superficies moins importantes que *Hylocomium splendens* dans le Massif d'Aralar et les autorités limitent l'échantillonnage des bryophytes afin de préserver la biodiversité. Ainsi, seulement 1 m² de *Hypnum cupressiforme* a été prélevé.

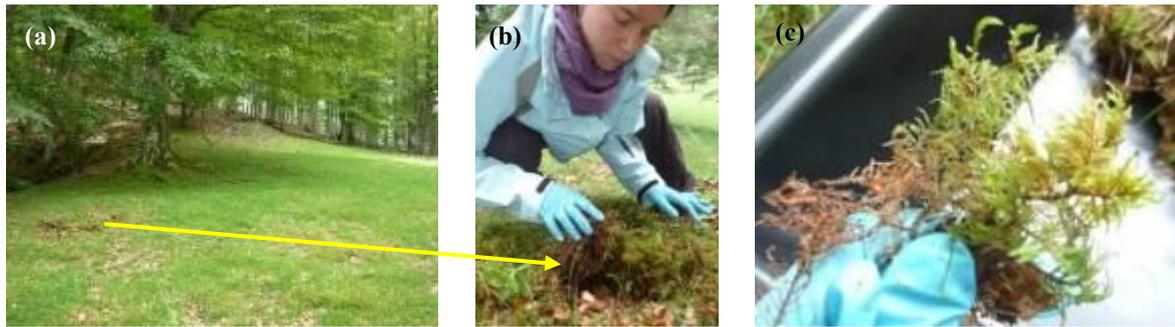


Figure IV-10. Prélèvement de *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. dans le Massif de Aralar : (a) Site de prélèvement à la lisière d'une forêt de hêtres ; (b) Prélèvement d'un tapis de mousses terricoles ; (c) Brin de *Hylocomium splendens* caractérisé par des tiges rougeâtres



Figure IV-11. Prélèvement de *Hypnum cupressiforme* Hedw. dans le Massif de Aralar : (a) Site de prélèvement dans une forêt de hêtres ; (b) Tapis de mousses épiphytes sur une souche

IV.3.1.2. Mise en place du dispositif expérimental à Bertiz

Les mousses prélevées dans le Massif d'Aralar ont été transportées à Bertiz le jour de leur échantillonnage dans des auges en polyéthylène de 54 x 36 x 15 cm, préalablement nettoyées avec du détergent hautement basique dilué à 5% dans de l'eau déminéralisée, rincées puis conservées emballées de film plastique.

Afin d'assurer la survie des transplants durant l'année de biosurveillance, les auges ont été remplies d'un lit de 7 cm de billes d'argile expansée, qui permettent de maintenir une relative humidité (Figure IV-12). Ensuite, un feutre de drainage en polypropylène non tissé (100 g.m⁻²), perméable à l'eau, a été disposé à l'interface billes - mousse. Quatre trous réalisés à 0,5 cm sous le niveau du lit de billes permettent l'évacuation du trop plein.



Figure IV-12. Dispositif accueillant les transplants de mousses : (a) Lit de billes d'argile expansée, (b) Feutre de jardin perméable, (c) Auge contenant des transplants de *Hylocomium splendens*

Les mousses ont été disposées à proximité des parcelles intensives où sont collectés les dépôts totaux (Figure IV-2), à des zones situées à plus de 300 m des routes principales et des zones habitées, et à plus de 100 m des routes secondaires et des maisons isolées. Juxtaposé à la parcelle en champ, l'arboretum a accueilli les mousses disposées hors couvert forestier : 7 auges de *Hylocomium splendens* (A1 à A7) et 4 auges de *Hypnum cupressiforme* (A8 à A11) (Figure IV-13). En forêt, 18 auges de *Hylocomium splendens* (B1 à B18) ont été placées perpendiculairement à la parcelle intensive (Figure IV-14). Un nombre plus important d'auges a été placé sous la canopée que hors couvert végétal afin d'intégrer la plus grande variabilité spatiale des dépôts. Etant donné le peu de transplants de *Hypnum cupressiforme* disponibles, ces derniers ont été placés dans l'arboretum uniquement.

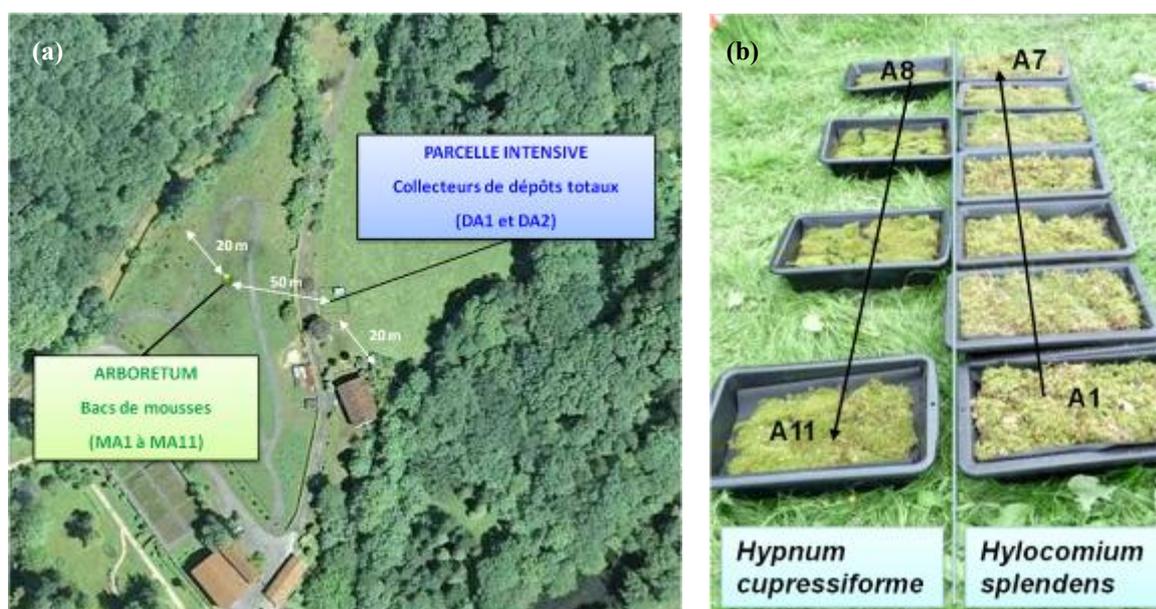


Figure IV-13. Biosurveillance active hors couvert des retombées atmosphériques de HAP : (a) Localisation des transplants de mousses dans l'arboretum du Parc Naturel de Bertiz ; (b) Transplants de mousses



Figure IV-14. Biosurveillance active sous couvert forestier des retombées atmosphériques de HAP

IV.3.1.3. Échantillonnage des mousses durant l'année

L'échantillonnage des mousses a été réalisé tous les mois de juin 2010 à mai 2011. Les prélèvements ont été réalisés dans les différentes auges selon un schéma aléatoire décidé dès le début de l'échantillonnage actif. Pour détenir un minimum de 2 g de matière sèche pour la procédure analytique, un sixième de la superficie d'une auge a été collecté par prélèvement, soit 0,05 m² de mousse. Chaque mois, 3 échantillons de *Hylocomium splendens* ont été prélevés en champ et 8 échantillons en forêt. En ce qui concerne la mousse *Hypnum cupressiforme*, 3 échantillons ont été prélevés tous les 2 mois afin de disposer d'assez de matière pour un an. Les échantillons ont été collectés avec des gants en nitrile non poudrés et placés horizontalement dans des sachets en polyéthylène. Il est à noter qu'il n'est pas autorisé de fumer sur le site d'étude. Les échantillons ont été transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire où ils ont été placés à l'obscurité à -20 °C.

IV.3.2. ANALYSE DES HAP DANS LES MOUSSES

La procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses a été réalisée suivant le protocole mis au point dans le Chapitre II. Elle est résumée en [Figure IV-15](#). Un réplica de chaque échantillon a été soumis à la procédure analytique. Les analyses par CLHP-FLD ont été réalisées deux fois par échantillon.

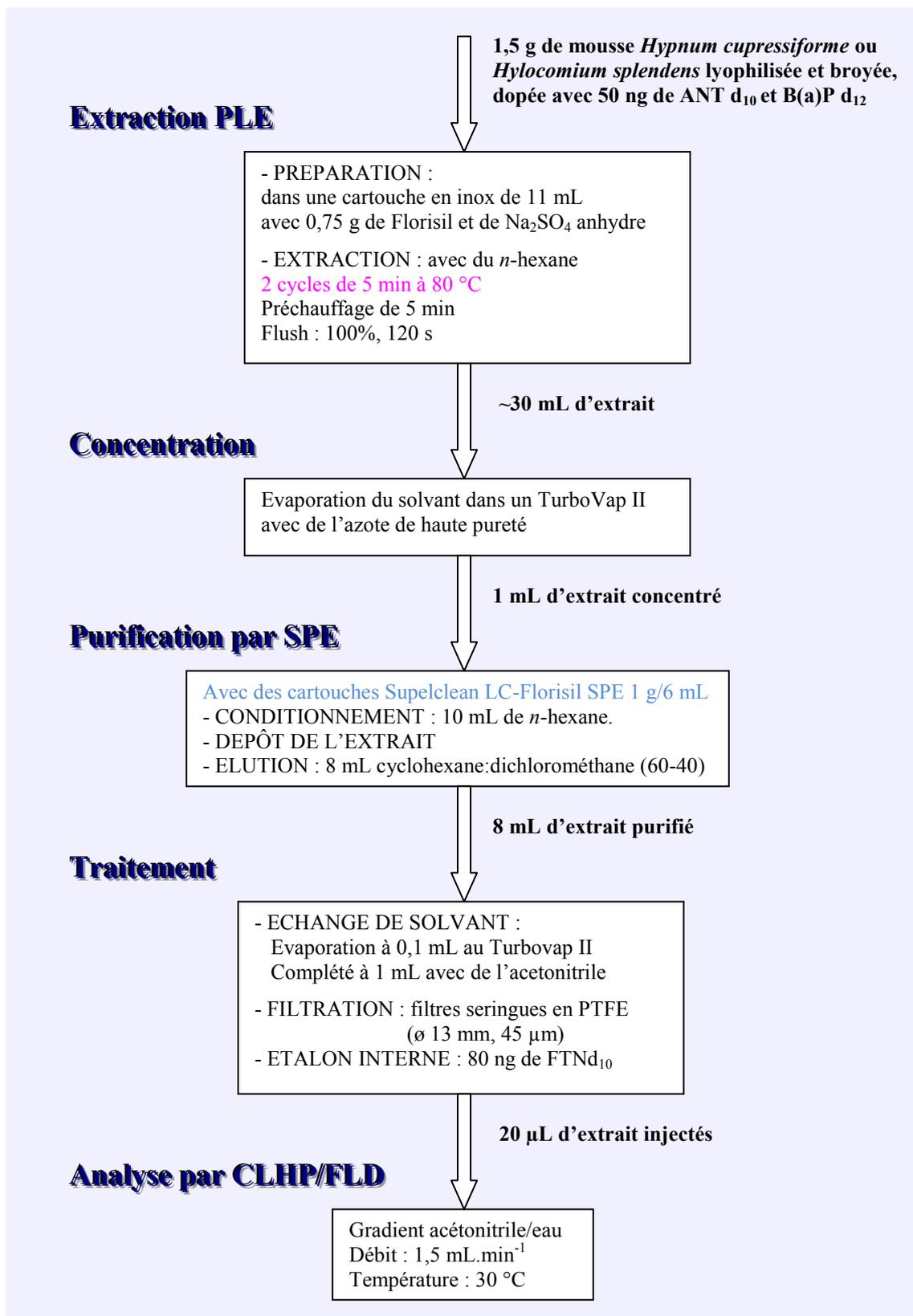


Figure IV-15. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses utilisées pour l'étude active de biosurveillance des dépôts atmosphériques de HAP dans le Parc Naturel de Bertiz

En rose : les paramètres optimaux d'extraction par PLE (cf. §II.2.3.2) ; En bleu : choix de la cartouche SPE la plus performante parmi 4 SPE en phase normale (cf. §II.2.3.3).

IV.4. Résultats et discussion

IV.4.1. ÉTUDE DES FLUX DE HAP DANS LES DÉPÔTS TOTAUX

IV.4.1.1. Validation du protocole d'échantillonnage des dépôts

Au niveau du Parc Naturel de Bertiz, le volume moyen de dépôts totaux prélevé hors couvert forestier pendant les quinze jours d'échantillonnage a varié de 0 à 2,1 L (Figure IV-16). La pluviométrie quotidienne rapportée par les autorités locales de Navarre (GN, 2011) a été utilisée pour estimer le volume de dépôts totaux cumulés dans les collecteurs durant chaque période de prélèvement. D'une part, les valeurs théoriques sont fortement corrélées avec les volumes moyens de dépôts totaux mesurés après chaque prélèvement ($R = 0,9947$, $p < 0,01$). D'autre part, entre juin 2010 et mai 2011, les pertes d'échantillon ont été estimées à 2% du volume théorique de dépôts totaux collectés. Cet écart peut être lié à une évaporation des échantillons ou à des pertes de précipitations par rebond au contact des parois en verre de l'entonnoir, épais de 1 mm. L'écart entre les volumes théorique et réel est faible en période estivale, même en juillet 2010 lorsque les échantillons ont été soumis à des températures caniculaires allant jusqu'à 38 °C. L'écart est plus élevé lors des périodes de fortes précipitations aux mois de novembre 2010 et mars 2011. Les collecteurs de dépôts totaux en polyéthylène destinés à l'analyse de la contamination inorganique dans les dépôts totaux (PC1-4), utilisés par nos collaborateurs de l'Université de Navarre ainsi que par l'ensemble du réseau ICP-IM (Figure I-14a), ont montré des pertes annuelles de 9% du volume de précipitations cumulées. Nos collecteurs conçus pour l'échantillonnage des dépôts totaux destinés à l'analyse des HAP semblent donc très efficaces pour prélever les dépôts totaux et conserver les échantillons durant les périodes de prélèvement.

Les collecteurs localisés dans la parcelle intensive en champ (DA1-2) ont recueilli les dépôts totaux avec des écarts maximaux de volume durant l'année de 10%. Deux collecteurs semblent donc suffisants pour étudier les retombées atmosphériques hors couvert forestier.

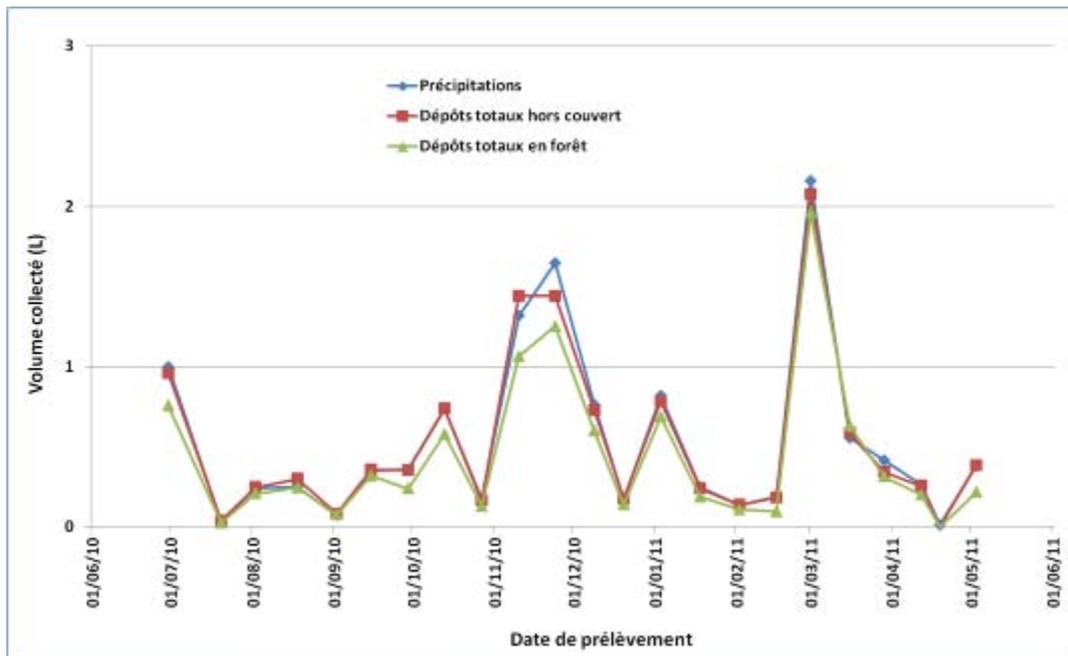


Figure IV-16. Variations temporelles du volume moyen de dépôts totaux collectés en champ et en forêt ; comparaison avec le volume théorique de précipitations cumulées calculé à partir des données quotidiennes de pluviométrie (GN, 2011)

Le volume moyen de pluiolessivats collectés pendant les quinze jours d'échantillonnage a varié de 0 à 2,0 L (Figure IV-16). Le volume prélevé a présenté durant l'année une variabilité entre les 6 collecteurs allant de 9 à 69%. Au total, 7 prélèvements sur les 23 effectués tous les 15 jours entre juin 2010 et mai 2011 ont montré une variabilité de volume entre les 6 collecteurs supérieure à 20%. La variabilité maximale est apparue en juillet 2010, lorsque le feuillage était développé et que les précipitations ont été très faibles (volume prélevé < 100 mL). D'autre part, les prélèvements effectués au mois de mars, lorsque les précipitations étaient importantes, ont montré une variabilité de volume entre les 6 collecteurs allant jusqu'à 40%. Or, le collecteur DB5 présente pour ces prélèvements un volume de pluiolessivats supérieur au volume de dépôts collectés hors couvert forestier (DA1 ou DA2), ce qui signifie qu'il est alimenté par des ruissellements de la canopée (*canopy drip*). Ainsi, sur l'ensemble de l'année d'échantillonnage, ce collecteur a prélevé 13,0 L de pluiolessivats, contre 11,9 L et 12,0 L pour DA1 et DA2 (Figure IV-17). Ce volume est supérieur à celui des précipitations théoriquement cumulées, calculées d'après les données de pluviométrie quotidienne (12,4 L). Les 5 autres collecteurs présents en forêt ont, quant à eux, montré une faible variabilité de volume, avec 9,3 à 9,9 L collectés pendant l'année. Malgré la variabilité mesurée, les volumes de pluiolessivats sont fortement corrélés ($R = 0,9901$, $p < 0,01$) avec les données de précipitations (GN, 2011).

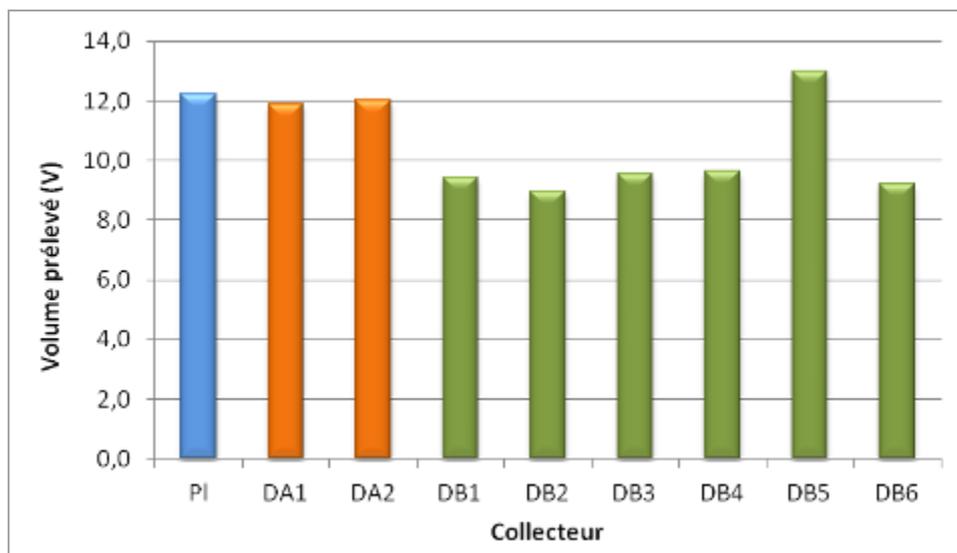


Figure IV-17. Volume théorique de précipitations cumulées dans les collecteurs de dépôts totaux durant l'année d'échantillonnage (PI, calculé à partir des données de pluviométrie quotidienne) et variation spatiale du volume cumulé de dépôts totaux dans les différents collecteurs mis en place dans le Parc Naturel de Bertiz (DA : collecteurs en champ ; DB : collecteurs en forêt)

Les blancs de laboratoire et de terrain ont montré les mêmes niveaux de HAP que les blancs analytiques réalisés lors la validation du procédé analytique (§ II.2.2.1.). D'autre part, les disques de coton utilisés pour le nettoyage final des collecteurs ont présenté des teneurs en HAP inférieures aux limites de quantification. Les protocoles de nettoyage du matériel sont donc efficaces et la procédure d'échantillonnage ne semble pas être une source de contamination par les HAP.

Dans les échantillons de pluviolessivats collectés à Bertiz pendant l'été (11/06/2010 → 20/07/2010) et l'automne (13/10/2010 → 10/11/10), les concentrations de fluorène, fluoranthène et benzo(a)anthracène étaient inférieures aux limites de quantification. Le dépôt atmosphérique de HAP a donc été évalué pour les HAP légers PHE, ANT et PYR, ainsi que pour les HAP lourds B(b)F, B(k)F et B(a)P. Les concentrations individuelles mesurées sont faibles, avec des valeurs de 1 à 10 ng.L⁻¹ (Tableau IV-1). Le composé majoritaire est le phénanthrène, avec des teneurs dans les dépôts collectés en champ en juillet et en novembre de 6,6 et 9,6 ng.L⁻¹ respectivement, suivi par le pyrène avec des teneurs de 2,5 et 3,4 ng.L⁻¹ respectivement. Les autres composés présentent des teneurs inférieures de l'ordre de 1 à 2 ng.L⁻¹. Une étude menée de 2005 à 2007 dans une région montagneuse de Chine a montré des teneurs moyennes en phénanthrène de 33 ng.L⁻¹ dans les dépôts totaux et des teneurs inférieures à 10 ng.L⁻¹ pour les 5 autres composés mesurés (Wang *et al.*, 2010). Les teneurs élevées en phénanthrène sont expliquées par la solubilité élevée de ce composé de faible masse molaire (Tableau I-2).

Tableau IV-1. Concentrations mensuelles moyennes de HAP (ng.L⁻¹) mesurés dans les dépôts totaux collectés en champ (2 collecteurs) et sous la canopée forestière (6 collecteurs) pendant des périodes d'échantillonnage estivale (11/06/2010 → 20/07/2010) et automnale (13/10/2010 → 10/11/10)

HAP	11/06/2010 - 20/07/2010		13/10/2010 - 10/11/2010	
	Champ	Forêt	Champ	Forêt
PHE	6,6	5,9	9,6	9,6
ANT	1,7	1,6	1,9	1,5
PYR	2,5	2,8	3,4	3,2
B(b)F	1,4	1,5	1,6	1,7
B(k)F	1,5	1,6	1,7	1,6
B(a)P	1,5	1,5	1,6	1,7

Durant l'été 2010, les flux de HAP mesurés sous la canopée forestière ont présenté une faible variabilité spatiale entre les 6 collecteurs : entre 9% pour le pyrène et 16% pour l'anthracène (Tableau IV-2). Pendant l'automne, les flux de HAP étaient 2 à 3 fois plus importants qu'en été. La variabilité des flux s'est alors avérée plus importante, de 7% pour le pyrène à 25% pour le phénanthrène. Ainsi, malgré des volumes collectés variables en fonction des collecteurs, les flux de HAP évalués sont proches. Ces résultats valident le choix d'utiliser 6 collecteurs pour échantillonner les pluviollessivats.

Tableau IV-2. Flux journaliers moyens de HAP sous la canopée forestière (ng.m⁻².d⁻¹) avec les écarts-types relatifs associés (%) pour les 6 collecteurs de pluviollessivats, évalués pendant des périodes d'échantillonnage estivale (11/06/2010 → 20/07/2010) et automnale (13/10/2010 → 10/11/10)

HAP	11/06/2010 - 20/07/2010		13/10/2010 - 10/11/2010	
	Moyenne (ng.m ⁻² .d ⁻¹)	Ecart-type relatif (%)	Moyenne (ng.m ⁻² .d ⁻¹)	Ecart-type relatif (%)
PHE	33,3	13	116,4	25
ANT	8,8	16	18,5	24
PYR	15,8	9	38,5	7
B(b)F	8,5	13	20,3	10
B(k)F	8,8	12	19,4	13
B(a)P	8,5	11	20,6	21

IV.4.1.2. Etude de l'influence de la canopée forestière

Entre juin 2010 et mai 2011, le volume de pluviollessivats prélevés en forêt correspond à 81% des dépôts totaux collectés hors couvert. Or, les données obtenues avec les collecteurs en champ ont montré 2% de pertes de précipitations. Par conséquent, 17% des précipitations ont été interceptées en moyenne par la canopée à cause d'un phénomène de ruissellement le long des branches et des troncs, et les collecteurs de pluviollessivats ont recueilli en moyenne 83% des précipitations annuelles incidentes. L'équipe du LICA a mesuré dans les collecteurs de pluviollessivats destinés à l'analyse des contaminants inorganiques le même taux de perte des précipitations incidentes.

Les concentrations en HAP mesurées dans les pluviollessivats sont proches de celles mesurées dans les dépôts totaux prélevés hors couvert forestier (Tableau IV-1). Ainsi, la présence de la canopée n'influe pas sur les teneurs en HAP dans les dépôts. En revanche, étant donné que les volumes collectés sont globalement plus faibles, les flux de HAP sous la canopée sont aussi généralement plus faibles. En effet, entre juin 2010 et mai 2011, les flux de HAP hors couvert forestier mesurés sont du même ordre de grandeur ou supérieurs à ceux mesurés sous la canopée forestière (Figure IV-18). Les flux journaliers moyens mesurés sont jusqu'à 3 fois plus élevés en champ qu'en forêt. Ce maximum est atteint en juillet 2010, quand le feuillage des hêtres est développé et que les précipitations sont faibles. Sur les 326 jours d'échantillonnage, le flux total des 6 HAP mesuré en forêt est égal à 82% du flux total mesuré hors couvert forestier (Tableau IV-3). La perte de 18% des HAP sous la canopée est du même ordre que la perte de précipitations due à l'interception par la canopée.

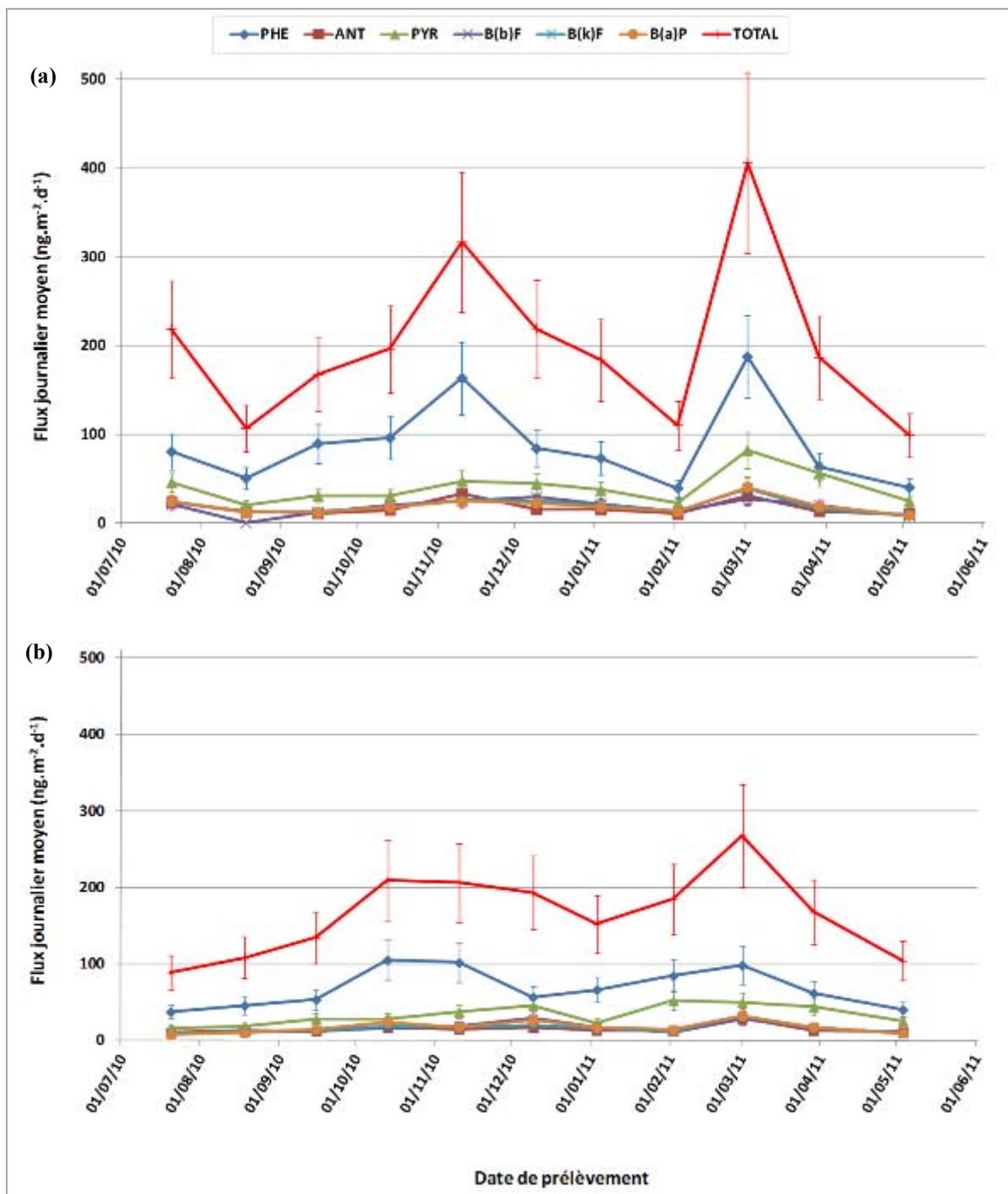


Figure IV-18. Variations temporelles des flux journaliers de 6 HAP et de la somme de ces flux, déterminés à partir d'échantillons moyens mensuels de dépôts totaux recueillis en champ (a) et sous la canopée forestière (b)

Les barres d'erreur représentent les écarts-types maximaux entre les différents collecteurs, évalués lors de l'étude de la variabilité spatiale.

Tableau IV-3. Flux atmosphériques de 6 HAP (en $\mu\text{g.m}^{-2}$) dans le parc Naturel de Bertiz dans les dépôts totaux entre juin 2010 et mai 2011 (326 jours) mesurés hors et sous couvert forestier

HAP	Flux ($\mu\text{g.m}^{-2}$)	
	Hors couvert forestier	Sous la canopée
PHE	26,1	20,6
ANT	5,0	4,7
PYR	11,8	11,6
B(b)F	5,2	5,1
B(k)F	5,7	5,0
B(a)P	5,6	5,4
<i>Total</i>	<i>59,4</i>	<i>52,4</i>

IV.4.1.3. Variabilité saisonnière des flux de HAP dans les dépôts

Les flux moyens journaliers de HAP connaissent des variations importantes pendant la période d'étude (Figure IV-18). En effet, des variations relatives de 27% à 54% ont été mesurées entre les flux moyens journaliers de HAP mesurées dans les échantillons moyens mensuels, pour le benzo(b)fluoranthène en forêt et le phénanthrène en champ respectivement. Or, l'étude de la variabilité spatiale a montré un écart maximal de flux entre les six collecteurs placés en forêt de 25%, pour le pyrène mesuré dans les dépôts totaux prélevés à l'automne (§ IV.4.1.1.). Une analyse de la variance (ANOVA), réalisée avec XLSTAT 2008, a montré que les variations saisonnières sont significativement plus importantes que les variations spatiales sur le site de prélèvement ($p < 0,05$).

Les échantillons prélevés sous la canopée pour l'évaluation de la variabilité spatiale ont montré des flux 2 à 3 fois plus élevés en automne qu'en été (Tableau IV-2). En effet, nous avons obtenu des flux journaliers moyens pour le phénanthrène, composé majoritaire, de $33 \pm 4 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ en été (11/06/2010 → 20/07/2010) contre $120 \pm 30 \text{ ng m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en automne (13/10/2010 → 10/11/10). Cette variation saisonnière s'explique, d'une part, par l'augmentation des émissions de HAP pendant la saison froide, liée au chauffage domestique utilisant les combustibles fossiles ou la biomasse (Ravindra *et al.*, 2008), ainsi que par une

dégradation photochimique moins importante des HAP (Dabestani et Ivanov, 1999). D'autre part, les variations de flux de HAP sont liées à la pluviométrie, car le phénomène de dépôts humides purifie la colonne atmosphérique verticale en absorbant les gaz dans les gouttelettes d'eau et en entraînant les particules (Sicard, 2006). En effet, les flux de HAP mesurés hors couvert forestier sont significativement corrélés avec les volumes de précipitation collectés ($r = 0,8459$, $p < 0,01$). Ainsi, au niveau du Parc Naturel de Bertiz, les dépôts liquides seraient le mécanisme principal de transfert des HAP vers les écosystèmes. Les flux de HAP mesurés hors et sous couvert forestier suivent des tendances saisonnières entre juin 2010 et mai 2011 significativement corrélées ($r = 0,7162$, $p < 0,01$) et les flux de HAP mesurés sous couvert forestier sont significativement corrélés avec les volumes de pluviolessivats collectés ($r = 0,7206$, $p < 0,01$). On en déduit qu'en forêt, les flux de HAP sont, comme hors couvert forestier, influencés principalement par les dépôts liquides.

Les dépôts en forêt sont également influencés par la structure de la canopée. Le feuillage est apparu en deux semaines au milieu du mois d'avril et a chuté entre la fin du mois d'octobre et mi-novembre. En hiver, les branches sont responsables d'un LAI minimal de $0,8 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$. Durant la période de présence de feuillage, le LAI moyen était relativement stable, avec des valeurs de $5,4 - 5,7 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$ pour les mois d'octobre et d'août respectivement. Le LAI mesuré à Bertiz entre dans la gamme mesurée en Allemagne en 2003-2004 dans plusieurs forêts de hêtres (*Fagus sylvatica*) : $4,9 - 9,2 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$ (Meier et Leuschner, 2008). Les pertes de précipitations et de flux de HAP sous le couvert forestier ne révèlent pas de différences significatives entre les périodes avec et sans feuillage. Ainsi, les pertes de dépôts en forêt seraient davantage liées à la présence des troncs et des branches le long desquels les dépôts liquides ruissellent, plutôt que par la présence de feuillage.

Les rapports de diagnostic $\text{ANT}/(\text{ANT}+\text{PHE})$ et $\text{B(b)F}/\text{B(k)F}$ n'ont pas montré de variations saisonnières significatives dans les dépôts totaux collectés entre juin 2010 et mai 2011 ($p < 0,05$). Leurs valeurs moyennes annuelles étaient de 0,19 et de 1,02 respectivement. L'étude menée avec des dépôts totaux prélevés sur un site reculé de Chine n'avait pas non plus révélé de variations saisonnières significatives des rapports de concentrations de HAP (Wang *et al.*, 2010). Les valeurs mesurées reflètent une contamination d'origine pyrogénique, mais l'identification des sources est délicate car la solubilité des HAP de mêmes masses molaires est variable (Tobiszewski et Namiesnik, 2012). En effet, le phénanthrène est 27 fois plus soluble que l'anthracène et le benzo(b)fluoranthène 2 fois plus soluble que le benzo(k)fluoranthène (Tableau I-2).

IV.4.1.4. Flux de HAP et autres données de qualité de l'air

L'équipe du LICA mesure dans les dépôts totaux, prélevés au niveau des parcelles intensives de Bertiz, les teneurs en anions Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} et en éléments traces métalliques Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Mn, Pb et Zn (Annexe III). Des échantillonneurs passifs permettent également de mesurer les teneurs en O_3 , NH_3 et NO_2 dans l'air ambiant. Les échantillonnages durent 15 jours et sont réalisés toute l'année. Des tests de corrélation ont été effectués entre ces données et les flux moyens mensuels de HAP mesurés dans les dépôts totaux à Bertiz (Tableau IV-4). Aucune corrélation n'a été observée entre les flux de HAP et ceux de NO_3^- , As, Cd, Cr, Mn et Zn, ainsi qu'avec les teneurs en NH_3 dans l'air ambiant. En revanche, des corrélations significatives ($p < 0,01$) ont été mesurées entre les flux des 6 HAP mesurés et les flux d'anions Cl^- ($r = 0,610$) et SO_4^{2-} ($r = 0,489$), ainsi qu'avec les flux d'aluminium ($r = 0,491$) et les teneurs en NO_2 dans l'air ambiant ($r = 0,491$). Des corrélations négatives significatives ($p < 0,01$) ont également été observées entre les flux totaux de HAP et le cuivre ($r = -0,469$) ainsi que les teneurs en ozone dans l'air ambiant ($r = -0,490$).

Les corrélations avec les anions peuvent s'expliquer par l'existence d'une source d'émission commune et par le fait que ces derniers sont dissous dans les dépôts liquides, qui seraient, d'après les observations précédentes, les vecteurs principaux des HAP atmosphériques à Bertiz. Les ions SO_4^{2-} notamment proviennent de l'oxydation du SO_2 , qui est émis dans l'atmosphère en même temps que les HAP lors de la combustion de ressources fossiles (Gupta *et al.*, 2003). Une étude précédente menée à Bertiz a montré que l'aluminium et le cuivre sont des éléments géogéniques provenant de l'argile et du calcaire qui constituent le substratum du parc (Gonzalez-Miqueo, 2009). La corrélation des flux d'aluminium avec ceux des HAP semble donc liée au lessivage atmosphérique de cet élément par les précipitations. Le cuivre, à l'inverse, présente des retombées plus importantes durant les périodes de sécheresse. Ses dépôts semblent donc être liés à un phénomène de sédimentation (dépôts secs).

Les tendances annuelles des flux journaliers de HAP et des teneurs moyennes en O_3 et NO_2 dans l'air ambiant pendant l'année d'étude sont présentées dans la Figure IV-19. Le NO_2 a atteint en octobre 2010 une teneur maximale de $2,3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ et une valeur très faible en juillet 2010 d'environ $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Les variations annuelles de NO_2 avaient également montré dans des études antérieures des teneurs dans l'air ambiant maximales en hiver et minimales l'été (Han et Naehar, 2006 ; Tham *et al.*, 2008). L'ozone présente, quant à lui, des teneurs

maximales dans l'air ambiant en avril 2011 de $49 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ et minimales en décembre 2010 de $12 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Ainsi, le NO_2 est concentré dans l'air ambiant lorsque l'éclairement et l'ensoleillement sont faibles, tandis que l' O_3 est très concentré dans l'air lorsque l'éclairement et l'ensoleillement sont élevés (Figure IV-7). Le NO_2 est un gaz formé par oxydation du NO émis par les processus de combustion, en particulier par le trafic automobile, et qui participe aux réactions photo-chimiques atmosphériques (Finlayson-Pitts et Pitts Jr, 2000b). Tout comme pour les HAP, l'évolution du NO_2 est liée à une consommation plus importante de combustibles fossiles durant la saison froide. D'autre part, les réactions photochimiques sont moindres en hiver du fait d'un ensoleillement plus faible. Ainsi, les précurseurs photochimiques tels que le NO_2 sont plus concentrés dans l'air ambiant. L'ozone troposphérique est formé par des réactions photochimiques de précurseurs tels que les oxydes d'azote NO_x et les composés organiques volatils (COV) (Ribas et Peñuelas, 2004). Les variations annuelles de l' O_3 montrent donc une évolution inverse au NO_2 et aux HAP, avec des teneurs élevées l'été, lorsque les réactions photochimiques sont importantes à cause de températures et d'ensoleillement élevés (Ribas et Peñuelas, 2004 ; Tham *et al.*, 2008).

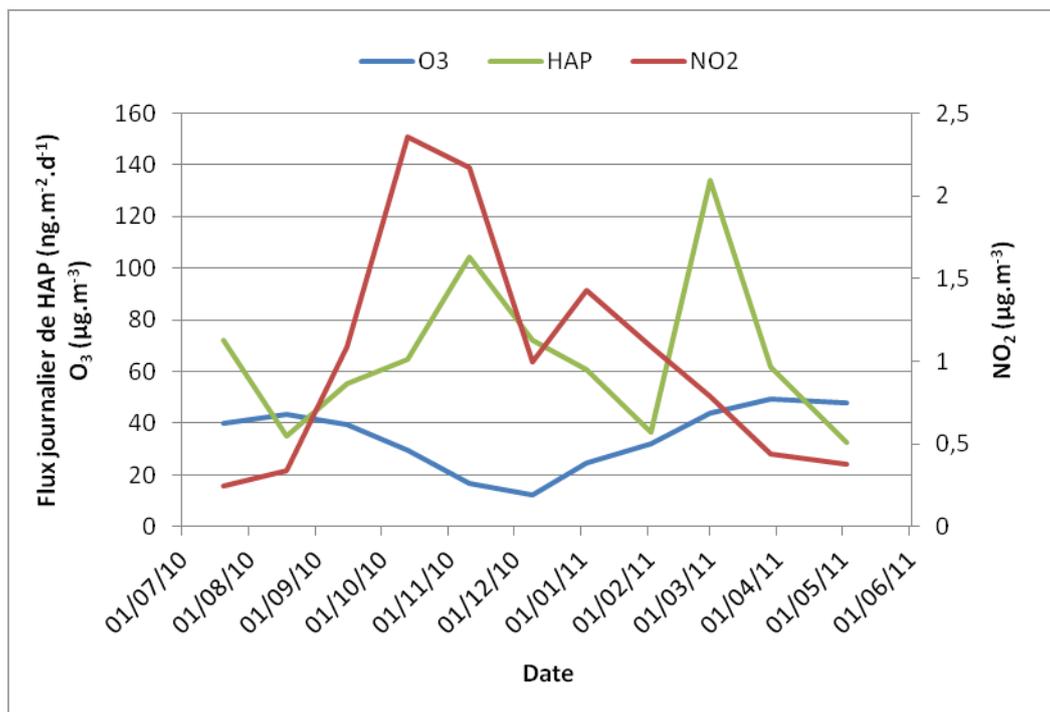


Figure IV-19. Evolution saisonnière des flux journaliers de HAP (somme des flux de PHE, ANT, PYR, B(b)F, B(k)F et B(a)P, en $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) et des teneurs en ozone et dioxyde de soufre dans l'air ambiant (en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), mesurés hors couvert forestier à Bertiz entre juin 2010 et mai 2011

Tableau IV-4. Corrélations de Pearson significatives entre les flux mensuels moyens de HAP (composés individuels et total Σ_6HAP) et les flux moyens mensuels d'anions et de métaux lourds ainsi que les teneurs en O₃ et NO₂ dans l'air ambiant, mesurés à Bertiz entre juin 2010 et mai 2011

	PHE		ANT		PYR		B(b)F		B(k)F		B(a)P		Σ_6HAP	
Cl⁻	0,562	***	0,476	**	0,347	*	0,715	****	0,635	****	0,637	****	0,610	**
SO₄²⁻	0,346	*	0,547	***	0,356	*	0,507	**	0,683	****	0,679	****	0,489	**
Al	0,391	*	0,527	**	ns		0,506	**	0,623	****	0,662	****	0,491	**
Fe	ns		0,464	**	ns		ns		0,581	***	0,569	***	0,397	*
Cr	ns		0,412	*	ns		ns		0,474	**	0,461	**	0,342	*
Cu	-0,460	**	ns		-0,400	*	ns		-0,369	*	-0,362	*	-0,469	**
Ni	ns		0,375	*	0,140	*	0,392	*	0,389	*	0,415	*	0,358	*
Pb	-0,428	*	ns		ns		ns		ns		ns		-0,373	*
O₃	-0,548	***	-0,374	*	ns		-0,522	**	-0,386	*	-0,341	*	-0,490	**
NO₂	0,549	***	0,410	*	ns		0,414	*	0,435	*	ns		0,496	**

Significativité : ns = non significatif ; (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$; (****) $p < 0,0001$

IV.4.1.5. Evaluation des flux annuels de HAP atmosphériques

Les flux annuels ont été déterminés pour 6 HAP (PHE, ANT, PYR, B(b)F, B(k)F et B(a)P), ces composés étant quantifiables dans tous les échantillons de dépôts totaux analysés (Tableau IV-3). Le phénanthrène et le pyrène sont les composés majoritaires. Des flux annuels de $26,1 \pm 3,9$ et $20,6 \pm 3,1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ de PHE et de $11,8 \pm 1,8$ et $11,6 \pm 1,7 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ de pyrène ont été mesurés hors et sous couvert respectivement (sur la base de 326 jours de prélèvement). Le phénanthrène a contribué à 44% et 39% du flux total des 6 HAP en champ et en forêt respectivement, tandis que le pyrène a contribué à 20% et à 22% de ces flux. Les 4 autres composés ont présenté des flux de même ordre de grandeur, de $5,0 \pm 0,8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ (ANT) à $5,7 \pm 0,9 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ (B(k)F) hors couvert forestier et de $4,7 \pm 0,7 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ (ANT) à $5,4 \pm 0,8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ (B(a)P) sous la canopée. La contribution de chacun de ces composés minoritaires (ANT, B(b)F, B(k)F et B(a)P) correspond à 8-10% du flux atmosphérique total mesuré pour les 6 HAP. Les niveaux élevés de PHE et de PYR résultent probablement de la proximité de la route nationale N-121A reliant Pampelune à la France. En effet, ces composés sont des marqueurs des émissions du trafic routier (Duval et Friedlander, 1981 ; Masclat *et al.*, 1986 ; Khalili *et al.*, 1995 ; Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). D'autre part, ces composés majoritaires sont des marqueurs de la combustion du bois et peuvent donc provenir en période hivernale du chauffage domestique (Khalili *et al.*, 1995 ; Smith et Harrison, 1998).

Les flux annuels totaux des 6 HAP ont été évalués à $59,4 \pm 8,9$ et $52,4 \pm 7,9 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ en champ et en forêt respectivement, sur la base de 326 jours de prélèvement. Les flux journaliers équivalents sont de 182 ± 27 and $161 \pm 24 \text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ en champ et en forêt respectivement. Les valeurs mesurées dans les dépôts à Bertiz sont plus élevées que celles d'une étude précédente réalisée dans une zone reculée des Pyrénées, pour laquelle des flux moyens de 27 - 76 $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ont été mesurés pour 25 HAP (Fernández *et al.*, 2003). Cependant, elles sont très inférieures aux valeurs mesurées en milieu urbain. Par exemple, Esen *et al.* (2008) ont mesuré à Bursa en Turquie un flux moyen de 3300 $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ entre juillet 2004 et mai 2005. Le Parc Naturel de Bertiz présente donc des flux de HAP caractéristiques des zones rurales. La différence entre le flux mesuré dans les pluviollessivats et les dépôts totaux hors couvert forestier est due à l'interception par la canopée d'une fraction des précipitations incidentes.

IV.4.2. BIOSURVEILLANCE ACTIVE AVEC LES MOUSSES

IV.4.2.1. Analyse des échantillons prélevés *in situ*

Les 13 HAP ciblés ont pu être quantifiés dans les échantillons de mousses collectés dans le Massif d'Aralar (Tableau IV-5). Des concentrations totales moyennes de 133 ± 5 et 130 ± 5 ng.g⁻¹ (MS) ont été mesurées dans les échantillons d'*Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. et *Hypnum cupressiforme* Hedw. respectivement. Ces teneurs sont du même ordre de grandeur que celles mesurées récemment dans des mousses prélevées sur d'autres sites ruraux européens (Galuszka, 2007 ; Holoubek *et al.*, 2007a ; Krommer *et al.*, 2007) (Tableau I-8). Les concentrations individuelles s'étendent de 1 à 30 ng.g⁻¹ (masse sèche) chez *Hylocomium splendens* (pour ANT et FLR respectivement) et de 1 à 32 ng.g⁻¹ (masse sèche) chez *Hypnum cupressiforme* (pour ANT et PYR respectivement). Avec des teneurs supérieures à 10 ng.g⁻¹ (MS), le fluorène, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène constituent les HAP majoritaires. Ces composés proviennent probablement du trafic routier aux alentours du Massif d'Aralar.

L'analyse de 9 échantillons d'*Hylocomium splendens* a révélé des écarts-types relatifs inférieurs à 20% pour l'ensemble des HAP ciblés, du même ordre que l'erreur liée à la reproductibilité du procédé analytique (évaluée au Chapitre II). Ainsi les conditions locales (état de la mousse, couverture végétale...) n'influencent pas, à l'échelle du site d'étude, les teneurs en HAP dans la mousse étudiée.

Enfin, les concentrations en HAP ne sont pas significativement différents entre les échantillons d'*Hypnum cupressiforme* et d'*Hylocomium splendens* ($p < 0,05$).

Tableau IV-5. Concentrations moyennes et médianes de 13 HAP (ng.g⁻¹ masse sèche) avec les écarts-types associés dans deux espèces de mousses échantillonnées sur un site reculé du Massif d'Aralar (Navarre, Espagne) : *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. (n = 11) et *Hypnum cupressiforme* Hedw. (n = 3).

HAP	Concentrations (ng.g ⁻¹ MS)			Concentrations (ng.g ⁻¹ MS)		
	<i>Hylocomium splendens</i> (Hedw.) Schimp.			<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw.		
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Moyenne	Médiane	Ecart-type
Acénaphthène (ACE)	3,5	3,1	0,4	2,9	2,9	0,2
Fluorène (FLR)	30,3	30,1	2,8	24,0	24,0	3,3
Phenanthrène (PHE)	19,2	19,8	1,3	19,0	17,9	1,9
Anthracène (ANT)	1,3	1,1	0,2	1,2	1,2	0,1
Fluoranthène (FTN)	15,5	15,5	0,8	15,7	15,5	0,5
Pyrène (PYR)	26,3	25,8	4,0	31,9	32,6	2,3
Benz(a)anthracène (BaA)	4,4	4,1	0,7	2,8	2,6	0,3
Chrysène (CHR)	8,2	7,9	0,9	7,6	8,3	1,3
Benzo(b)fluoranthène (BbF)	8,5	8,2	0,8	7,2	7,1	0,7
Benzo(k)fluoranthène (BkF)	3,5	3,5	0,4	3,0	3,0	0,2
Benzo(a)pyrène (BaP)	5,2	5,0	0,5	4,0	4,1	0,3
Dibenz(a,h)anthracène (DahA)	1,6	1,5	0,3	1,2	1,2	0,1
Benzo(g,h,i)pérylène (BghiP)	5,8	5,5	0,6	4,4	4,5	0,7
<i>Total</i>	<i>133,3</i>	<i>131,2</i>	<i>4,8</i>	<i>130,0</i>	<i>125,0</i>	<i>4,7</i>

IV.4.2.2. Variabilité inter-espèces

L'étude hors couvert forestier n'a pu être menée que jusqu'en septembre 2010, soit durant 3 mois, car les transplants n'ont pas survécu. En effet, la biosurveillance active a été mise en place à la période de l'année où la pluviométrie était minimale et où les températures, l'éclairement et l'ensoleillement étaient maximaux (Figure IV-6, Figure IV-7). Étant donné que l'habitat des mousses utilisées est de type forestier, ces dernières ne sont pas adaptées à une exposition permanente à la lumière du soleil, et sans couverture végétale, elles ne sont pas capables de conserver un taux d'humidité suffisant pour survivre.

Les teneurs en HAP ont été mesurées dans les échantillons prélevés le 18/08/2010, après 68 jours d'exposition aux dépôts atmosphériques dans l'arboretum du Parc Naturel de Bertiz. Les échantillons d'*Hylocomium splendens* (n = 3) ont révélé des teneurs totales pour les 13 HAP de $187 \pm 43 \text{ ng.g}^{-1}$ (MS) et les échantillons d'*Hypnum cupressiforme* (n = 3) des teneurs de $179 \pm 11 \text{ ng.g}^{-1}$ (MS). Ainsi, l'exposition de ces mousses aux dépôts atmosphériques de Bertiz a conduit à une bioaccumulation significative de HAP atmosphériques ($p < 0,01$). D'autre part, après 68 jours, les teneurs individuelles moyennes des 13 HAP dans les deux espèces sont significativement corrélées ($r = 0,9971$, $p < 0,01$) et leurs valeurs sont très proches (Figure IV-20).

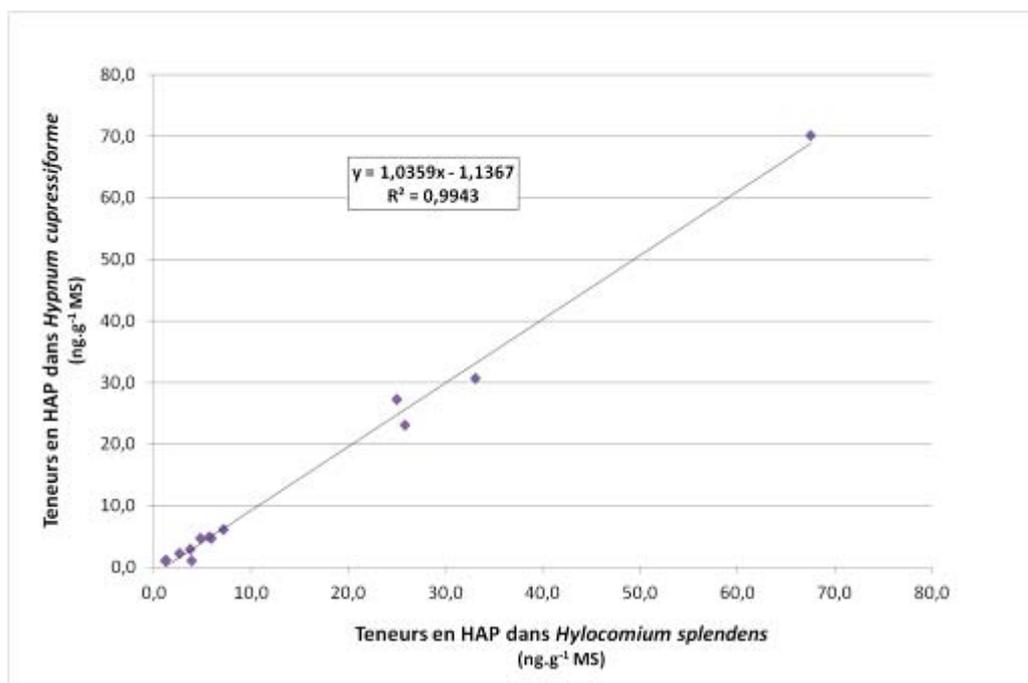


Figure IV-20. Variabilité inter-espèces : teneurs en HAP individuels (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) en ng.g^{-1} (masse sèche) dans les échantillons de mousse *Hypnum cupressiforme* (n = 3) en fonction de celles dans *Hylocomium splendens* (n = 3) prélevées après 68 jours de biosurveillance active hors couvert forestier dans le Parc Naturel de Bertiz

IV.4.2.3. Variations saisonnières des teneurs des mousses en HAP

Etant donné que la biosurveillance en champ n'a duré que 3 mois, les variations saisonnières des teneurs en HAP ont été étudiées avec la biosurveillance menée en forêt.

Les teneurs totales en 13 HAP mesurées dans les mousses *Hylocomium splendens* disposées sous la canopée forestière de Bertiz de juin 2010 à mai 2011 ont montré des variations importantes durant l'année allant de $129 \pm 6 \text{ ng.g}^{-1}$ (MS) en juin 2010 à $1100 \pm 600 \text{ ng.g}^{-1}$ (MS) en octobre 2010 (Figure IV-21). Une analyse de la variance (ANOVA), réalisée avec XLSTAT 2008, a montré que ces variations saisonnières sont significativement plus importantes que la variabilité liée à l'échantillonnage des mousses ($p < 0,05$).

D'autre part, l'analyse de la variance a montré que les teneurs de l'ensemble des HAP étudiés, mêmes minoritaires, ont varié de façon significative au cours des saisons entre juin 2010 et mai 2011 ($p < 0,05$). La Figure IV-22 représente les variations des teneurs des 13 HAP au cours de l'année d'étude. Les composés majoritaires sont, par ordre croissant d'importance : le fluorène, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène. Il s'agit de marqueurs de la combustion du bois (Khalili *et al.*, 1995 ; Smith et Harrison, 1998) et des émissions du trafic routier (Duval et Friedlander, 1981 ; Masplet *et al.*, 1986 ; Khalili *et al.*, 1995 ; Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). La contribution du pyrène représente de 41% à 59% de la concentration totale des 13 HAP (proportions mesurés en juillet 2010 et en novembre 2010 respectivement). Ainsi, on peut supposer que la route nationale N-121-A, située aux alentours du Parc Naturel de Bertiz, est une source importante de HAP tout au long de l'année. D'autre part, la contribution est plus élevée pendant la période hivernale, probablement à cause du chauffage domestique.

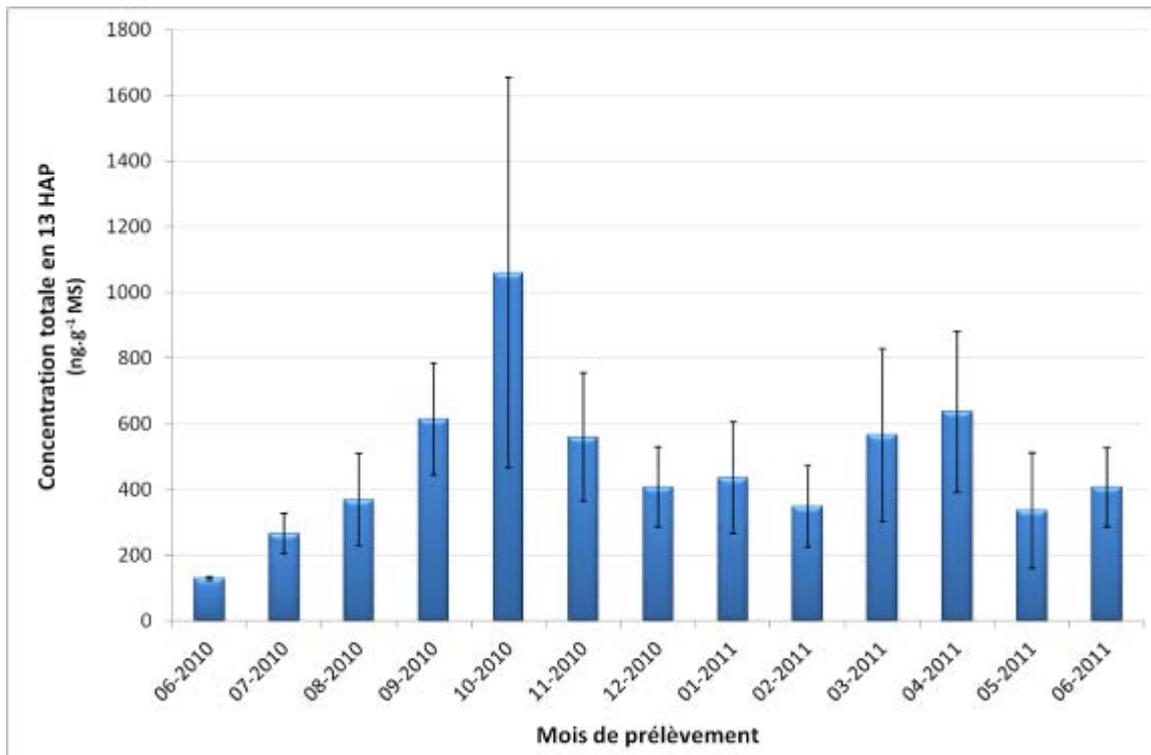


Figure IV-21. Teneurs totales (ng.g⁻¹, MS) en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) dans les mousses *Hylocomium splendens* prélevées dans le Massif d'Araral et installées de juin 2010 à mai 2011 dans une forêt de hêtres du Parc Naturel de Bertiz

Les barres d'erreur représentent l'incertitude ($P = 95\%$) évaluée avec la loi de Student pour $n = 8$ échantillons.

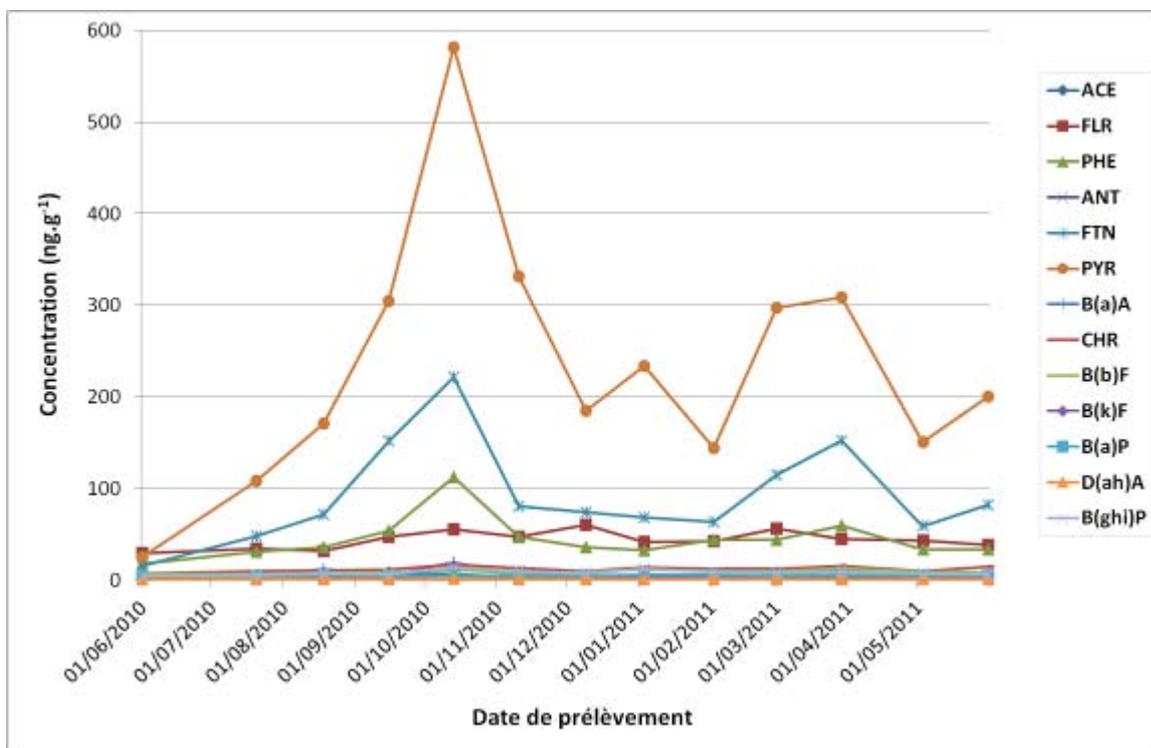


Figure IV-22. Concentrations individuelles moyennes en HAP (ng.g⁻¹, MS) dans les mousses *Hylocomium splendens* prélevées dans le Massif d'Araral et exposées de juin 2010 à mai 2011 aux dépôts atmosphériques dans une forêt de hêtres du Parc Naturel de Bertiz

Une analyse de variance (ANOVA) a montré des différences temporelles très significatives pour les rapports de diagnostic FTN/(FTN+PYR) et B(a)P/B(ghi)P ($p < 0,0001$) et un test de corrélation de Pearson a montré une corrélation significative entre les valeurs de ces deux rapports de diagnostic ($r = 0,738$, $p < 0,01$). Les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées dans le Massif d'Araral (valeurs de juin 2010) présentent des valeurs respectives pour ces rapports de 0,38 et 1,53 (Figure IV-23). Lors de l'exposition des mousses aux retombées atmosphériques de Bertiz, ces rapports ont diminué progressivement jusqu'à atteindre en novembre 2010 des valeurs minimales de 0,19 et 0,75 pour FTN/(FTN+PYR) et B(a)P/B(ghi)P respectivement. Les valeurs sont ensuite remontées progressivement jusqu'en mars 2011, où elles se sont stabilisées à environ 0,3 et 1,3 pour FTN/(FTN+PYR) et B(a)P/B(ghi)P respectivement. Dvorská *et al.* (2011) ont également observé, dans l'air ambiant prélevé en milieu rural, un rapport FTN/(FTN+PYR) plus faible en hiver. Les variations saisonnières de ces rapports de diagnostic sont sans doute liées à une variabilité saisonnière des émissions. En effet, une étude menée au Royaume-Uni a montré que 42% des émissions de benzo(a)pyrène et 66% des émissions de benzo(ghi)perylène proviennent de sources saisonnières (Prevedouros *et al.*, 2004b). La corrélation entre les deux rapports suggère l'existence de sources d'émission communes. D'autre part, la photodégradation du pyrène étant plus rapide que celle du fluoranthène, il est possible que les radiations solaires favorisent des valeurs plus élevées pour ce rapport durant l'été (Dvorská *et al.*, 2011).

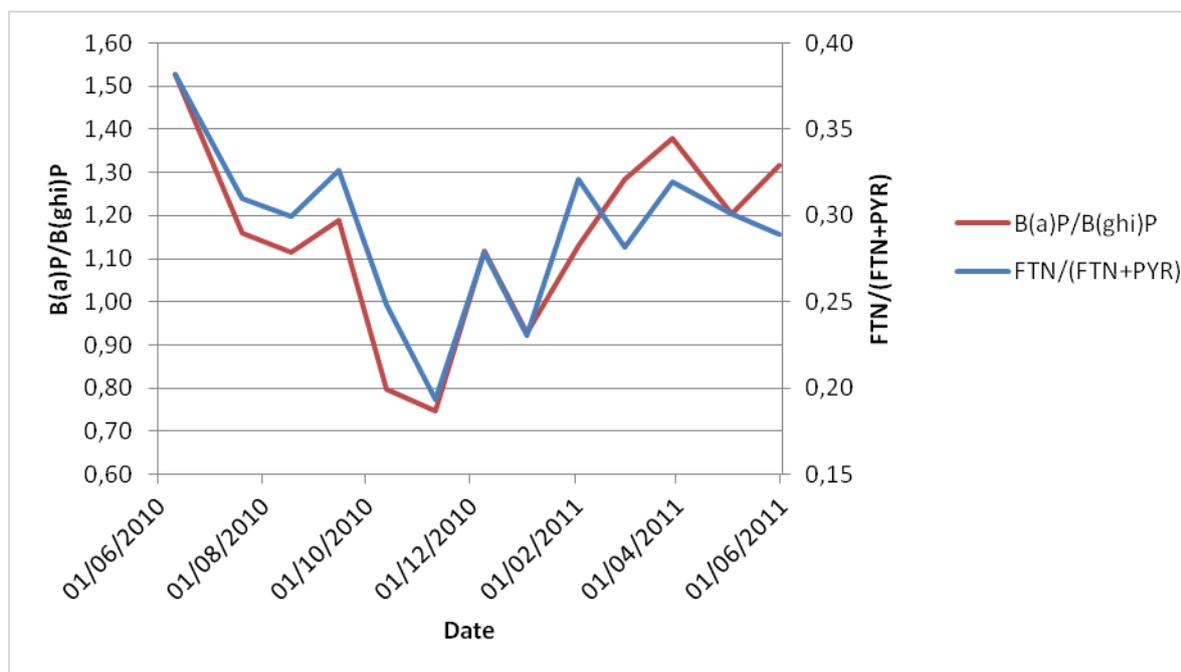


Figure IV-23. Variations saisonnières entre juin 2010 et mai 2011 des rapports de diagnostic FTN/(FTN+PYR) et B(a)P/B(ghi)P dans les mousses exposées aux retombées atmosphériques de Bertiz

Comme dans les dépôts totaux, les rapports $ANT/(ANT+PHE)$ et $B(b)F/B(k)F$ n'ont pas varié de manière significative ($p < 0,05$), avec des valeurs sur l'année de 0,03-0,06 et 2,13-2,62 respectivement. Ces rapports sont significativement supérieurs aux rapports mesurés dans les dépôts ($p < 0,01$). Le transfert des HAP vers la plante est source de fractionnement des différents composés en fonction de leurs propriétés lipophiles, caractérisées par les coefficients octanol-eau K_{OW} et octanol-air K_{OA} (Tobiszewski et Namiesnik, 2012). Étant donné que ces coefficients présentent, pour les composés de même masse molaire, des valeurs du même ordre de grandeur, les rapports de diagnostic mesurés dans les mousses semblent donc plus appropriés pour identifier les sources d'émission des HAP.

En ce qui concerne le rapport $B(a)A/(B(a)A+CHR)$, aucune tendance saisonnière n'a été observée. Les prélèvements hivernaux (10/11/2010 - 1/03/2011) ont présenté des valeurs stables de 0,25-0,30. Sur le reste de l'année, les valeurs moyennes étaient plus élevées avec jusqu'à 0,52, ce qui est considérable. Cependant, les prélèvements réalisés l'été ont présenté de fortes variations pour un même échantillonnage. Par exemple, pour les mousses prélevées au mois d'août, le rapport varie de 0,15 à 0,90 entre les 8 échantillons. Cette variabilité est probablement due à des différences d'exposition des auges à la lumière du soleil. En effet, le benzo(a)anthracène se dégrade plus rapidement à la lumière que son isomère (Tableau I-6). Ce phénomène a déjà été observé avec les aiguilles de pin (De Nicola *et al.*, 2011).

Des études menées dans l'air ambiant ont montré que les émissions du trafic automobile sont marquées par des rapports inférieurs à 0,4-0,5 pour $FTN/(FTN+PYR)$ et supérieurs à 0,35 pour $B(a)A/(B(a)A+CHR)$, tandis que la présence d'émissions provenant de la combustion de charbon, de bois ou de biomasse conduit à des rapports supérieurs à 0,5 pour $FTN/(FTN+PYR)$ et inférieurs à 0,35 pour $B(a)A/(B(a)A+CHR)$ (De La Torre-Roche *et al.*, 2009 ; Akyüz et Cabuk, 2010). Les valeurs de $FTN/(FTN+PYR)$ mesurées dans les mousses de Bertiz ne correspondent pas aux intervalles mentionnés dans la littérature. Le rapport $B(a)A/(B(a)A+CHR)$ étant inférieur à 0,35 de novembre à mars 2010, il en ressort que le chauffage domestique serait la source principale d'émission de HAP autour de Bertiz durant l'hiver. A la belle saison, ce rapport dépasse 0,35, ce que signifierait que le trafic est alors la source principale de contamination par les HAP atmosphériques.

IV.4.2.4. Etude de l'influence de la canopée sur les teneurs en HAP

Afin d'évaluer l'influence de la canopée sur les teneurs totales en HAP dans les mousses, les valeurs mesurées entre juin et septembre 2010 dans les spécimens d'*Hylocomium splendens* disposés en champ et en forêt ont été comparées (Figure IV-24). Entre juillet et septembre 2010, les valeurs sont significativement plus faibles dans les échantillons prélevés en champ que dans ceux prélevés en forêt ($p < 0,05$). Or, l'étude annuelle des dépôts totaux a révélé que les retombées atmosphériques des 6 HAP étudiés en forêt représentent 82% du flux total mesuré hors couvert forestier (§ IV.4.1.2.). Ainsi, les mousses disposées en champ devraient *a priori* avoir accumulé plus de HAP. Toutefois, ces échantillons ont été exposés dès le mois de juin à un éclairage et un ensoleillement importants (Figure IV-7), alors que ceux disposés en forêt se situaient à l'ombre du feuillage des hêtres. Ainsi, les mousses *Hylocomium splendens* disposées en champ ont atteint un taux d'humidité inférieur à 10% durant l'été 2010, tandis qu'en forêt ce taux était supérieur à 50%. Les teneurs plus faibles en HAP dans les mousses disposées en champ peuvent donc être expliquées par une volatilisation des HAP les plus légers, par une dégradation de l'ensemble des HAP du fait de leur réactivité photochimique ou par une modification du métabolisme des mousses induisant une accumulation plus faible des HAP.

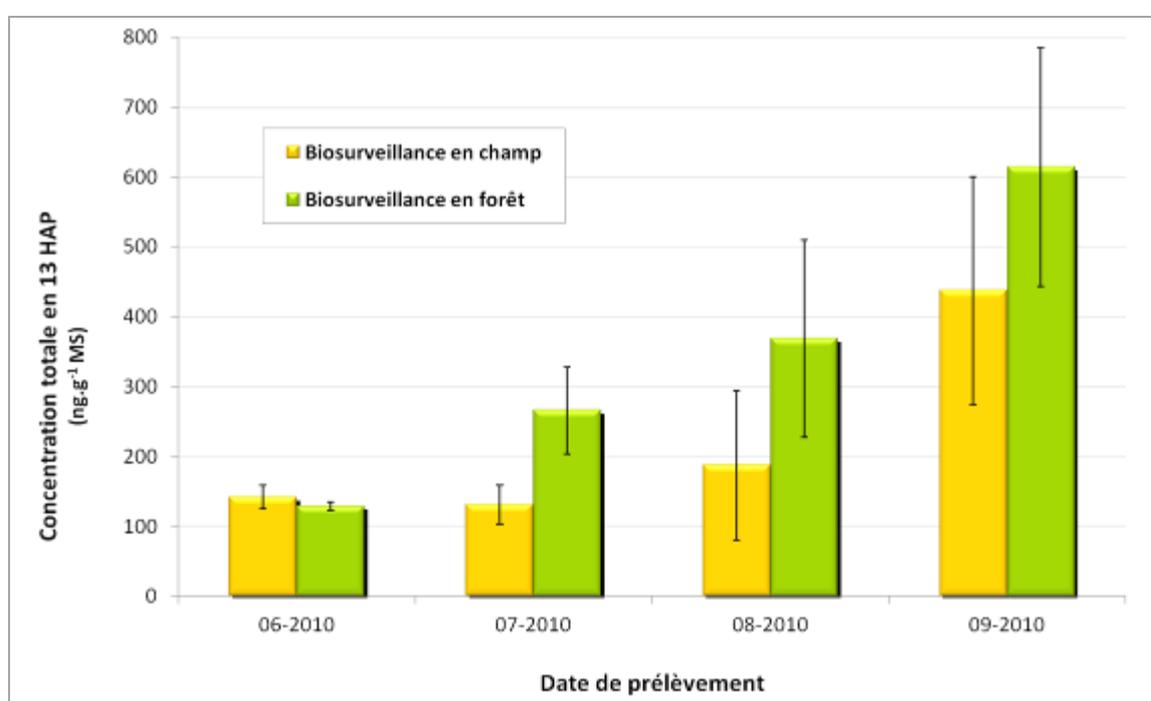


Figure IV-24. Teneurs totales en 13 HAP dans les mousses *Hylocomium splendens* prélevées dans le Massif d'Aralar et exposées de juin 2010 à septembre 2010 aux dépôts atmosphériques hors couvert forestier ($n = 3$) et en forêt ($n = 8$) dans le Parc Naturel de Bertiz

Les barres d'erreur représentent l'incertitude ($P = 95\%$) évaluée avec la loi de Student pour n échantillons.

Afin de mieux comprendre le micro-climat auquel les mousses sont soumises sous la canopée forestière, le LAI a été mesuré entre juillet et novembre 2010 au-dessus des auges B1 à B18. Avec des valeurs de 3,9 et 5,4 $\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$ durant la belle saison (mesure à 85,7°), le LAI présente des valeurs différentes en fonction de l'auge de mousses au-dessus de laquelle on mesure ce dernier (Figure IV-25). Ainsi, la variabilité spatiale des teneurs en HAP dans les mousses prélevées dans les différentes auges peut s'expliquer, pour la période estivale, par la structure variable de la canopée.

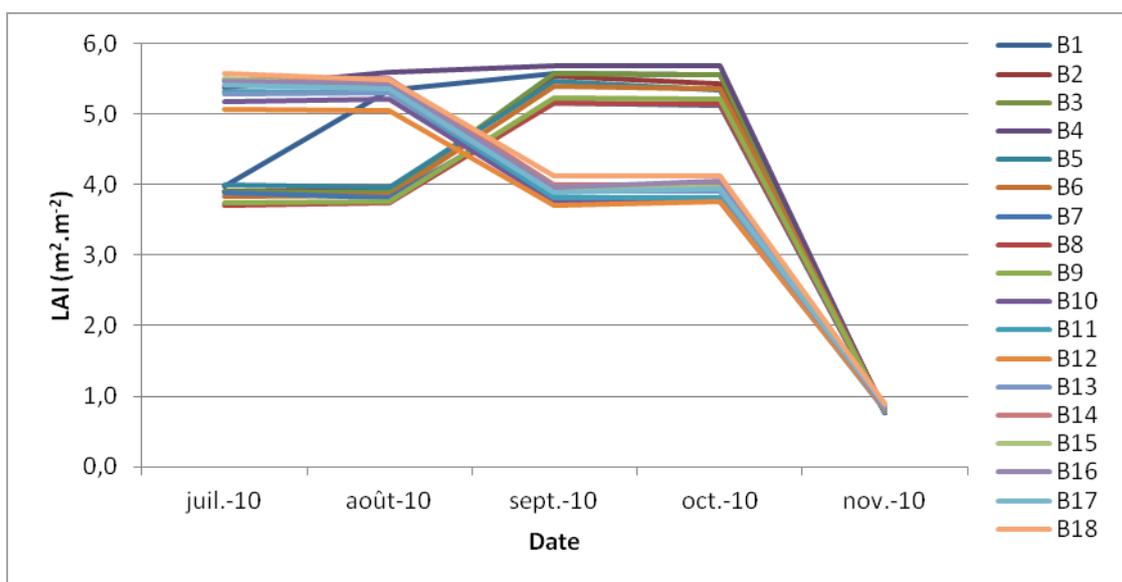


Figure IV-25. Variations temporelles du LAI ($\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$) mesuré au-dessus de chaque auge de mousses (B1-18) entre juillet et novembre 2010

Le LAI hivernal correspond à 15-20% du LAI estival. Or, d'après la bibliographie (§ I.2.1.2.3.), la croissance optimale des bryophytes est atteinte avec 20% de l'intensité lumineuse maximale, qui leur permet de limiter les pertes par évaporation tout en assurant une photosynthèse suffisante. Ainsi, le feuillage permet de maintenir une croissance optimale des mousses en période estivale. Ceci confirme que l'habitat en champ n'était pas adapté pour l'étude de biosurveillance avec des bryophytes mésophytes.

IV.4.3. COMPARAISON DES APPORTS ATMOSPHERIQUES DE HAP ET DES TENEURS DANS LES MOUSSES

Afin d'évaluer l'utilisation de bryophytes pour la surveillance des retombées atmosphériques de HAP, une étude parallèle des teneurs en HAP dans les dépôts totaux et dans les mousses a été réalisée. Ce travail n'a pu être effectué que sous la couverture forestière car l'espèce utilisée (*Hylocomium splendens*) n'est pas viable lors d'une exposition prolongée au soleil. D'autre part, la procédure analytique utilisée pour l'étude des teneurs en HAP dans les dépôts totaux n'ayant pu être validée que pour le phénanthrène, l'anthracène, le pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène et le benzo(a)pyrène, la comparaison des flux atmosphériques de HAP et des concentrations des mousses en HAP se limite à ces 6 composés. Les variations saisonnières des retombées mensuelles de HAP et des teneurs totales en HAP dans les mousses sont représentées sur la [Figure IV-26](#). Globalement, les tendances sont similaires, avec des valeurs minimales atteintes durant la période estivale (juillet-septembre 2010) et en hiver lorsque les précipitations sont faibles (janvier 2011).

Une analyse des différences des teneurs en HAP dans les mousses aux différentes dates de prélèvement (test de Newman-Keuls) a montré que les teneurs en octobre 2010 présentent des valeurs significativement plus élevées que celles du reste de l'année d'étude ($p < 0,05$). D'autre part, les teneurs totales de HAP mesurées en septembre et novembre 2010, ainsi qu'en avril 2011, sont significativement supérieures à la concentration initiale mesurée dans la mousse. Or, le test de Newman-Keuls a montré, pour les flux mensuels des 6 HAP, des valeurs significativement plus élevées d'octobre à décembre 2010 et de février à mars 2011 ($p < 0,05$). Ainsi, les flux de HAP dans les dépôts totaux sont élevés entre octobre et décembre 2010, alors que les teneurs en HAP dans les mousses diminuent durant cette période. Cela peut s'expliquer par un lessivage des HAP présents à la surface des bryophytes par les précipitations. D'autre part, les flux de HAP sont élevés au printemps, mais les concentrations en HAP dans les mousses varient peu. Toutefois, il est possible que, durant cette période, l'augmentation de la biomasse de la mousse réduise les teneurs en HAP dans le végétal.

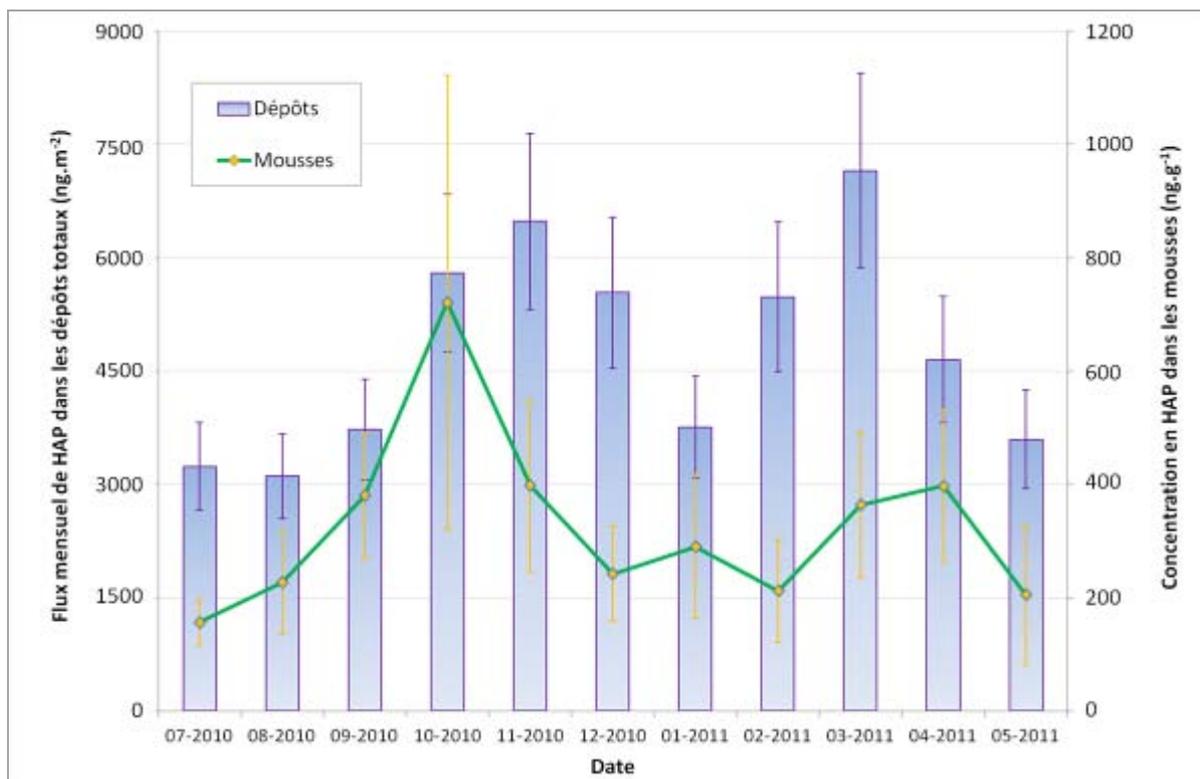


Figure IV-26. Variations saisonnières entre juillet 2010 et mai 2011 des retombées atmosphériques de HAP mesurées dans les dépôts totaux (ng.m⁻²) et des concentrations en HAP dans les mousses (ng.g⁻¹)

Les barres d'erreur représentent l'incertitude (P = 95%) évaluée avec la loi de Student pour n = 8 échantillons de mousses et n = 6 échantillons de dépôts par mois de prélèvement.

Malgré ces différences, il existe une corrélation significative entre les concentrations totales mesurées chaque mois dans les mousses et les flux moyens mensuels mesurés dans les dépôts totaux ($r = 0,464$, $p < 0,01$). Si l'on s'intéresse aux HAP individuels, on observe une corrélation significative pour le phénanthrène ($r = 0,537$, $p < 0,01$), mais pas pour les autres composés. Toutefois, le phénanthrène est le composé majoritaire dans les dépôts totaux, représentant de 29% et 50% du flux total (Figure IV-27a), et a donc un impact important sur les teneurs totales en HAP. L'absence de corrélation pour les autres composés peut s'expliquer par le fait que ces derniers présentent des teneurs relatives différentes dans les mousses (Figure IV-27b) et dans les dépôts (Figure IV-27a). Le pyrène en particulier est beaucoup plus concentré dans les mousses que dans les dépôts. Ceci est lié aux propriétés lipophiles de ce composé. En effet, son coefficient de partition octanol-eau est très élevé par rapport aux autres HAP mesurés ($\log K_{OW}$ de 8,8 contre 4,5-6,5 pour les 5 autres composés). Le phénanthrène est, quant à lui, environ 10 fois plus soluble que le pyrène (1,1 contre 0,13 mg.L⁻¹), ce qui explique qu'il soit plus concentré dans les dépôts totaux. Ainsi, on observe un fractionnement des composés lors de la bioaccumulation par les bryophytes des HAP issus des retombées atmosphériques.

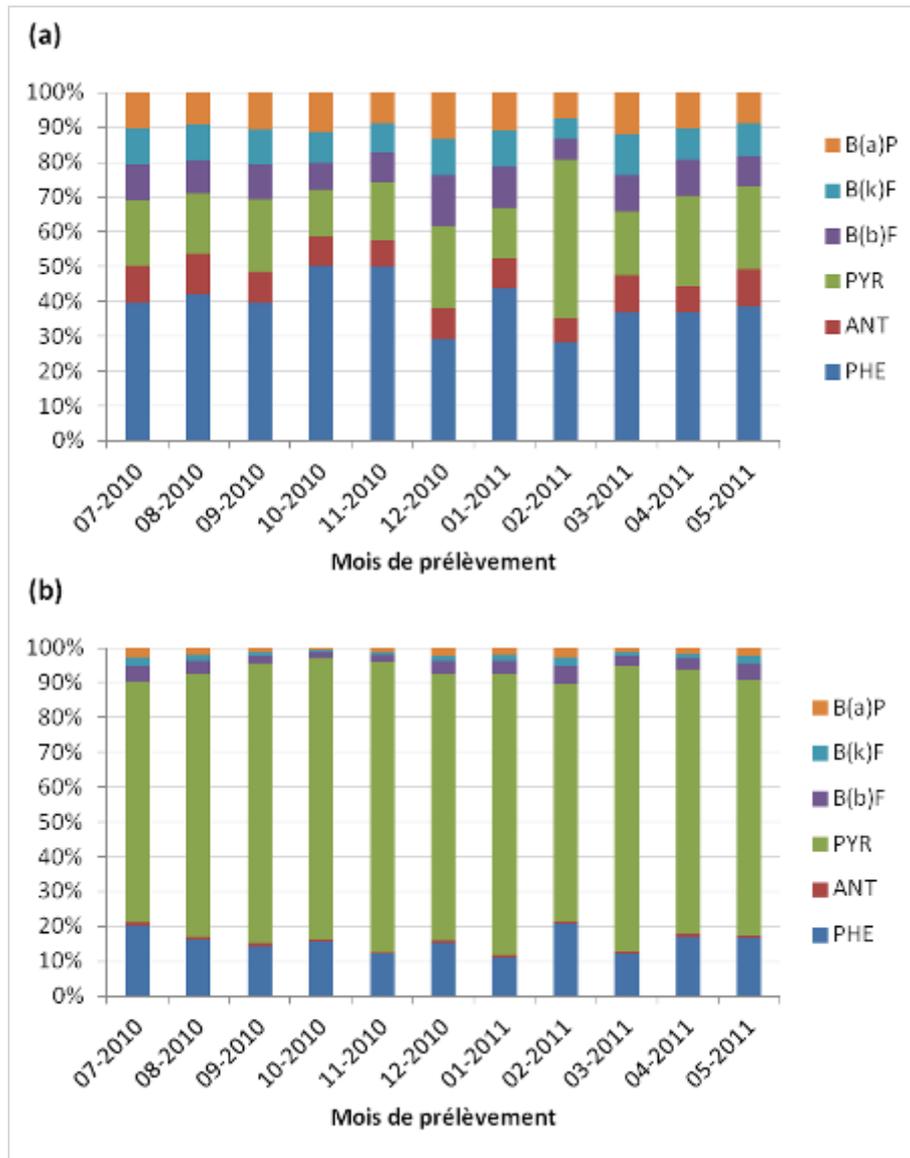


Figure IV-27. Variations saisonnières entre juillet 2010 et mai 2011 de la distribution des HAP dans (a) les dépôts et (b) les mousses

Afin d'étudier le fractionnement des HAP dans les bryophytes lors de l'accumulation des retombées atmosphériques, le facteur de bioconcentration a été calculé à partir de l'expression suivante :

$$FBC = \frac{[HAP]_{\text{mousses}}}{[HAP]_{\text{dépôts}}} \times \rho_{\text{eau}} \quad \text{Eq. III-2}$$

avec FBC le facteur de bioconcentration (-), $[HAP]_{\text{mousses}}$ les teneurs individuelles en HAP mesurées dans les mousses (ng.g^{-1}), $[HAP]_{\text{dépôts}}$ les teneurs individuelles en HAP mesurées dans les dépôts totaux collectés (ng.L^{-1}), ρ_{eau} la masse volumique de l'eau (1000 g.L^{-1}).

Il en ressort que le facteur de bioconcentration moyen des HAP dans les mousses sur l'année d'étude varie d'environ 2000 pour le benzo(k)fluoranthène à 40 000 pour le pyrène. Un test de corrélation de Pearson (Tableau IV-6) a permis de montrer que ce facteur est significativement corrélé avec les coefficients de partition octanol-eau des HAP étudiés ($r = 0,794$, $p < 0,01$). Ceci est dû à l'existence d'une corrélation significative entre ce paramètre physico-chimique et les teneurs en HAP dans les mousses ($r = 0,768$, $p < 0,01$). Ainsi, la bioaccumulation des HAP dans les bryophytes dépend bien des propriétés lipophiles des composés en question. Le fractionnement entre les dépôts et les mousses a lieu car les teneurs en HAP dans les dépôts sont, quant à elles, significativement corrélées à la solubilité des composés ($r = 0,852$, $p < 0,01$).

Tableau IV-6. Corrélations de Pearson ($p < 0,01$) entre les propriétés physico-chimiques des HAP, leurs teneurs dans les dépôts totaux, les mousses et le facteur de bioconcentration (FBC)

	log K_{OW} à 25 °C	sol (mg.L ⁻¹) à 25 °C	[HAP] _{dépôts} (ng.L ⁻¹)	[HAP] _{mousses} (ng.g ⁻¹)
log K_{OW} à 25 °C	1			
sol (mg.L ⁻¹) à 25 °C	-0,418	1		
[HAP] _{dépôts} (ng.L ⁻¹)	0,106	0,852	1	
[HAP] _{mousses} (ng.g ⁻¹)	0,768	0,083	0,550	1
FBC	0,794	-0,076	0,371	0,960

IV.5. Conclusion

L'analyse des échantillons de dépôts totaux collectés entre juin 2010 et mai 2011 dans le Parc Naturel de Bertiz (Navarre, Espagne) montre une corrélation entre les précipitations collectées et les flux atmosphériques de HAP. Ainsi, les retombées atmosphériques de HAP sont fortement influencées par les dépôts humides au niveau de ce site, qui est caractérisé par un climat océanique tempéré et humide. Des corrélations significatives sont observées avec d'autres polluants collectés dans les dépôts totaux, en particulier avec les anions Cl^- et SO_4^{2-} , ainsi qu'avec les teneurs atmosphériques en dioxyde d'azote, émis comme les HAP lors de la combustion de matières fossiles et de biomasse (trafic automobile, chauffage domestique ...). Les retombées atmosphériques de HAP sont également anti-corrélées avec les teneurs atmosphériques en ozone, polluant secondaire d'origine photochimique dont les concentrations sont élevées durant la période estivale.

Une étude de biosurveillance à l'aide de deux espèces de mousses pleurocarpes mésophytes (*Hypnum cupressiforme* et *Hylocomium splendens*), prélevées sur un site montagneux de Navarre peu contaminé par les polluants atmosphériques et disposées à Bertiz hors couvert forestier, a permis de montrer une bioaccumulation des HAP d'origine atmosphérique. Les deux espèces ont présenté les mêmes taux d'accumulation entre juin et septembre 2010. Les échantillons n'ont pu cependant être utilisés au-delà de 3 mois de biosurveillance active car l'habitat n'était pas adapté. En effet, les mousses étant poikilohydriques, leur déshydratation en période estivale était trop élevée pour permettre leur survie. L'utilisation des mousses pour étudier les retombées atmosphériques de HAP durant une année a donc été réalisée uniquement sous la canopée forestière. Pour cela, l'espèce *Hylocomium splendens* a été placée dans une forêt de feuillus (*Fagus sylvatica*) de juin 2010 à mai 2011.

L'étude des pluviollessivats collectés dans la même forêt a montré une variabilité maximale de flux de HAP de 25% entre les 6 collecteurs, ce qui est satisfaisant. La comparaison des flux de HAP mesurés dans les pluviollessivats avec ceux mesurés hors couvert forestier a permis de montrer que 20% des retombées atmosphériques annuelles de HAP ont été retenus par la canopée. L'étude de biosurveillance avec les mousses *Hylocomium splendens* hors et sous couvert forestier n'a pas reflété ces pertes entre juin et septembre 2010.

En effet, les échantillons disposés en champ ont montré des teneurs en HAP plus faibles qu'en forêt, ce qui résulte probablement d'un ensoleillement et de températures plus importantes ayant induit non seulement des réactions photochimiques des HAP, mais aussi une volatilisation des HAP de faible masse molaire ; les précipitations quasi-nulles ont également conduit à un ralentissement du métabolisme des mousses.

Les flux atmosphériques annuels au niveau du site de Bertiz ont été estimés pour six HAP : le phénanthrène, l'anthracène, le pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène et le benzo(a)pyrène. Les composés majoritaires sont le phénanthrène suivi du pyrène, des marqueurs des émissions issues de la combustion des ressources fossiles et de la biomasse. Les sources de contamination du site de Bertiz seraient donc le chauffage domestique et le trafic routier. L'évaluation des rapports de diagnostic montre que le trafic routier serait la source prépondérante de HAP. Les flux journaliers moyens des 6 composés ont été estimés à $6,8 \pm 0,8 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ et $5,6 \pm 1,0 \text{ ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ hors couvert forestier et en forêt respectivement. Les retombées atmosphériques sont donc relativement faibles, et caractéristiques des zones rurales.

Les variations saisonnières des teneurs en HAP mesurées dans les pluvolessivats se sont révélées significatives. D'une part, les flux de HAP les plus élevés ont été mesurés lors d'épisodes de précipitations intenses qui induisent un lessivage de la colonne atmosphérique. D'autre part, les flux sont globalement plus importants durant l'automne et l'hiver, lorsque les émissions de HAP sont plus élevées à cause du chauffage domestique et que les composés sont peu dégradés dans l'atmosphère à cause de radiations solaires peu intenses.

Des tendances similaires ont été retrouvées pour les teneurs totales en HAP dans les bryophytes disposées en forêt, avec toutefois des amplitudes moins importantes résultant probablement de phénomènes de lessivage des HAP à leur surface et de dilution des teneurs en HAP lors de leur croissance. Ainsi, les teneurs en HAP dans les mousses disposées en forêt sont corrélées aux flux de HAP mesurés dans les pluvolessivats ($r = 0,464$, $p < 0,01$), du fait d'une corrélation significative du phénanthrène ($r = 0,537$, $p < 0,01$), le composé majoritaire dans les retombées atmosphériques. Cependant, les teneurs des autres composés étudiés (ANT, PYR, B(b)F, B(k)F et B(a)P) ne sont pas corrélées, en raison d'un fractionnement de ces composés lors de leur bioaccumulation par les bryophytes. En effet, le facteur de bioconcentration des HAP dans les mousses est significativement corrélé au $\log K_{ow}$ de ces composés ($r = 0,794$, $p < 0,01$), du fait d'une corrélation significative entre ce paramètre

physico-chimique et les teneurs en HAP dans les mousses ($r = 0,768$, $p < 0,01$). Ainsi, la bioaccumulation des HAP dans les bryophytes dépend de leur affinité avec la matière organique. Le fractionnement entre les dépôts et les mousses se produit car les teneurs en HAP dans les dépôts sont, quant à elles, significativement corrélées à la solubilité des composés ($r = 0,852$, $p < 0,01$). Ainsi, le suivi des flux atmosphériques de HAP dans les dépôts totaux ne permet pas de prévoir *a priori* les teneurs relatives de HAP dans les écosystèmes.

CHAPITRE V.

**ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION
SPATIALE DES RETOMBÉES DE HAP
ATMOSPHERIQUES EN NAVARRE :
COMPARAISON AVEC D'AUTRES
RÉGIONS EUROPÉENNES**

Le peu qu'on peut faire, le très peu qu'on peut faire, il faut le faire,
pour l'honneur, mais sans illusion.

Théodore Monod (1902-2000)

V.1. Objectifs et contexte de l'étude

Le protocole d'Aarhus (1998) à la CPATLD vise l'élimination et/ou la restriction de la production et de l'utilisation de 16 substances : 11 pesticides, 2 produits chimiques industriels (HCH et PCB) et 3 sous-produits/contaminants non intentionnels (PCDD/PCDF, HCB et HAP). La convention de Stockholm a visé initialement l'élimination et/ou la restriction de 12 substances. La liste a été complétée en 2009 avec 9 nouvelles substances, dont les polybromodiphényléthers (retardateurs de flamme bromés). Toutefois, à ce jour, la Convention n'inclut pas de HAP.

En Europe, les émissions et les retombées atmosphériques de POP sont mesurées et modélisées par le programme EMEP, mis en place suite à la signature de la Convention de Genève (Gusev *et al.*, 2011). Un modèle permettant de calculer les concentrations atmosphériques, le transport et les dépôts de HAP, de dioxines (PCDD), de furanes (PCDF), de PCB et de lindane (pesticide organochloré) a été développé. En 2009, 23 sites EMEP répartis dans 17 pays mesuraient les teneurs en POP (HAP, HCH, HCB et PCB) dans l'air et les dépôts humides. Le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène et l'indéno(1,2,3-cd)pyrène, HAP réglementés par la Directive 2004/107/EC, sont mesurés dans l'air ambiant seulement au niveau de 15 sites en Europe. Les écarts entre le modèle et les mesures ont été évalués à 10-30%. A l'heure actuelle, les concentrations en B(a)P les plus élevées ont été mesurées en Europe Centrale ([Figure V-1](#)). Toutefois, les simulations réalisées dans le cadre d'EMEP ont montré, pour 25 pays, que plus de 50% des dépôts de B(a)P étaient dus en 2009 à la pollution transfrontalière. D'autre part, les paramètres météorologiques et géomorphologiques de chaque pays influent sur les teneurs en HAP dans l'air.

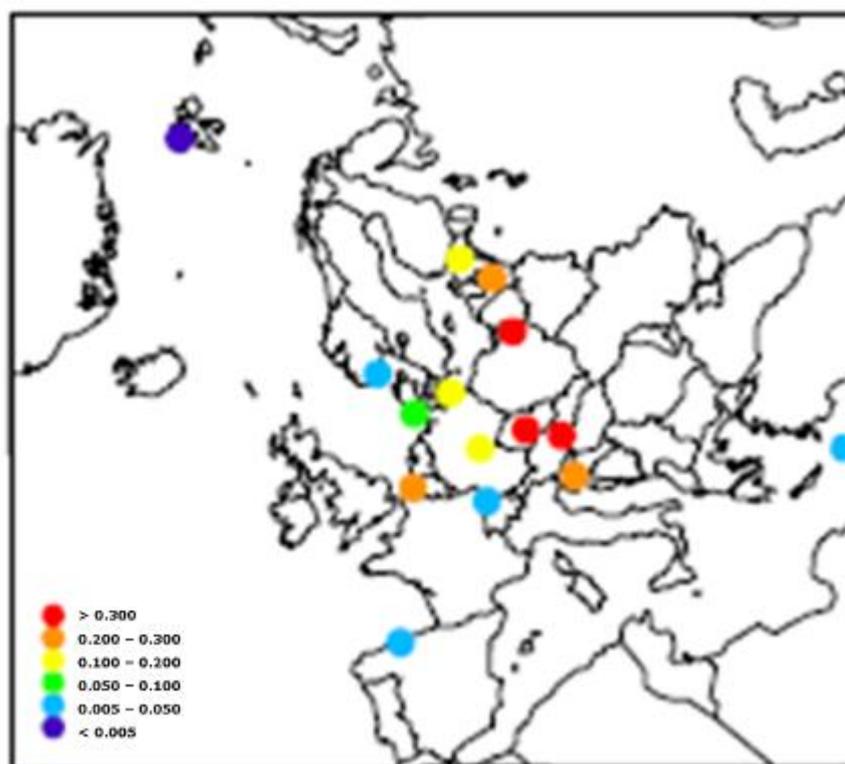


Figure V-1. Distribution spatiale des concentrations moyennes annuelles de B(a)P (en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) mesurées en 2009 au niveau des sites de surveillance EMEP (Gusev et al., 2011)

Le Protocole à la CPATLD relatif aux métaux lourds a été adopté par le Corps Exécutif de la Commission Economique pour l'Europe des Nations Unies en 1998 à Aarhus (Danemark). Ce dernier vise la réduction des teneurs en métaux lourds les plus dangereux, c'est-à-dire le cadmium, le plomb et le mercure, dans les émissions issues des industries (sidérurgie et industries des métaux non ferreux), des procédés de combustion (génération d'énergie et transports routiers) ainsi que de l'incinération des ordures ménagères. La mise en application du Protocole a conduit à une baisse considérable des dépôts atmosphériques des métaux lourds. L'amélioration de la qualité de l'air a été suivie par le programme EMEP, mais également grâce à l'analyse de bryophytes dans le cadre du PIC-Végétation, programme international concerté relatif aux effets de la pollution atmosphérique sur la végétation naturelle et les cultures, mis en place au sein du groupe de travail sur les effets de la convention de Genève. Par exemple, une baisse moyenne de 72% des concentrations en plomb dans les mousses en Europe a été observée entre 1990 et 2005, due à la suppression des carburants contenant du plomb (Figure V-2).

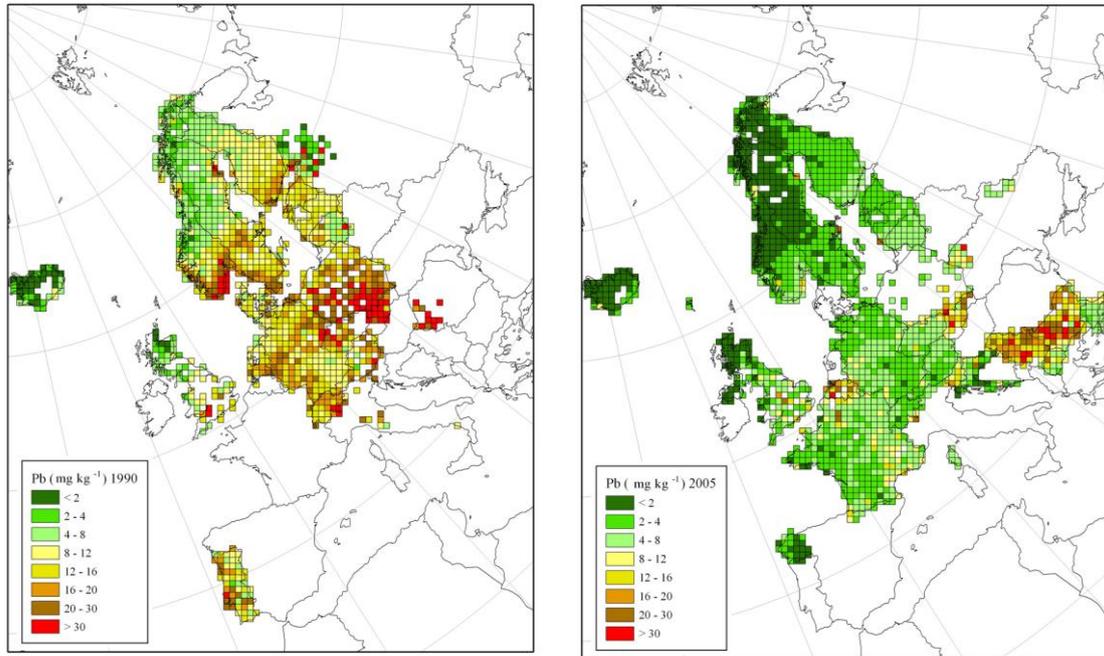


Figure V-2. Concentrations moyennes en plomb dans les mousses européennes en 1990 et 2005 (résolution de 50*50 km) (Harmens *et al.*, 2008a)

Le suivi des métaux lourds et de l'azote dans les mousses par biosurveillance passive a ainsi permis d'évaluer les variations spatiales et temporelles des dépôts de ces composés avec une résolution spatiale élevée et un faible coût (Harmens *et al.*, 2010b ; Harmens *et al.*, 2011c). Des analyses statistiques approfondies ont confirmé que le modèle réalisé par EMEP permet d'avoir une bonne estimation des dépôts de cadmium et de plomb, mais pas de mercure (Holy *et al.*, 2010 ; Schröder *et al.*, 2010b), car ce dernier possède des propriétés chimiques particulières, notamment une tension de vapeur élevée (Harmens *et al.*, 2010b). Contrairement aux métaux lourds non-essentiels tels que le Cd, Pb, et Hg, l'azote est un nutriment des mousses, transféré en permanence depuis les tissus sénescents. Cependant, les teneurs en azote mesurées dans les mousses coïncident bien avec le modèle EMEP (Schröder *et al.*, 2010a). En Suisse, une corrélation significative ($r = 0,954$, $p < 0,001$) a d'ailleurs été observée entre les dépôts totaux d'azote et les teneurs dans les mousses (Harmens *et al.*, 2011c). Les bryophytes permettent donc également d'évaluer les dépôts atmosphériques d'azote avec une résolution spatiale élevée.

Les mousses ont déjà été utilisées pour la biosurveillance des HAP atmosphériques (§ I.2.3.3.). Cependant, les études sont limitées et concernent des échelles spatio-temporelles peu étendues. Afin de valider leur pertinence en tant que bioindicateurs de POP et de dégager des tendances spatiales dans les mousses européennes, une étude pilote a été

proposée en janvier 2010 par le centre de coordination du PIC-Végétation. L'évaluation des teneurs en HAP dans les mousses avec une résolution élevée permettrait d'intégrer la variabilité spatiale intra-pays et de faciliter l'identification des différentes sources d'émission de HAP. Ainsi les contaminations d'origine locale, régionale et transfrontalière pourraient être évaluées et venir renforcer le modèle EMEP. C'est dans ce contexte que se situe le dernier volet de mes travaux de thèse.

Pour soutenir le projet pilote, j'ai tout d'abord réalisé une revue bibliographique intitulée *Mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review* (Harmens *et al.*, 2011a), en collaboration avec Harry Harmens, le coordinateur européen du PIC-Végétation. Ce document est présenté en Annexe XIV. Il a été publié dans le rapport annuel 2010/2011 du PIC-Végétation *Air pollution and vegetation - ICP Vegetation Annual Report 2010/11* (Harmens *et al.*, 2011b). Les échantillonnages associés à l'étude pilote ont été réalisés avec la même résolution que celle adoptée pour les métaux lourds et l'azote. Le protocole utilisé par tous les membres du PIC-Végétation a été adapté pour les POP, étant donné que certains d'entre eux sont volatils et photosensibles. J'ai ainsi participé à la rédaction des amendements au protocole qui apparaissent dans le manuel *Monitoring of atmospheric deposition of heavy metals, nitrogen and POPs in Europe using bryophytes – Monitoring manual – 2010 survey* (ICP-Vegetation, 2010). Ce document est présenté en Annexe XV.

Dans le cadre de mon travail de thèse, afin de limiter le nombre d'échantillons, 3 régions possédant des caractéristiques géomorphologiques, climatiques et d'occupation des sols différentes ont été sélectionnées en Espagne (Navarre), en France (Île-de-France) et en Suisse (Plateau Suisse et région de Bâle). Les teneurs en HAP ont ainsi été déterminées dans les bryophytes provenant de 61 sites européens. Des analyses complémentaires de teneurs élémentaires et isotopiques de carbone et d'azote ont également été effectuées. Dans ce chapitre, les différentes régions étudiées sont présentées dans un premier temps, puis la méthodologie appliquée pour l'échantillonnage et l'analyse des mousses est détaillée, avant de s'intéresser aux résultats obtenus. Une analyse statistique approfondie est réalisée afin de comparer les tendances spatiales avec les données d'occupation des sols et d'étudier l'influence de paramètres environnementaux tels que l'altitude des sites de prélèvement et la pluviométrie annuelle. Enfin, les teneurs en métaux lourds, mesurées par les participants du PIC-Végétation sur les mêmes sites d'étude durant la campagne de 2010, sont associées à nos résultats afin de dégager des tendances communes aux différents polluants.

V.2. Régions d'étude

V.2.1. LA NAVARRE

La Communauté Forale de Navarre (*Comunidad Foral de Navarra* en espagnol, *Nafarroako Foru Erkidegoa/Komunitatea* en basque) est une des 17 communautés autonomes d'Espagne. Elle n'est composée que d'une seule province : la province de Navarre. Elle est bordée au nord par la France (Pyrénées Atlantiques), à l'est par la Communauté autonome d'Aragon, au sud par La Rioja et à l'ouest par la Communauté autonome du Pays Basque (Figure V-3). Sa capitale est Pampelune (*Pamplona*). La région Navarre s'étend sur 10 391 km² avec de grandes disparités géographiques. Au nord, les Pyrénées constituent une zone montagneuse, appelé la Montaña. Au sud s'étend une plaine alluviale, formée par la vallée de l'Ebre et nommée la Ribera. La zone intermédiaire est constituée par un plateau nommé Zona Media (Sola Aleyeto, 1999). L'altitude varie de 18 à 2444 m, avec environ 90% du territoire situé entre 200 et 1000 m.

Le climat est de type océanique dans le nord-ouest, type alpin dans le nord-est et de type méditerranéen dans la zone médiane et le sud (Sola Aleyeto, 1999). La pluviométrie est très faible au sud (< 400 mm.an⁻¹) et élevée dans le nord-ouest (> 2500 mm.an⁻¹) (Figure V-4a). Les températures annuelles moyennes varient selon un gradient inverse, de 7 °C dans le nord-est à 14 °C dans le sud (Figure V-4b).

La Navarre est recouverte à 64% par des forêts (6642 km²). La végétation reflète les disparités géomorphologiques et climatiques. En effet, le nord-ouest de la Navarre est couvert d'une forêt atlantique constituée de feuillus caduques : hêtres (*Fagus sylvatica*), chênes communs (*Quercus robur*) et chênes pubescents (*Quercus pubescens*). La végétation de la région montagneuse dans le nord-est est de type alpine, constituée de résineux : sapins (*Abies*), pins noirs (*Pinus negra*) et pins parasols (*Pinus pinea*). Dans la zone médiane et le sud de la région, une végétation méditerranéenne, constituée majoritairement de feuillus persistants ou semi-persistants, domine : chênes verts (*Quercus Ilex*), chênes fagins (*Quercus Faginea*) et chênes des garrigues (*Quercus Coccifera*). Pour protéger cette riche biodiversité, une superficie de 2182 km² fait partie du réseau Natura 2000 (Sola Aleyeto, 1999).

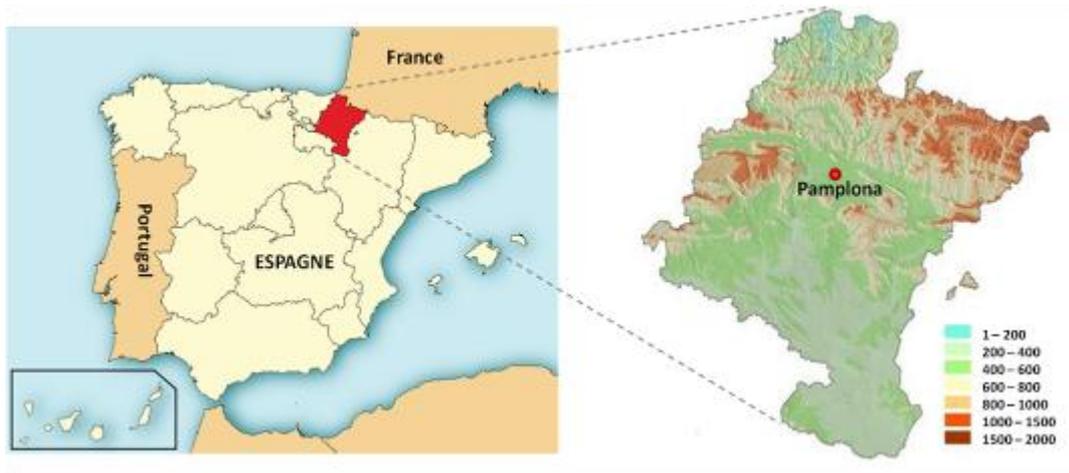


Figure V-3. Localisation de la Navarre en Espagne et carte topographique de la région
 (Source : Gobierno de Navarra - Departamento de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente
<http://www.navarra.es/NR/ronlyres/C34D1897-DFEA-4C88-A952-AE07DC5FFF30/0/Situacionfisica.pdf>)

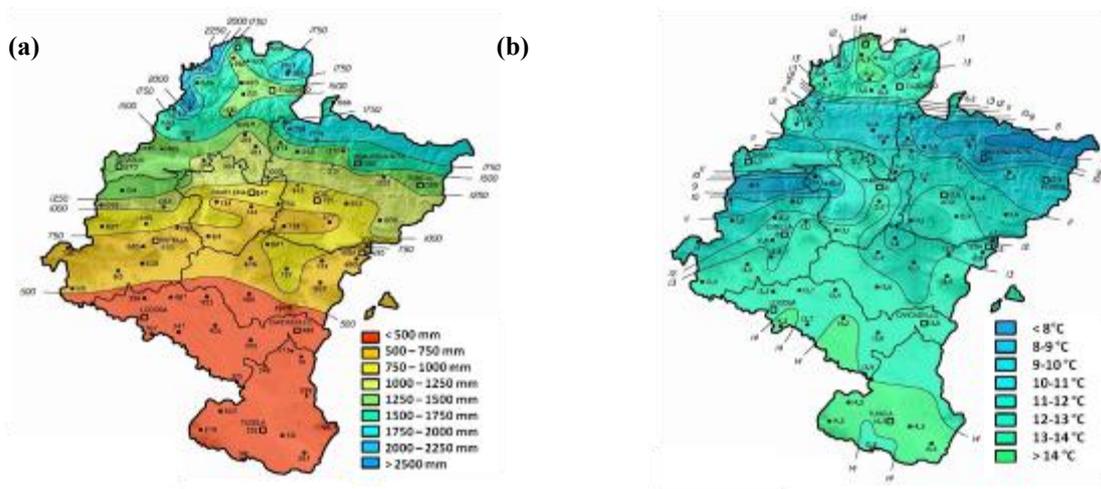


Figure V-4. Précipitations cumulées (a) et températures moyennes (b) du 1/09/2009 au 31/08/2010 en Navarre
 (Source : Gobierno de Navarra - Departamento de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente
<http://www.navarra.es/NR/ronlyres/C34D1897-DFEA-4C88-A952-AE07DC5FFF30/0/Situacionfisica.pdf>)

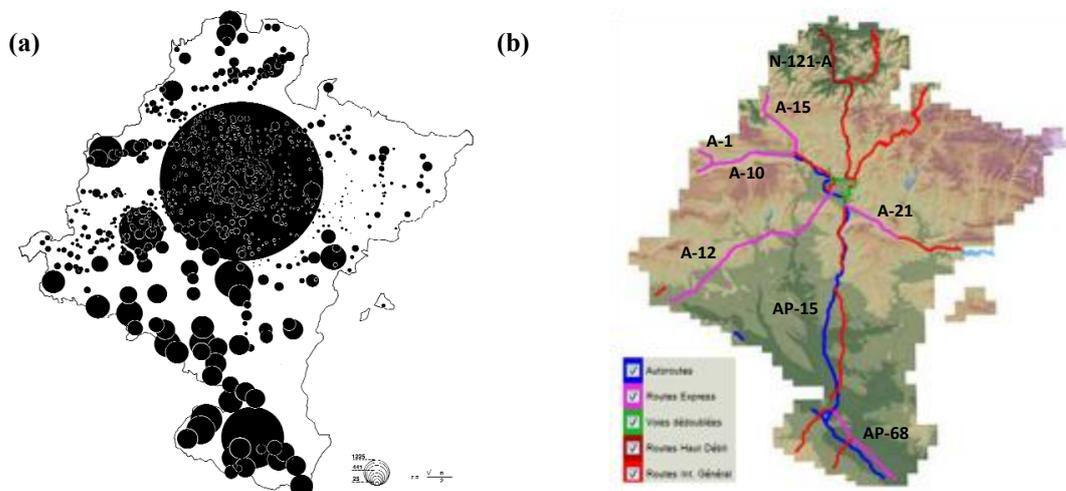


Figure V-5. (a) Densité de population en Navarre en 1999 (Sola Aleyeto, 1999) ; (b) Réseau routier de Navarre en 2012 (Source : Sistema de Información Territorial de Navarra, www.sitna.navarra.es)

En 2011, la population de la Navarre était de 642 051 habitants (soit ~ 67 hab.km⁻²) (IEN, 2011). Sa répartition est très irrégulière avec des densités variant de moins de 1 hab.km⁻² dans les zones montagneuses à plus de 5000 hab.km⁻² dans la capitale (Pampelune) dont l'agglomération regroupe 54% de la population de la Navarre (Figure V-5a). Les activités économiques principales sont l'agriculture (culture céréalières, fourragères et maraîchères, vignobles, élevage ovin, porcin et bovin et exploitation forestière), l'industrie (construction automobile, agro-alimentaire, métallurgie, bois/papier et matériel électrique/électronique) et les services (Sola Aleyeto, 1999).

Deux axes de communication routière majeurs traversent la Navarre (Figure V-5b) : dans la vallée de l'Ebre, l'autoroute AP-68 qui relie le nord-ouest et le centre de l'Espagne, et du sud au nord *via* Pampelune, les autoroutes AP-15, A-12, A-15 et A-10 et la route nationale à haut débit N-121-A, qui relie le centre de l'Espagne au Pays Basque et à la France.

V.4.2. LA SUISSE

La Confédération suisse est entourée par l'Allemagne, la France, l'Italie, l'Autriche et le Liechtenstein (Figure V-6a). La superficie totale du pays est de 41 285 km² (OFS, 2006). Trois grands ensembles géographiques constituent la Suisse : deux régions montagneuses, le Jura au Nord (245-1445 m) et les Alpes au Sud (193-4634 m), et une zone déprimée entre ces formations orogéniques d'altitude moyenne comprise entre 350 et 600 m, nommé *Mittelland*, Moyen Pays ou « Plateau Suisse » (Figure V-6b et Figure V-6c).

Le relief du pays marque le climat. Ainsi, ce dernier est de type continental au niveau du Plateau et du Jura, alpin dans les Alpes et méditerranéen dans le canton du Tessin (extrémité sud). Les températures moyennes annuelles varient donc fortement selon la localisation géographique : de -9 °C à 14 °C (Figure V-7a). De même, la pluviométrie moyenne varie de 0 à plus de 3000 mm.an⁻¹ (Figure V-7b). La présence des Alpes est à l'origine des températures les plus faibles et des précipitations les plus fortes. Le Plateau Suisse et la région de Bâle sont caractérisés par des températures moyennes de 4-14°C et une pluviométrie située entre 500 et 1300 mm.an⁻¹.

La Suisse est recouverte par environ 12 700 km² de forêts, soit 31% du territoire (OFS, 2006). Ces dernières sont formées de résineux ou de feuillus, et souvent mixtes (Annexe IV).

Dans les Alpes, la végétation est étagée et la forêt est composée essentiellement de sapins (*Abies*) et d'épicéas (*Picea*). Dans le Jura, les forêts de hêtres (*Fagus sylvatica*) sont nombreuses, tandis que dans le Tessin, au climat plus doux, les châtaigniers (*Castanea sativa*) dominent. Sur le Plateau, les forêts sont généralement mixtes, avec plus ou moins de hêtres et de conifères en fonction de la proximité avec les Alpes et le Jura (OFS, 2001).

En 2009, la Suisse était occupée par 7 785 806 habitants, soit une densité moyenne de 195 hab.km⁻². De fortes variations démographiques existent entre les cantons : de 27 à 5078 hab.km⁻² pour Graubünden (sud-est) et la ville de Bâle respectivement (Figure V-8a). La Suisse possède 5 agglomérations de plus de 300 000 habitants. Zürich est la ville la plus peuplée (1 154 539 habitants en 2009) et est la capitale économique du pays. Viennent ensuite les agglomérations de Genève et Bâle (513 188 et 494 299 habitants en 2009 respectivement), qui se développent au-delà de la frontière française et allemande respectivement. Berne, la capitale fédérale, et Lausanne, sont également des agglomérations importantes (348 739 et 324 387 habitants en 2009 respectivement). Huit autres agglomérations comptent plus de 100 000 habitants (OFS, 2011). Le Plateau, avec une densité moyenne de 450 hab.km⁻², concentre plus des deux tiers de la population du pays. C'est la zone agricole majeure, avec pour certaines communes jusqu'à plus de 75% d'occupation des sols (Annexe V). Les activités principales sont la culture des céréales, de la betterave sucrière, du tabac et les vergers. Cette région concentre également l'activité industrielle du pays. Les communes très industrielles (> 1,2% d'occupation des sols) sont nombreuses notamment au niveau des agglomérations de Zürich et de Bâle. Les activités industrielles principales sont la fabrication de produits électroniques et informatiques, l'horlogerie, la métallurgie, le bois/papier, l'agro-alimentaire et les industries chimiques et pharmaceutiques. La région de Bâle est notamment spécialisée dans la production chimique et pharmaceutique (OFS, 2010a). La dynamique économique de la région a eu comme conséquence une forte urbanisation. Il y a quatre aires métropolitaines autour de Zürich, Bâle, Genève-Lausanne et Berne. Dans ces régions, les communes sont urbanisées à plus de 20% de leur superficie (OFS, 2006).

Les axes de communication majeurs se situent également dans la région du Plateau (Figure V-8b). Véritables colonnes vertébrales du pays, les autoroutes A1 (axe ouest-est) et A2 (axe nord-sud) sont parcourues par jusqu'à 60 millions d'automobiles par an, soit environ 165 000 véhicules par jour. A cela, il faut rajouter le transport de marchandises qui est de l'ordre de 20 millions de tonnes par an sur ces axes (OFS, 2010b).

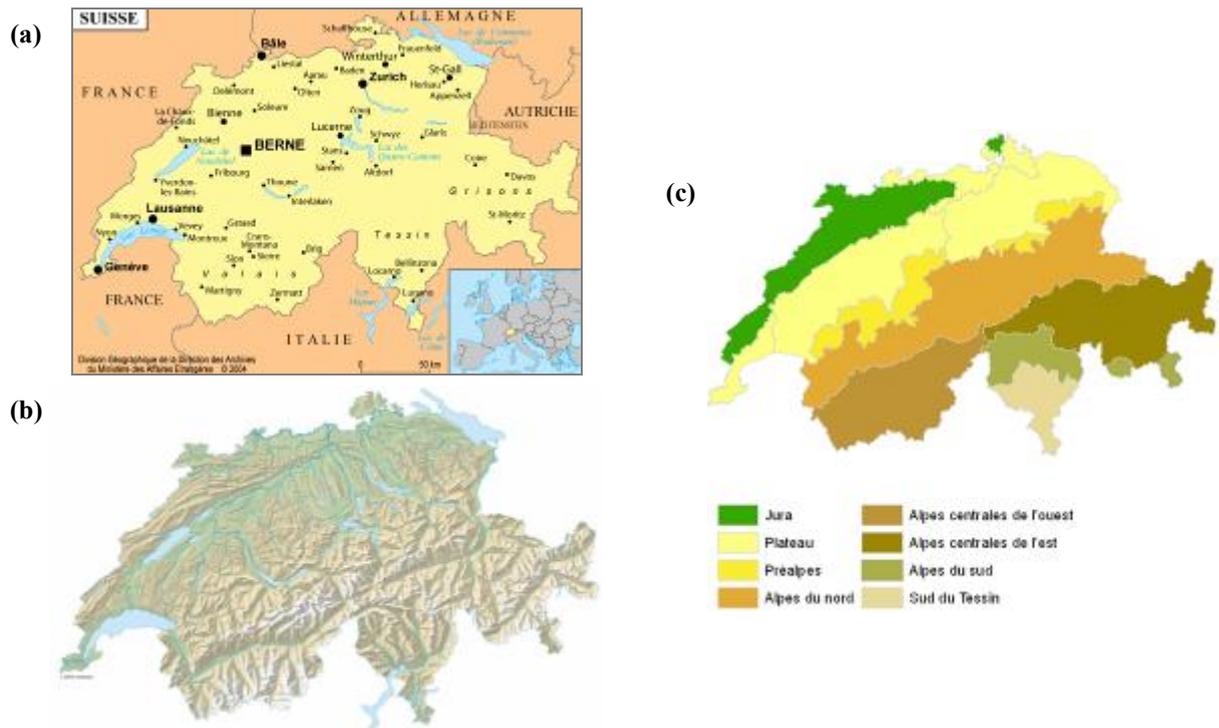


Figure V-6. (a) La Suisse et ses agglomérations principales (Source : <http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/pays-zones-geo/suisse/>); (b) Topographie de la Suisse ; (c) Grandes régions géologiques de Suisse (Source : Office fédéral de topographie suisse, <http://www.swisstopo.admin.ch/internet/swisstopo/fr/home.html>)

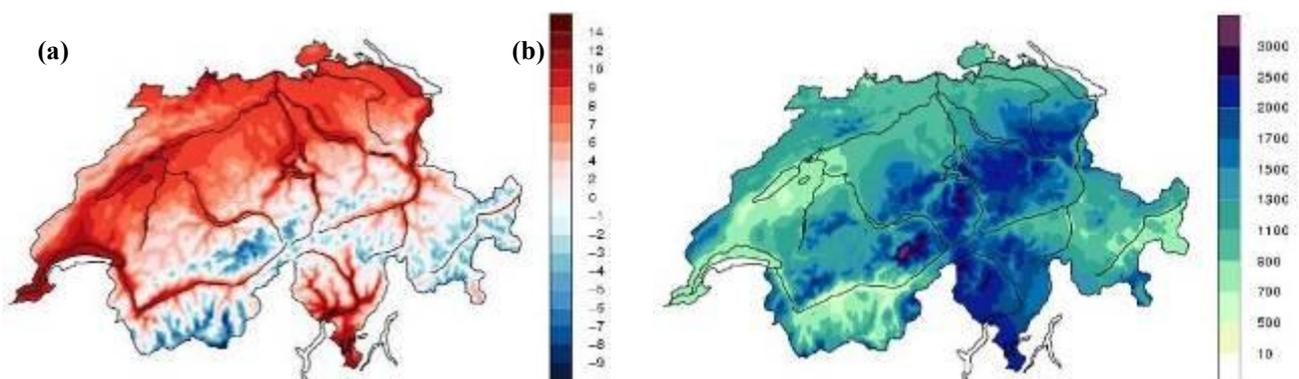


Figure V-7. Températures moyennes en °C (a) et pluviométrie annuelle en mm (b) mesurées en 2010 en Suisse (Source : Office fédéral de météorologie de Suisse, <http://www.meteoschweiz.admin.ch/web/fr/climat.html>)

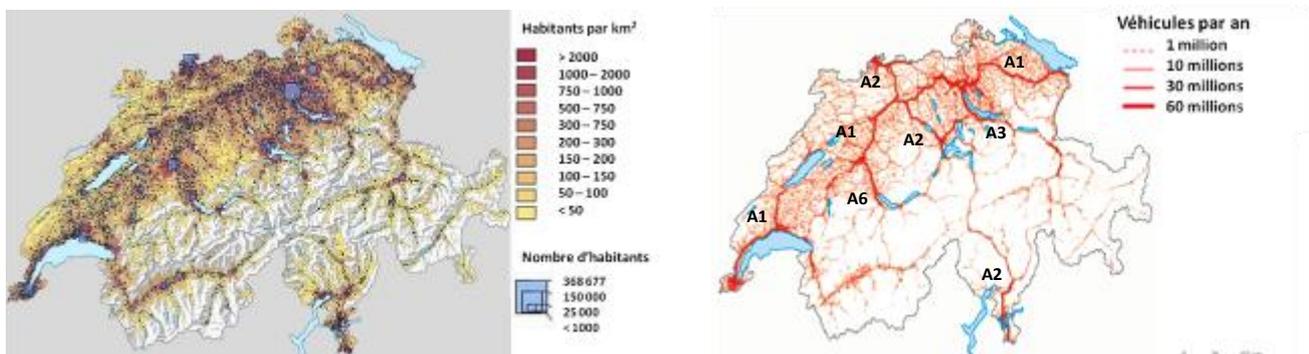


Figure V-8. (a) Densité de population en Suisse et population des villes ; (b) Densité du trafic automobile en Suisse en 2005 (Source : Office fédéral de la statistique, <http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index.html>)

V.2.3. L'ÎLE-DE-FRANCE

L'Île-de-France est une région du nord de la France au sein de laquelle se trouve Paris, la capitale du pays (Figure V-9). Sa superficie est de 12 070 km², soit 2,2% de celle de la France Métropolitaine (INSEE, 2010a). Elle est constituée de 8 départements :

- le département de Paris (75) entouré par la « petite couronne » : Hauts-de-Seine (92), Seine-Saint-Denis (93) et Val-de-Marne (94).
- les départements limitrophes constituant la « grande couronne » : Seine-et-Marne (77), Yvelines (78), Essonne (91) et Val-d'Oise (95).

La géographie de l'Île-de-France est marquée par sa situation au centre d'un bassin sédimentaire, le bassin parisien, au relief relativement plat. Ainsi, les altitudes varient seulement de 11 à 221 m (IGN, 2012).

Le climat est de type océanique dégradé. La température annuelle moyenne est de 10 °C et la pluviométrie moyenne de 600 mm.an⁻¹ (Figure V-10).

La végétation est de type atlantique avec des forêts de feuillus constituées essentiellement de chênes communs (*Quercus robur*), charmes communs (*Carpinus betulus*), hêtres communs (*Fagus sylvatica*) et châtaigniers européens (*Castanea sativa*). La superficie de sol boisée est de 3 097 km², soit 25,7% de la région (INSEE, 2010a). Des surfaces boisées (parcs, bois, forêts domaniales ou privées) sont présentes dans les 8 départements (Figure V-11a). Parmi les plus importantes forêts de la région, on peut citer celles de Fontainebleau, Rambouillet, Montmorency, Saint-Germain-en-Laye et Sénart.

La population compte 11 728 240 habitants, soit une densité importante de 972 hab.km⁻². Ainsi, la région Île-de-France regroupe environ 19% de la population de France Métropolitaine sur 2,2% de sa surface (INSEE, 2009a). La population est fortement centralisée sur l'agglomération parisienne, qui s'étend sur 20% de la surface régionale mais où habite 88% de sa population (INSEE, 2010a). L'aire urbaine de Paris (qui correspond à la notion de bassin d'emploi) recouvre quant à elle la quasi-totalité de la superficie (Figure V-11a).

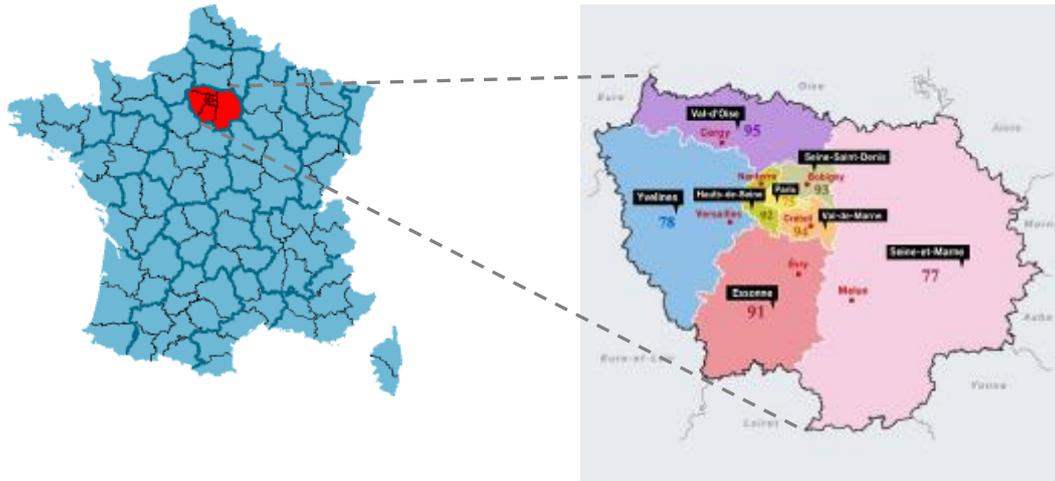


Figure V-9. Localisation de l'Île-de-France et des départements de la région (avec leurs préfécures) (Source : Portail du Conseil Régional de l'Île-de-France www.iledefrance.fr)

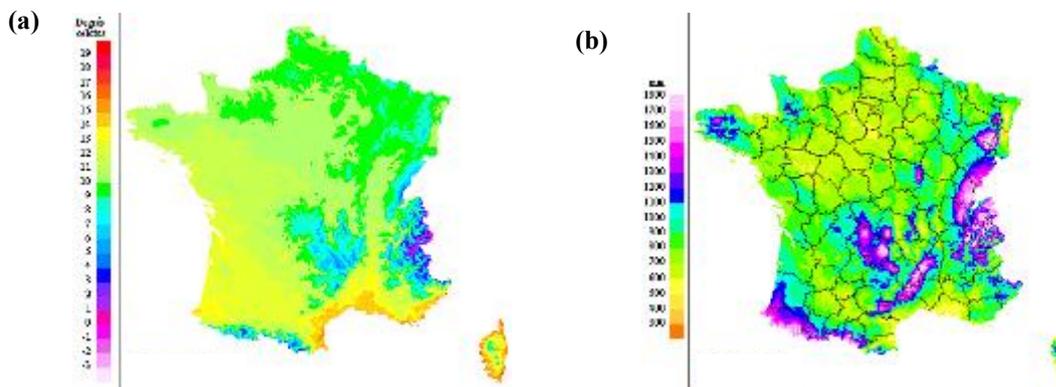


Figure V-10. Températures annuelles moyennes (a) et pluviométrie cumulée moyenne (b) en France évaluées sur la période 1961-1990 (Source : MétéoFrance)

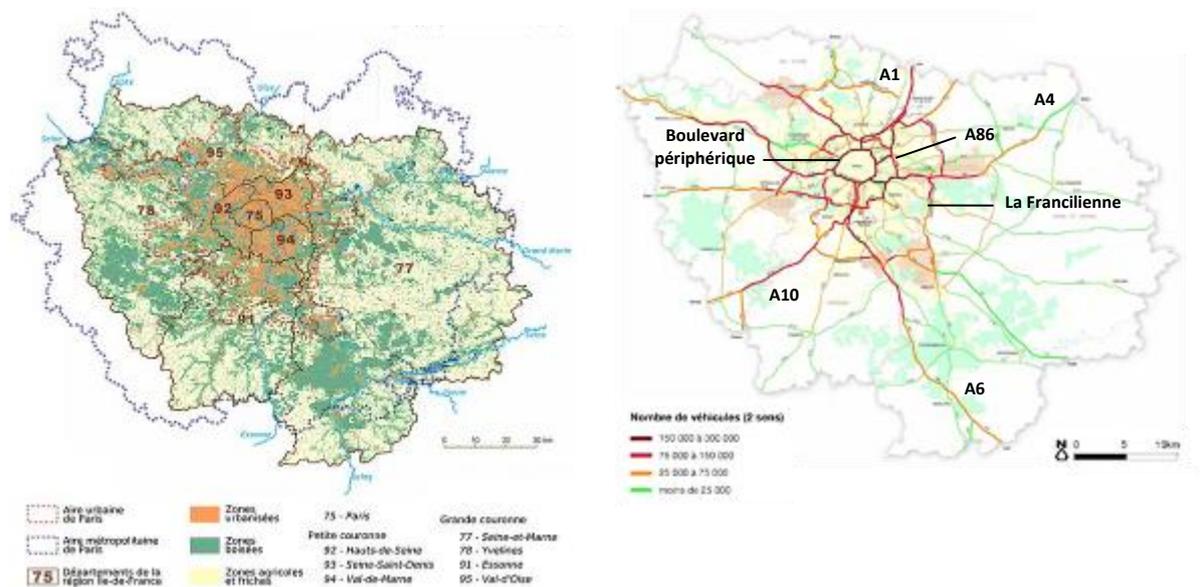


Figure V-11. (a) Occupation des sols en Île-de-France en 1999 (Source : INSEE) ; (b) Réseau routier d'Île-de-France – Trafics journaliers moyens en 2002-2003 (IAU, 2005)

Malgré sa forte urbanisation, l'Île-de-France est recouverte par de grandes surfaces agricoles occupant 47% du territoire (INSEE, 2010a) (Figure V-11a). L'activité agricole principale est la culture céréalière, qui occupe 66% des terres arables. Les activités secondaires sont la culture d'oléagineux, de protéagineux, la culture maraîchère et l'horticulture (INSEE, 2009b). La région a subi une forte désindustrialisation depuis 20 ans, mais elle conserve une industrie dynamique, concentrant 15% de l'industrie française. Les principaux secteurs sont l'industrie textile, l'agro-alimentaire, le bois/papier, la production d'énergie, la métallurgie, les industries manufacturières (aéronautique, automobile...), la gestion de l'eau et des déchets et l'industrie chimique (INSEE, 2010b). Toutefois, les services demeurent l'activité économique majeure de la région.

L'agglomération parisienne est alimentée par un réseau routier dense, constitué de 800 km d'autoroutes radiales et concentriques (Figure V-11b). Ces infrastructures présentent des débits élevés, pouvant aller jusqu'à 300 000 véhicules par jour, en particulier le boulevard périphérique et les sections d'autoroutes radiales qui assurent un important trafic national ou international se superposant aux flux générés par de grands pôles urbains de banlieue (IAU, 2005).

V.2.4. COMPARAISON DES RÉGIONS D'ÉTUDE

Les trois régions étudiées possèdent des caractéristiques géomorphologiques et climatiques différentes (Tableau V-1). En effet, le nord de la Navarre est montagneux, tandis que le *Mittelland* est formé par un plateau entre deux chaînes de montagnes et l'Île-de-France par une plaine de bassin sédimentaire. D'autre part, le nord de la Navarre est très humide, du fait de la proximité de l'Océan Atlantique. Le Plateau Suisse est également humide, malgré un climat continental, à cause de la présence des Alpes dont les versants stoppent les fronts pluvieux. Cette région connaît toutefois une pluviométrie moyenne plus faible que la Navarre. L'Île-de-France, quant à elle, est une région tempérée avec une pluviométrie moyenne relativement basse par rapport aux deux autres régions étudiées. Il en résulte une végétation différente, constituée de feuillus caduques au nord-ouest de la Navarre et en Île-de-France (forêts atlantiques), de résineux au nord-est de la Navarre et parfois en Suisse (forêts alpines) et de forêts mixtes sur le Plateau Suisse, située à la frontière entre deux zones bioclimatiques.

La présence humaine est également différente dans les trois régions. En effet, la densité moyenne de population est 10 fois moins élevée en Navarre qu'en Île-de-France et 5 fois moins élevée que sur le Plateau Suisse. La moitié des habitants de la Navarre est concentrée à Pampelune, pôle urbain et industriel. À l'exception de quelques zones industrielles situées à la frontière avec le pays Basque dans l'ouest et le nord-ouest de la région, le reste de la Navarre est constitué de forêts ou de pâturages pour l'élevage. Les principaux axes routiers se dirigent de Pampelune vers l'ouest (Pays Basque) et le nord-ouest (France). Le Plateau Suisse quant à lui est une mosaïque de zones urbaines, avec une activité industrielle importante, séparées par des zones de culture intensive. Il est parcouru par des artères autoroutières au trafic très dense, notamment entre les grandes métropoles : Berne, Bâle et Zürich. L'Île-de-France est une région encore plus urbanisée que le Plateau Suisse. Relativement industrialisée, elle est centralisée sur la ville de Paris, dont l'agglomération rassemble la majorité de la population de la région. La périphérie de la région est constituée de forêts et de vastes zones agricoles de culture intensive. Les autoroutes forment des axes radiaux et concentriques au niveau de l'agglomération parisienne. La densité du trafic est croissante lorsque l'on s'approche du centre de cette dernière.

Tableau V-1. Caractéristiques géographiques des trois régions étudiées : le nord de la Navarre, le Plateau Suisse avec la région de Bâle ainsi que l'Île-de-France

Région	Topographie	Climat *	Végétation	Population & activités humaines
Nord de la Navarre ESPAGNE	Région montagneuse (18 – 1444 m)	Nord-ouest : océanique Nord-est : montagnoux Zone médiane : méditerranéen T : 7 – 14 °C pl : 500 – 2500 mm	Nord-ouest : feuillus caduques Nord-est : résineux Zone médiane : feuillus persistants	Densité moyenne : 97 hab.km ⁻² Région rurale de forêts et d'élevage Zone urbaine et industrielle à Pampelune Zones industrielles vers le Pays Basque
Plateau Suisse & Région de Bâle SUISSE	Plateau (~350 - 700 m)	Continental T : 4 – 14 °C pl : 500 – 1300 mm	Forêts mixtes de feuillus caduques et de résineux	Densité moyenne : 450 hab.km ⁻² Région urbanisée Agriculture intensive (céréalière) Forte activité industrielle Bâle : pôle d'industrie chimique
Île-de-France FRANCE	Plaine (11 – 221 m)	Océanique Peu humide (< 1000 mm.an ⁻¹) T : 10 °C pl : 600 mm.an ⁻¹	Forêts de feuillus caduques	Densité moyenne : 972 hab.km ⁻² Région urbanisée Agriculture intensive (céréalière) Activité industrielle assez importante

* T : température moyenne annuelle ; pl : pluviométrie annuelle moyenne (données de 2009/2010).

V.3. Méthodologie

V.3.1. ÉCHANTILLONNAGE DES MOUSSES

Les échantillons de mousses ont été prélevés sur 61 sites répartis dans 3 régions européennes (Figure V-12) :

- en Espagne : le nord de la Communauté forale de Navarre,
- en France : la région Île-de-France,
- en Suisse : le Plateau Suisse (*Mitteland*) et la région de Bâle (*Basel*).

Ils ont été choisis de manière telle à avoir un site d'échantillonnage par maille de 666 km². Ainsi, notre étude nous permet de couvrir 40 000 km², soit 4 millions d'hectares. L'ensemble des sites sont localisés en zones non-urbaines, à plus de 300 m des routes principales et des zones habitées, et à plus de 100 m des routes secondaires et des maisons isolées. Les noms et coordonnées géographiques de l'ensemble des sites sont répertoriés en Annexe VI. Les prélèvements ont été réalisés en Espagne par Jesús Miguel Santamaría du LICA, en France par Sébastien Leblond du Muséum National d'Histoire Naturelle et en Suisse par Lötli Thöni du FUB. Ces collègues participent au programme PIC-Végétation depuis de nombreuses années, dans le cadre de la détermination des teneurs en métaux lourds et en azote dans les mousses (Harmens *et al.*, 2010b ; Harmens *et al.*, 2011c). Le protocole d'échantillonnage suivi par tous les collaborateurs est répertorié dans le manuel du programme PIC-Végétation évoqué précédemment (ICP-Vegetation, 2010). Il est à noter que l'un des sites d'échantillonnage en Navarre (site 2) est localisé dans le Parc Naturel de Bertiz, évoqué dans les Chapitres III et IV.

Les prélèvements ont été réalisés lors de la campagne d'échantillonnage de 2010 du programme PIC-Végétation :

- du 18/08/2010 au 18/10/2010 en Suisse,
- du 28/09/2010 au 16/10/2010 en Navarre,
- du 4/10/2010 au 10/10/2010 en Île-de-France.

Les dates de prélèvement de chaque site d'échantillonnage sont répertoriées en Annexe VI.

(c)

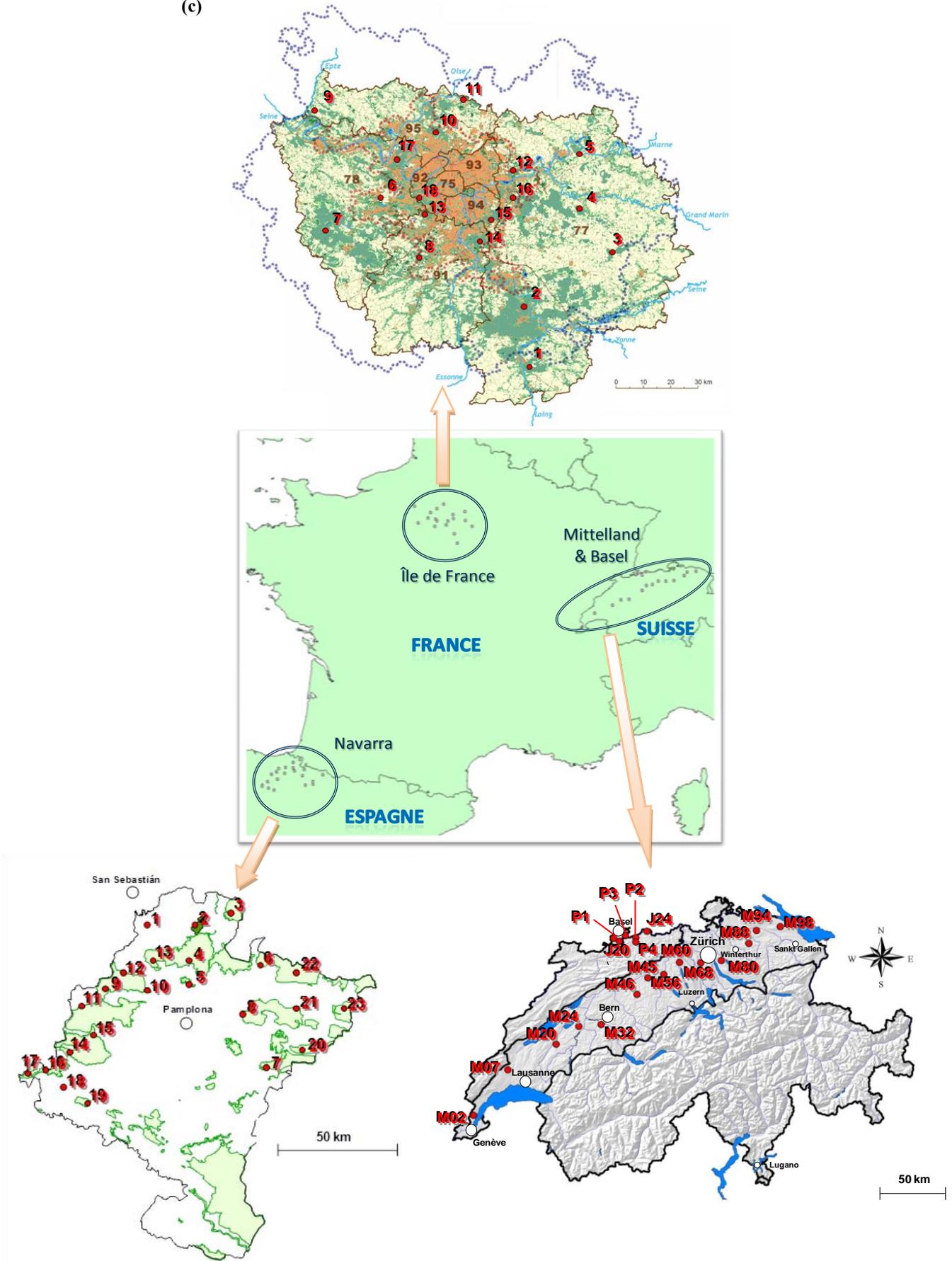


Figure V-12. Localisation des 61 sites de prélèvement de mousses en Europe

L'espèce commune la plus répandue dans les trois régions étant *Hypnum cupressiforme* (Figure V-13), cette dernière a été choisie pour l'étude. L'habitat de cette mousse est de type forestier, où elle croît sur tous les supports : souches, troncs d'arbres, sol et rochers. L'échantillonnage a donc été réalisé sous la canopée forestière, composée essentiellement de feuillus en Espagne et en France, et de forêts mixtes en Suisse. Afin de prélever les mousses sur des surfaces horizontales et afin de minimiser une possible contamination par le sol, elles ont été collectées exclusivement sur du bois mort (souches, troncs et branches). La pente des points de prélèvement était inférieure à 5°. Afin d'intégrer la variabilité spatiale sur le site d'échantillonnage, chaque échantillon est constitué de 5 à 10 sous-échantillons prélevés de manière aléatoire sur une surface de 50 x 50 m : on parle d'échantillon composite. Les sous-échantillons sont placés côte à côte dans des sachets en polyéthylène de 1 L. Afin de préparer des échantillons de 2 g (en masse sèche), des surfaces de 0,04 m² ont été prélevées, soit l'équivalent d'un carré de 20 cm de côtés. En Île-de-France, 3 échantillons de ce type ont été prélevés sur 10 sites afin de déterminer la variabilité liée à l'échantillonnage.

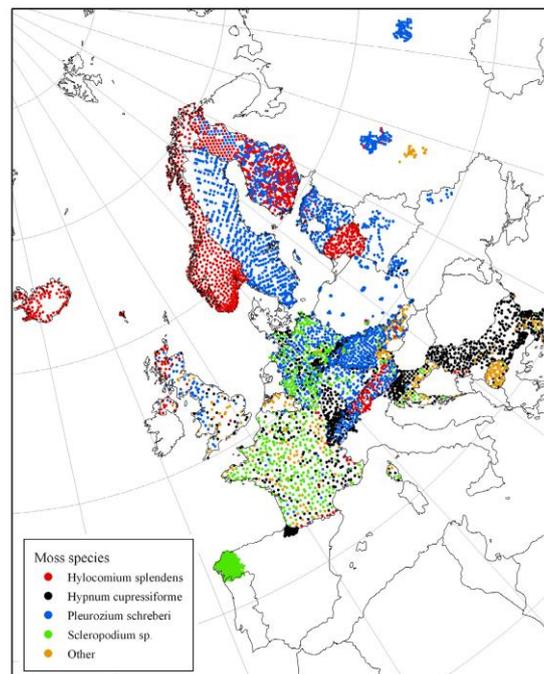


Figure V-13. Espèces de mousses prélevées en Europe dans le cadre du PIC-Végétation (Harmens *et al.*, 2008a)

Les échantillons ont été transportés des sites d'échantillonnage aux laboratoires de nos collaborateurs dans des glacières (à l'obscurité et à 4 °C). Ils ont ensuite été congelés à -20 °C. Lorsque l'échantillonnage de tous les sites a été effectué, les mousses ont été transférées en moins de 24 h au Laboratoire de Chimie Agro-industrielle de Toulouse dans des colis en polystyrène contenant de la glace.

V.3.2. ANALYSES

La procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses a été réalisée suivant le protocole mis au point au laboratoire et présenté dans le Chapitre II. La [Figure V-14](#) résume les différentes étapes de cette procédure : prétraitement, extraction par PLE, concentration, purification sur cartouches de SPE, traitement final et analyse par CLHP-FLD. Les descriptifs des appareils utilisés et le détail des conditions opératoires ont été présentés dans le Chapitre II.

Le Chapitre III a montré l'intérêt du traçage isotopique dans l'identification des sources historiques de polluants autour du Parc Naturel de Bertiz en Navarre. Les mousses européennes ont également été soumises à des analyses élémentaires et isotopiques de carbone et d'azote. Ces analyses ont été réalisées par nos soins au sein du laboratoire « Biogéochimie et écologie des milieux continentaux » (Bioemco) – UMR 7618, situé à l'Université Pierre et Marie Curie – Paris VI, en collaboration avec l'équipe du Dr. Mathieu Sebilo.

Après préparation des mousses au Laboratoire de Chimie Agro-industrielle à Toulouse (prélèvement de la partie verte apicale, lyophilisation et broyage), une masse de 20 à 100 mg de chaque échantillon a été conservée à température ambiante dans des tubes en plastique (Eppendorf Safe Lock Tubes) ([Figure V-15](#)). Les tubes ont ensuite été transportés à Bioemco à Paris dans des enveloppes en papier.

Afin de réaliser les analyses, on doit au préalable préparer 6-7 mg d'échantillon dans des nacelles en étain de 5x9mm (SAINTS Analytical). Pour cela, on utilise une balance micrométrique, dont la précision est de 0,001 mg pour des échantillons de masse inférieure à 0,5 g ([Figure V-16a](#)). Les nacelles sont préparées sur un miroir à l'aide de pinces en acier inoxydable aux extrémités arrondies. L'échantillon est prélevé avec une spatule de très petite taille en acier inoxydable ([Figure V-16b](#)). L'ensemble du matériel est nettoyé avec de l'éthanol avant la préparation de chaque échantillon. Les nacelles contenant les échantillons sont déposées dans des plaquettes en plastique de 96 positions (8*12), refermée avec un couvercle. Ces plaquettes sont utilisées à l'état neuf afin de ne pas contaminer les échantillons ([Figure V-16c](#)).

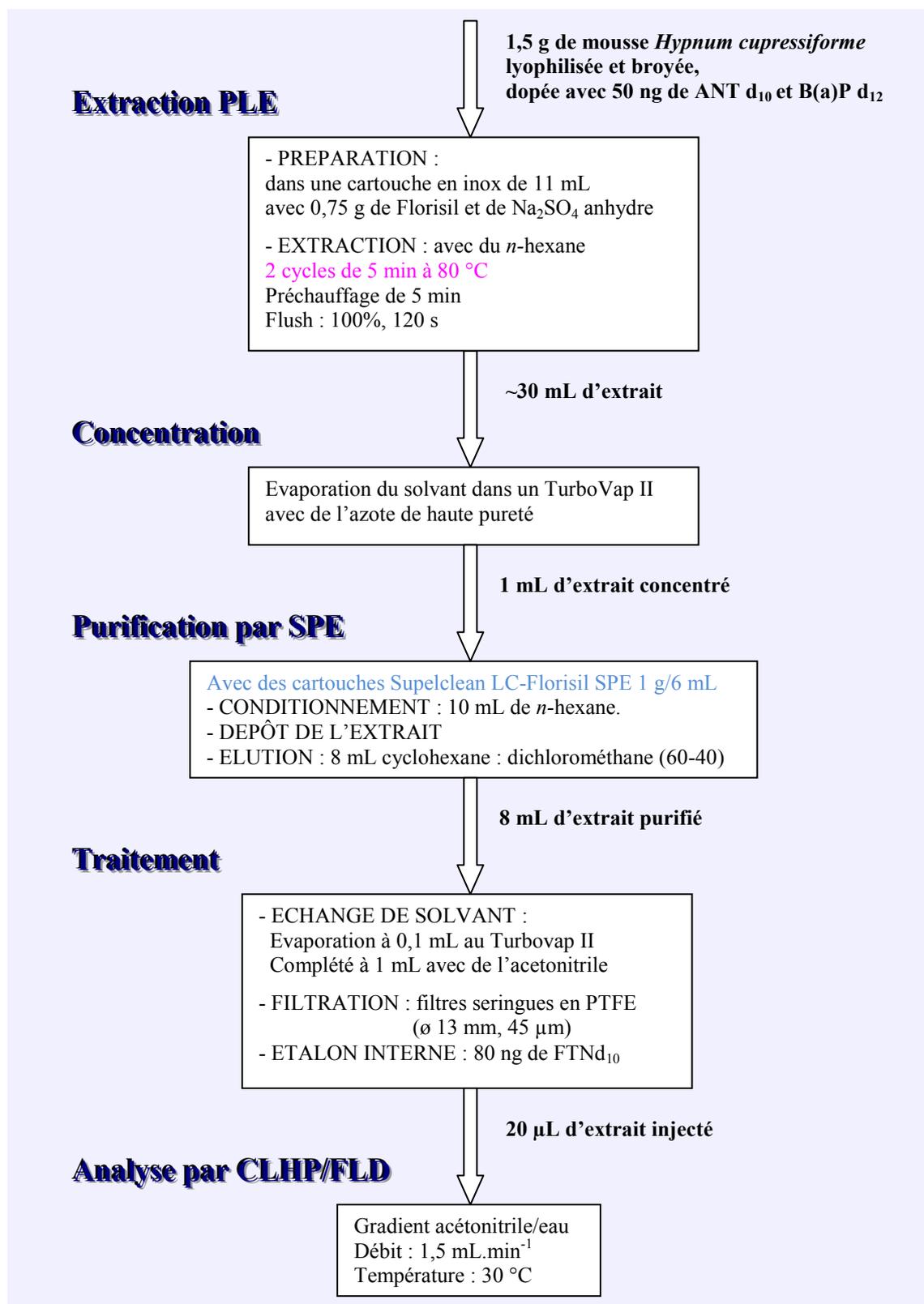


Figure V-14. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses européennes
En rose : les paramètres optimaux d'extraction par PLE (§ II.2.3.2.) ; *En bleu* : choix de la cartouche SPE la plus performante parmi 4 SPE en phase normale (§ II.2.3.3.).



Figure V-15. Echantillon de mousse *Hypnum cupressiforme* lyophilisé et broyé ($\phi < 50 \mu\text{m}$) destiné à l'analyse élémentaire et isotopique du carbone et de l'azote



Figure V-16. (a) Balance micrométrique utilisée pour peser les nacelles d'échantillon, (b) Matériel utilisé pour préparer les nacelles : miroir, pincettes et spatule en acier inoxydable, (c) Plaquette contenant les échantillons pour prêts pour l'analyse

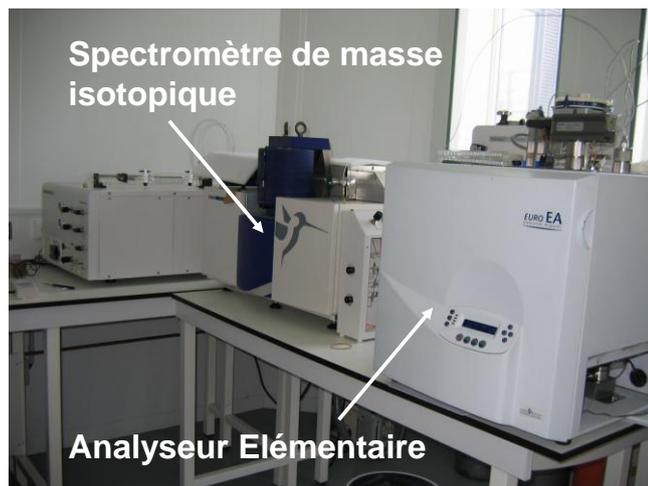


Figure V-17. Dispositif utilisé au laboratoire Bioemco (Paris) pour analyser les teneurs élémentaires en N,C et les rapports isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$

Le dispositif utilisé pour les analyses de C et N est présenté dans la [Figure V-17](#). Les teneurs des mousses en C et N (% , masse sèche) ont été déterminées par analyse élémentaire (EA3000, Eurovector, Italie) avec une précision analytique de 0,1%. Les isotopes stables de C et N ont été mesurés à l'aide d'un spectromètre de masse isotopique (Isoprime Micromass, Royaume-Uni) opérant en flux continu. L'étalonnage est réalisé avec des étalons internationaux validés par des comparaisons inter-laboratoires menées par l'AIEA : Pee Dee Belemnite (PDB) pour le carbone et N₂ atmosphérique pour l'azote. Les données isotopiques sont présentées avec des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$, qui représentent des différences relatives en pour mille (‰) entre les compositions isotopiques de l'échantillon et de l'étalon :

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Eq. V-1}$$

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Eq. V-2}$$

avec $R_{\text{échantillon}}$ et $R_{\text{étalon}}$ le rapport isotopique ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) ou ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) dans l'échantillon et l'étalon.

La précision analytique est de $\pm 0,1\text{‰}$ pour $\delta^{13}\text{C}$ et $\pm 0,2\text{‰}$ pour $\delta^{15}\text{N}$.

Un étalonnage externe est réalisé avec de la tyrosine par préparation de nacelles contenant 0,3 mg, 0,6 mg, 0,9 mg et 1,5 mg de cet acide aminé. L'étalonnage est renouvelé pour chaque nouvelle plaquette. Il est vérifié toutes les 5 analyses avec 1,5 mg de tyrosine.

Des dupliquas d'analyse ont été réalisés pour l'ensemble des échantillons de mousses. La reproductibilité de l'analyse a été évaluée à partir de 10 analyses d'un échantillon homogène de mousse de Suisse (prélevé sur le site M2). L'incertitude a été calculée avec la relation suivante (Konieczka et Namiesnik, 2010) :

$$\text{Incertitude} = \frac{t * s}{\sqrt{n}} \quad \text{Eq. V-3}$$

avec t : le coefficient de Student ($P = 0,05$), s : l'écart-type et n : le nombre d'analyses

La reproductibilité s'est avérée très satisfaisante, avec une incertitude relative de 0,5% et 1,0% pour les teneurs en carbone et en azote respectivement, et de 0,1% et 1,8% pour $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ respectivement.

V.3.3. VARIABILITE DE L'ÉCHANTILLONNAGE

En Île-de-France, 3 échantillons composites ont été prélevés sur 10 sites afin d'étudier la variabilité liée à l'échantillonnage. Les concentrations individuelles en HAP ont été déterminées avec une variabilité maximale de 16% à 25%, pour le benzo(k)fluoranthène et le pyrène respectivement (intervalle de confiance de 95%). La teneur totale des 13 HAP a été mesurée avec une variabilité maximale de 20% (intervalle de confiance de 95%). Pour ce qui est des analyses élémentaires et isotopiques, les teneurs des mousses en carbone et azote ont été déterminées avec des incertitudes maximales respectives de 4% et 11% et les rapports $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ avec des incertitudes respectives de 2% et 15% (intervalle de confiance de 95%). Une analyse de la variance (ANOVA) a montré que les teneurs en HAP, C et N ainsi que les rapports $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ mesurés dans les mousses présentent des différences significativement plus importantes entre les sites de prélèvement qu'entre échantillons du même site ($p < 0,0001$). L'échantillonnage composite avec 5 à 10 sous-échantillons intègre donc bien la variabilité spatiale du site de prélèvement.

V.4. Résultats et discussion

V.4.1. DISTRIBUTION DES CONTAMINANTS EN NAVARRE

V.4.1.1. Teneurs en HAP dans les mousses de Navarre

Les 13 HAP recherchés ont été quantifiés pour toutes les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées en Navarre, à l'exception de l'échantillon du site 23 pour lequel un incident technique a induit la perte de l'échantillon dans son intégralité. Les concentrations des 13 HAP et la concentration totale mesurée ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) sont données dans le [Tableau V-2](#). Les teneurs totales mesurées varient de 100 à 356 ng.g⁻¹ (MS), la moyenne étant de 182 ng.g⁻¹ (MS). Ces concentrations concordent avec celles que nous avons mesurées précédemment dans *Hypnum cupressiforme* en Navarre. En effet, les mousses prélevées en 2006-2007 à Bertiz, pour réaliser l'étude des dépôts historiques de HAP, ont montré des concentrations totales pour les 13 HAP étudiées de 133 ng.g⁻¹ (Chapitre III). De plus, les mousses prélevées en juin 2010 à San Miguel de Aralar, site reculé situé à une dizaine de kilomètres des sites 9, 10 et 12, ont révélé des teneurs moyennes de 130 ng.g⁻¹ (Chapitre IV). Des études menées sur des mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées sur des sites ruraux d'Europe ont également montré les mêmes ordres de grandeur qu'en Navarre. En 2005, dans la réserve naturelle de Wienerwald en Autriche, située à proximité de Vienne, des teneurs totales de 107 à 640 ng.g⁻¹ ont été mesurées pour les 13 HAP étudiés (Krommer *et al.*, 2007). Enfin, à l'observatoire de Kosetice en République Tchèque, des teneurs de 47 à 112 ng.g⁻¹ ont été mesurées en 2006 pour les 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA (Holoubek *et al.*, 2007b).

Les teneurs individuelles mesurées dans les mousses de Navarre varient de 0,5 à 135,7 ng.g⁻¹ respectivement pour le dibenzo(a,h)anthracène (sites 7 et 21) et le pyrène (site 8). Les composés majoritaires sont le fluorène (22,1-99,2 ng.g⁻¹), le phénanthrène (16,0-46,3 ng.g⁻¹), le fluoranthène (8,1-55,4 ng.g⁻¹) et le pyrène (11,7-135,7 ng.g⁻¹), comme dans les précédentes études européennes (Holoubek *et al.*, 2007b ; Krommer *et al.*, 2007). Ces composés sont des marqueurs des émissions des véhicules essence et diesel (Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). Ils sont par conséquent concentrés dans les masses d'air provenant des zones urbaines et des axes routiers denses.

Tableau V-2. Concentrations individuelles et totales ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) en HAP (en ng.g^{-1} , masse sèche) mesurées dans les mousses *Hypnum cupressiforme* échantillonnées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010

Echantillon	ACE	FLR	PHE	ANT	FTN	PYR	B(a)A	CHR	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	$\Sigma_{13}\text{HAP}$
N_1	4,0	27,2	22,5	1,9	35,1	81,4	2,7	8,8	5,9	2,8	4,3	1,0	4,4	202,0
N_2	2,5	25,8	25,5	2,1	22,1	48,6	3,2	6,4	4,6	2,3	3,9	0,8	4,2	152,0
N_3	2,7	34,2	27,2	2,6	16,9	30,7	2,5	5,7	4,6	2,4	4,0	0,8	4,8	139,1
N_4	2,1	22,3	21,0	2,0	12,0	18,5	2,2	5,2	3,9	2,2	3,4	0,7	4,1	99,7
N_5	3,9	38,3	16,0	0,8	8,9	19,2	1,9	5,8	3,1	2,3	2,4	1,0	3,9	107,4
N_6	3,2	46,9	20,3	1,1	9,4	14,2	0,8	5,3	6,1	3,8	4,0	1,2	5,9	122,2
N_7	4,3	61,6	23,9	1,2	8,1	11,7	2,2	4,8	2,9	2,6	2,7	0,5	3,8	130,4
N_8	1,5	22,1	46,3	3,1	52,6	135,7	1,9	7,4	3,4	2,4	2,8	1,0	3,5	283,8
N_9	3,0	45,2	39,0	3,5	33,0	71,7	3,9	9,2	7,7	3,7	4,9	1,3	5,7	231,8
N_10	5,1	63,4	32,9	1,5	14,0	18,2	2,6	6,8	6,0	3,6	3,8	1,5	5,3	164,8
N_11	3,6	60,1	19,8	1,1	10,3	14,8	3,6	7,2	6,5	3,2	4,0	1,2	5,9	141,1
N_12	1,9	48,7	19,8	0,8	11,0	13,7	3,6	6,2	7,3	3,7	3,8	1,2	5,2	126,8
N_13	2,1	39,0	18,1	1,0	11,0	21,3	4,8	9,7	9,1	5,0	5,5	1,9	6,9	135,3
N_14	2,5	22,8	16,8	0,6	14,5	28,5	2,8	6,5	4,9	2,6	2,9	1,0	3,4	109,7
N_15	3,1	31,1	34,8	1,8	42,6	111,4	5,9	13,4	9,7	4,5	5,3	1,4	8,0	273,0
N_16	1,8	28,0	23,8	1,0	23,8	48,9	1,3	7,1	4,4	2,5	3,0	0,9	3,3	149,8
N_17	2,5	45,0	23,0	1,2	18,4	38,7	1,9	7,0	4,9	3,5	3,9	1,1	3,9	154,9
N_18	6,7	65,7	29,8	1,0	39,8	96,9	1,6	7,8	2,3	1,9	2,7	1,8	2,7	260,8
N_19	9,9	78,9	41,2	1,4	55,4	134,7	3,8	10,5	4,7	2,8	4,5	1,5	3,3	352,7
N_20	7,9	47,1	32,6	0,7	12,8	26,5	1,7	3,5	1,8	1,4	1,8	0,7	2,4	141,0
N_21	2,4	61,0	29,4	0,9	19,4	42,3	1,4	5,4	2,6	2,1	2,0	0,5	2,0	171,1
N_22	7,1	99,2	40,4	1,7	49,1	135,4	7,0	5,6	2,9	2,5	2,3	0,6	1,9	355,7

L'anthracène et le dibenzo(a,h)anthracène présentent quant à eux des teneurs de l'ordre du ng.g^{-1} , proches des limites de quantification. Enfin, le benzo(a)pyrène se trouve à des concentrations relativement faibles dans les mousses de Navarre : de 1,8 à 5,5 ng.g^{-1} .

La distribution spatiale des teneurs totales en HAP est représentée sur la [Figure V-18](#). Sur l'ensemble des sites étudiés, 15 présentent des mousses avec des teneurs de 100 à 200 ng.g^{-1} , 5 avec des teneurs de 200 à 300 ng.g^{-1} (n°1, 8, 9, 15, 18) et 2 avec des teneurs supérieures à 300 ng.g^{-1} (n°19 et 22). Les mousses du site 8 (Nagore) présentent une concentration plus élevée que la moyenne évaluée à 284 ng.g^{-1} ; ceci s'explique par le fait que le site est situé à 15 km à l'est de l'agglomération de Pampelune, dans la direction des vents dominants. En effet, la rose des vents de la station météorologique de Beortegi, située à environ 6 km, montre que les vents dominants viennent du nord-ouest. Les mousses des sites 18 (Armañanzas) et 19 (Sesma) ont révélé des teneurs de 261 et 353 ng.g^{-1} , qui s'expliquent par une forte densité de population dans la vallée de l'Ebre, ainsi que par la présence d'axes routiers majeurs ([Figure V-5b](#)) : l'autoroute A-12 qui relie Pampelune à Logroño, capitale de La Rioja de 152 641 habitants (INE, 2011), et l'autoroute AP-68 qui longe la vallée de l'Ebre. La rose des vents de la station météorologique d'Aguilar de Codes, située à environ 10 km du site 18 et 30 km du site 19, montre que les vents prédominants viennent du nord-ouest. On pourrait donc expliquer les concentrations élevées mesurées sur le site 19 par le fait qu'il est situé à 12 km au sud-est de l'autoroute A-12. Le site 15 (Monasterio de Iranzu) montre une teneur élevée de 273 ng.g^{-1} , qui pourrait également s'expliquer par sa proximité avec l'autoroute A-12, située à 6 km au sud du site de prélèvement. Il en est de même pour le site 9 (Etxarri-Lizarrusti), avec une concentration totale de 232 ng.g^{-1} , le site étant localisé à 4 km au nord de l'autoroute A-10 qui relie Pampelune à Vitoria-Gasteiz, la capitale du Pays Basque de 239 562 habitants (INE, 2011), et à 9 km à l'est l'autoroute A-1 qui relie Vitoria-Gasteiz à la France. Les vents prédominants viennent de l'ouest d'après les relevés de la station d'Etxarri-Aranatz située à 4 km du site 9. Le site 1 (Goizueta) est situé à 15 km au sud de Saint-Sébastien qui compte 186 185 habitants (INE, 2011) et à 9 km à l'est de l'autoroute A-15 qui relie Pampelune à Saint-Sébastien et la France. Les vents dominants mesurés à Doneztebe-Santesteban (à 18 km du site) viennent du nord, du nord-ouest ou bien du sud-est. Quant au site 22 (Irati), il est situé dans les massifs pyrénéens, loin des zones urbaines et du trafic routier. Or, les mousses prélevées sur ce site présentent une teneur totale en 13 HAP de 356 ng.g^{-1} . La forêt d'Irati est située près de la frontière française et est, par conséquent,

exposée aux masses d'air provenant de l'agglomération de Pau, dont l'aire urbaine regroupe plus de 200 000 habitants et qui concentre de nombreuses industries (INSEE, 2009a). La contamination de ce site est de type transfrontière.

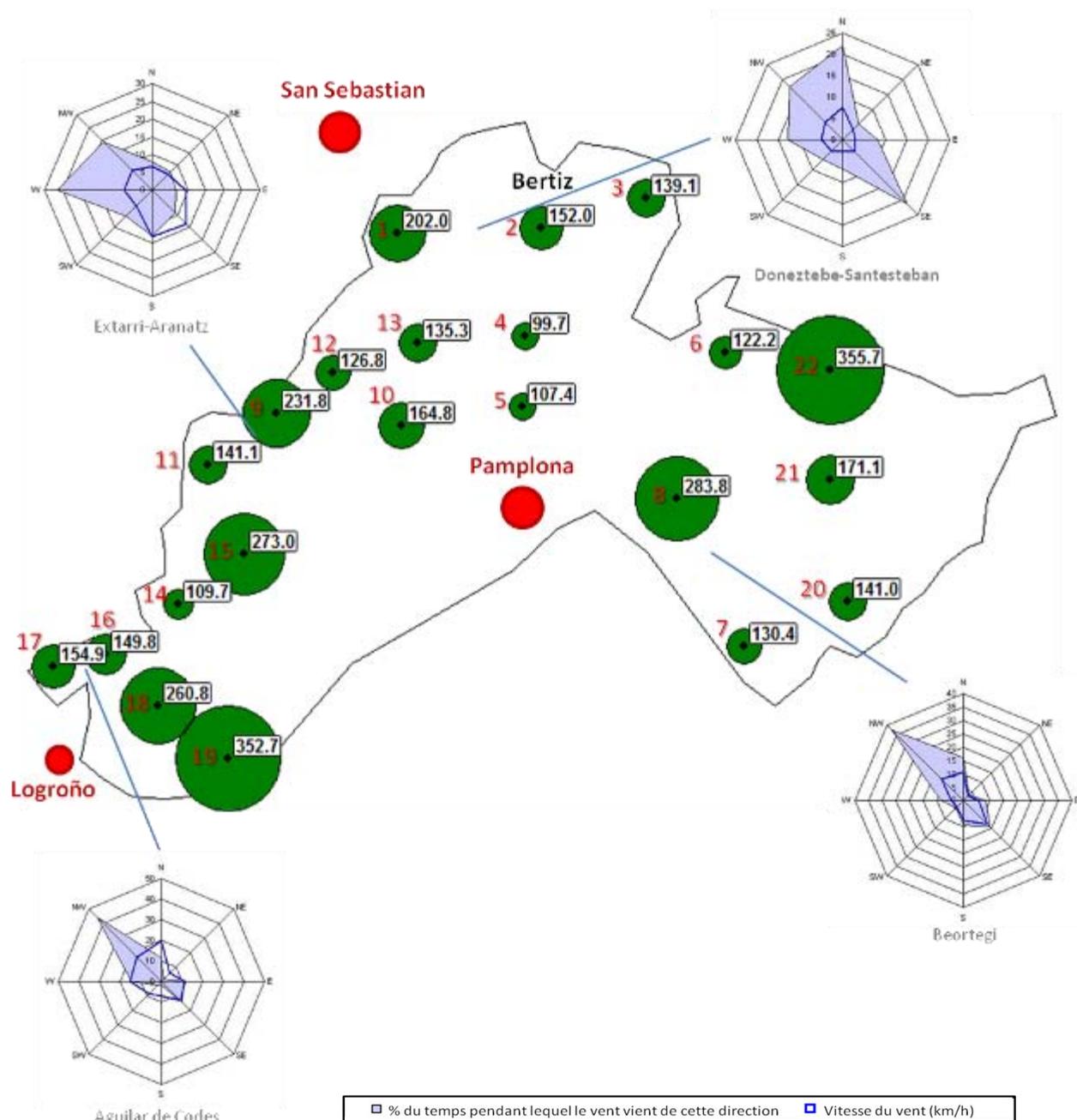


Figure V-18. Distribution spatiale au nord de la Navarre des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées du 28/09/2010 au 16/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Roses des vents réalisés à partir de données météorologiques recueillies par les stations automatiques de Navarre : Beortegi (Latitude : 42,7996 ; Longitude : -1,4334 ; Altitude : 580 m) ; Aguilar de Codes (Latitude : 42,6145 ; Longitude : -2,3939 ; Altitude : 736 m) ; Extarri-Aranatz (Latitude : 42,9103 ; Longitude : -2,0583 ; Altitude : 505 m) ; Doneztebe-Santesteban (Latitude : 43,1325 ; Longitude : -1,6597 ; Altitude : 125 m) (Source : <http://meteo.navarra.es/climatologia/fichasclimaticasaut.cfm>)

La contribution des HAP individuels à la concentration totale varie en fonction du site (Figure V-19). Les sites avec les concentrations totales les plus élevées (Sesma et Irati) sont caractérisés par une plus forte contribution du pyrène que pour le site faiblement contaminé (Belate), représentant 33% des teneurs totales dans les mousses des sites 19 et 22 contre 19% dans celles du site 4. D'autre part, vis-à-vis du site de Sesma, les mousses du site d'Irati sont caractérisées par une plus forte contribution du fluorène (28% contre 22%) et une plus faible contribution de la fraction lourde (6% contre 9% de B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P). Ces constats étayent les hypothèses précédentes supposant que la contamination du site de Sesma est due au trafic routier local et que celle d'Irati est d'origine transfrontalière. En effet, la phase particulaire sur laquelle sont adsorbés les HAP les plus lourds est davantage déposée à proximité des sources d'émission, alors que la fraction gazeuse contenant les composés les plus légers tels peut être transportée avec les masses d'air sur de grandes distances (Ares *et al.*, 2009). La concentration élevée du fluorène par rapport aux autres HAP de la fraction gazeuse est sans doute liée à sa faible réactivité atmosphérique (Tableaux I-4, I-6). De plus, le site d'Irati se situe à 935 m d'altitude. La partition gaz/particules est donc accentuée en raison du relief et d'une pression de vapeur saturante plus faible (Liu *et al.*, 2005). Ce phénomène a déjà été observé dans l'air ambiant des Pyrénées (Fernandez *et al.*, 2002).

Les échantillons d'*Hypnum cupressiforme* du Parc Naturel de Bertiz (site 2) ont présenté une teneur totale en HAP de 152 ng.g⁻¹ (MS), du même ordre de grandeur que la concentration moyenne mesurée en 2006-2007 dans la même espèce (133 ng.g⁻¹). Bertiz fait partie des sites de Navarre les moins contaminés par les retombées atmosphériques de HAP. Les teneurs en HAP individuels sont similaires à celles mesurées à Belate, à l'exception de celles du fluoranthène et du pyrène qui sont plus importantes à Bertiz. La plus forte contamination par ces composés résulte probablement de la présence à proximité du site de Bertiz de la route nationale à haut débit N-121-A.

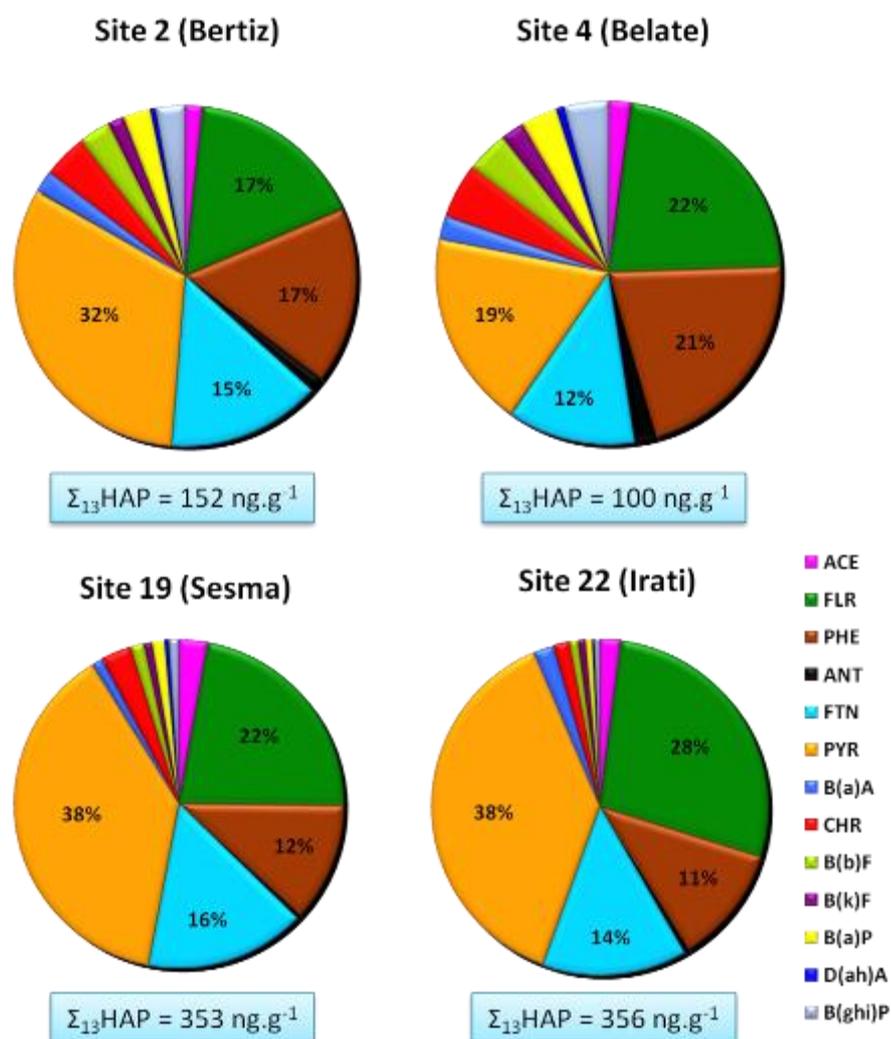


Figure V-19. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : le Parc Naturel de Bertiz (n°2), un site avec une faible contamination (n°4), un site fortement contaminé par des émissions locales (n°19) ou par une pollution transfrontalière (n°22)

V.4.1.2. Signatures isotopiques de C et N des mousses de Navarre

Les analyses élémentaires des mousses prélevées en Navarre ont révélé des teneurs en carbone de 41,1 à 47,3 %, avec une moyenne de 44,1% (MS), et en azote de 0,8 à 1,9 %, avec une moyenne de 1,3 % (Tableau V-3). Les résultats obtenus pour le site 2 (Bertiz) sont en accord avec ceux obtenus précédemment dans les mousses prélevées en 2006-2007, dont les teneurs en carbone et azote étaient respectivement de 30,9-43,9% et 0,8-1,5% (§ III.3.1.1.). Les analyses isotopiques des mousses de Navarre ont montré des rapports $\delta^{13}\text{C}$ de -30,9 à -28,6‰, avec une moyenne de -29,6‰, et des rapports $\delta^{15}\text{N}$ de -7,9 à -3,0, avec une moyenne de -5,6‰. Les mousses prélevées à Bertiz en 2006-2007 ont présenté des rapports similaires au site 2 : de -30,5 à -28,5‰ pour $\delta^{13}\text{C}$ et de -6,0 à -4,0‰ pour $\delta^{15}\text{N}$ (§ III.3.1.2.).

Tableau V-3. Teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (‰, masse sèche) dans les échantillons de mousses *Hypnum cupressiforme* échantillonnées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010

Echantillon	%C	%N	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
N_1	45,5	1,5	-29,7	-3,6
N_2	41,6	1,3	-30,3	-4,6
N_3	47,3	1,1	-29,2	-6,6
N_4	43,9	1,3	-29,5	-5,6
N_5	43,9	1,2	-28,9	-6,7
N_6	44,4	1,8	-28,6	-6,2
N_7	42,5	0,9	-28,6	-5,6
N_8	43,5	0,9	-29,2	-5,9
N_9	44,2	1,3	-30,9	-4,4
N_10	45,7	1,3	-29,2	-6,9
N_11	45,3	1,6	-30,4	-6,1
N_12	43,9	1,9	-29,9	-3,7
N_13	45,2	1,8	-28,9	-5,2
N_14	44,8	1,0	-28,7	-7,4
N_15	43,8	1,6	-29,0	-5,6
N_16	44,5	1,5	-30,4	-7,9
N_17	43,4	1,7	-29,2	-3,0
N_18	44,9	1,1	-29,3	-7,3
N_19	45,6	1,0	-29,7	-4,9
N_20	43,8	1,0	-29,6	-5,4
N_21	41,1	1,3	-30,7	-6,1
N_22	43,7	1,5	-29,7	-3,9
N_23	43,0	1,4	-30,0	-6,5

L'analyse de mousses *Pleurozium scheberi* (Brid.) Mitt. et *Scleropodium purum* (Hedw.), prélevées en 2002 sur 8 sites ruraux de l'Allemagne de l'ouest, a montré une composition en N de 0,7 à 2,3% et des $\delta^{15}\text{N}$ de -7,9 à -2,9‰ (Solga *et al.*, 2005). Ces fourchettes sont très similaires à celles mesurées dans les mousses *Hypnum cupressiforme* échantillonnées sur 23 sites de Navarre. Une étude menée en 1999 en Italie du Nord a révélé avec l'espèce *Tortula muralis* Hedw. des rapports $\delta^{15}\text{N}$ d'environ -6 à 2‰ en milieu urbain (sites industriels, résidentiels et centre-ville), contre environ -7 à -2‰ en milieu rural (sites à 10 km de sources fixes d'émission et à au moins 1 km de routes bitumées) (Gerdol *et al.*, 2002b). Les rapports isotopiques d'azote obtenus en Navarre sont donc caractéristiques d'une région faiblement anthropisée. Solga *et al.* (2005) ont montré une corrélation entre les teneurs en N dans les mousses et celles dans les dépôts totaux et une corrélation négative entre $\delta^{15}\text{N}$ et

le rapport des concentrations $\text{NH}_4^+\text{-N} / \text{NO}_3^-\text{-N}$ dans les dépôts totaux. Une étude menée dans des agglomérations chinoises avec les mousses *Haplocladium microphyllum* a également montré une corrélation négative entre $\delta^{15}\text{N}$ et les concentrations de NH_4^+ dans les dépôts totaux (Xiao *et al.*, 2010). Il en ressort que les zones urbanisées, caractérisées par des émissions de NO_x provenant du trafic routier, présentent dans les mousses des $\delta^{15}\text{N}$ élevés (proches de 0), alors que les zones rurales, caractérisées par des émissions ammoniacales dues à l'agriculture, présentent des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ faibles (fortement négatives).

La distribution des rapports isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ en Navarre (Figure V-20) montre 3 zones où les valeurs sont relativement élevées ($> -4\%$) : la frontière avec le Pays Basque (sites 1 et 12), à proximité de Logroño (site 17) et la forêt d'Irati (site 22). Les teneurs en azote sont également relativement élevées pour ces sites : 1,5-1,9%. Les 2 premières zones sont influencées par la contamination urbaine et industrielle locale, tandis qu'à Irati les valeurs élevées sont dues à la pollution transfrontalière.

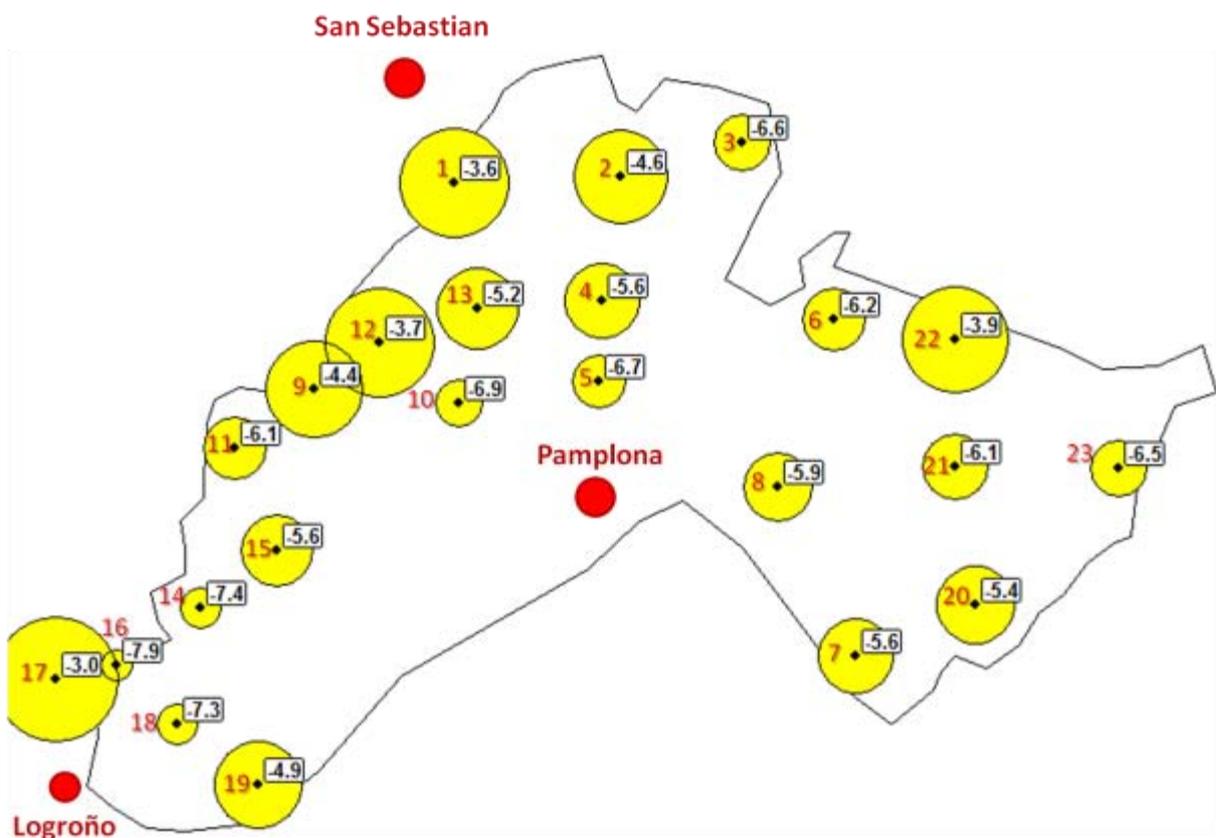


Figure V-20. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)

Des analyses menées sur des échantillons de *Haplocladium microphyllum*, prélevés entre 2005 et 2007 en Chine, ont montré des teneurs en carbone allant de 37,8% en milieu rural (montagne) à 45,7% en milieu urbain, et des rapports isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ de -30,2‰ en milieu urbain à -26,5‰ dans les montagnes (Liu *et al.*, 2008a ; Liu *et al.*, 2010). On retrouve les mêmes ordres de grandeur dans les mousses de Navarre. Liu *et al.* (2010) ont observé que les teneurs en carbone étaient corrélées avec celles en azote et anti-corrélées avec le rapport $\delta^{13}\text{C}$. Ainsi les sites les plus urbanisés sont caractérisés par des teneurs en C et N élevées et des $\delta^{13}\text{C}$ faibles (fortement négatifs). Ils ont également montré que les teneurs en C plus élevées en milieu urbain ne seraient pas liées aux émissions plus importantes de CO_2 , mais plutôt à celles de NO_x , les dépôts d'azote favorisant la photosynthèse (effet nutritionnel). La variation spatiale des teneurs en C et des rapports $\delta^{13}\text{C}$ dans les mousses de Navarre étant relativement faible (écart relatif maximal de 13% et 7% respectivement, contre 55% pour les teneurs en N et 165% pour $\delta^{15}\text{N}$), il est difficile de dégager des tendances spatiales.

Les mousses prélevées au nord de la Navarre ont présenté globalement des niveaux modérés de contamination par les HAP, le carbone et l'azote. La pollution atmosphérique à l'échelle régionale peut donc être considérée comme faible. Seuls quelques points se sont démarqués à cause d'une pollution locale, provenant généralement des axes de trafic routier. Un site localisé dans les Pyrénées a également présenté une contamination d'origine transfrontière.

V.4.2. COMPARAISON AVEC D'AUTRES RÉGIONS EUROPÉENNES

V.4.2.1. Cas de la Suisse

L'ensemble des résultats obtenus pour les échantillons prélevés en Suisse sont donnés dans le [Tableau V-4](#). Les teneurs totales en HAP mesurées varient de 98 à 698 ng.g⁻¹, avec une valeur moyenne de 242 ng.g⁻¹ (MS). Comme en Navarre, les sites faiblement contaminés présentent des concentrations de l'ordre de 100 à 200 ng.g⁻¹. En revanche, la concentration maximale mesurée est environ deux fois plus élevée en Suisse qu'en Navarre.

L'observation de la distribution spatiale des teneurs totales de HAP mesurées en Suisse ([Figure V-21](#)) montre que les valeurs très élevées concernent les sites P3 (698 ng.g⁻¹) et J24 (467 ng.g⁻¹) de la région de Bâle. Or, l'agglomération de Bâle contient de nombreuses industries chimiques et pharmaceutiques (BASF, Lonza, Roche...). Une industrie de transformation du pétrole et des huiles minérales (Coop Mineraöl) est également située à Allschwil, à l'ouest de Bâle. Mais l'activité industrielle principale est concentrée le long du Rhin à l'est de la ville : à MuttENZ (Clairont), à Pratteln (Henkel), à Frenkendorf (Mifa) en Suisse, et à Rheinfelden en Allemagne (Umicore, Cabot, Alufont...). Le site P3 se situe dans l'agglomération de Bâle, à MuttENZ, et le site J24 à Möhlin, située sur la rive opposée à Rheinfeld. De plus, les vents prédominants sont orientés est-ouest. Ces deux sites sont donc exposés directement à la contamination d'origine urbaine et industrielle. Le site P2 (Kaiseaugst), situé en bord du Rhin entre les pôles industriels de Bâle et Rheinfeld, présente une concentration élevée en HAP de 345 ng.g⁻¹. Les teneurs des autres sites P1 (Oberwil) et J20 (Therwil), situés dans la banlieue sud de Bâle, et P4 (Listal) à 5 km au sud de Kaiseaugst, diminuent selon un gradient décroissant lorsqu'on s'éloigne de Bâle et des zones industrielles.

Le Plateau Suisse présente des concentrations totales en HAP similaires à la Navarre : de 98 à 336 ng.g⁻¹ (MS) pour les sites respectifs de Commugny (M2) et de Staffelbach (M56). Les sites de l'ouest du pays, M2 à M32 situés entre Genève et Berne, sont peu contaminés par les HAP (98-174 ng.g⁻¹), les vents dominants provenant du sud-ouest. Le centre du Plateau présente des niveaux de contamination plus élevés (168-336 ng.g⁻¹), dus à une plus forte urbanisation et concentration d'axes routiers. Le site M56 est situé à 4 km de l'autoroute A1 reliant Berne à Zürich et à 7 km de l'autoroute A2 reliant Bâle à Lucerne. Les vents dominants sont orientés nord-ouest à sud-ouest, dispersant la contamination de la métropole de Zürich dans la région. Enfin, le site de Saint Gall (M98), situé à l'extrémité est du Plateau,

au bord de lac de Constance, présente une teneur totale assez faible en HAP (126 ng.g⁻¹), les vents prédominants venant du nord (forêt Noire en Allemagne) et du sud (Alpes).

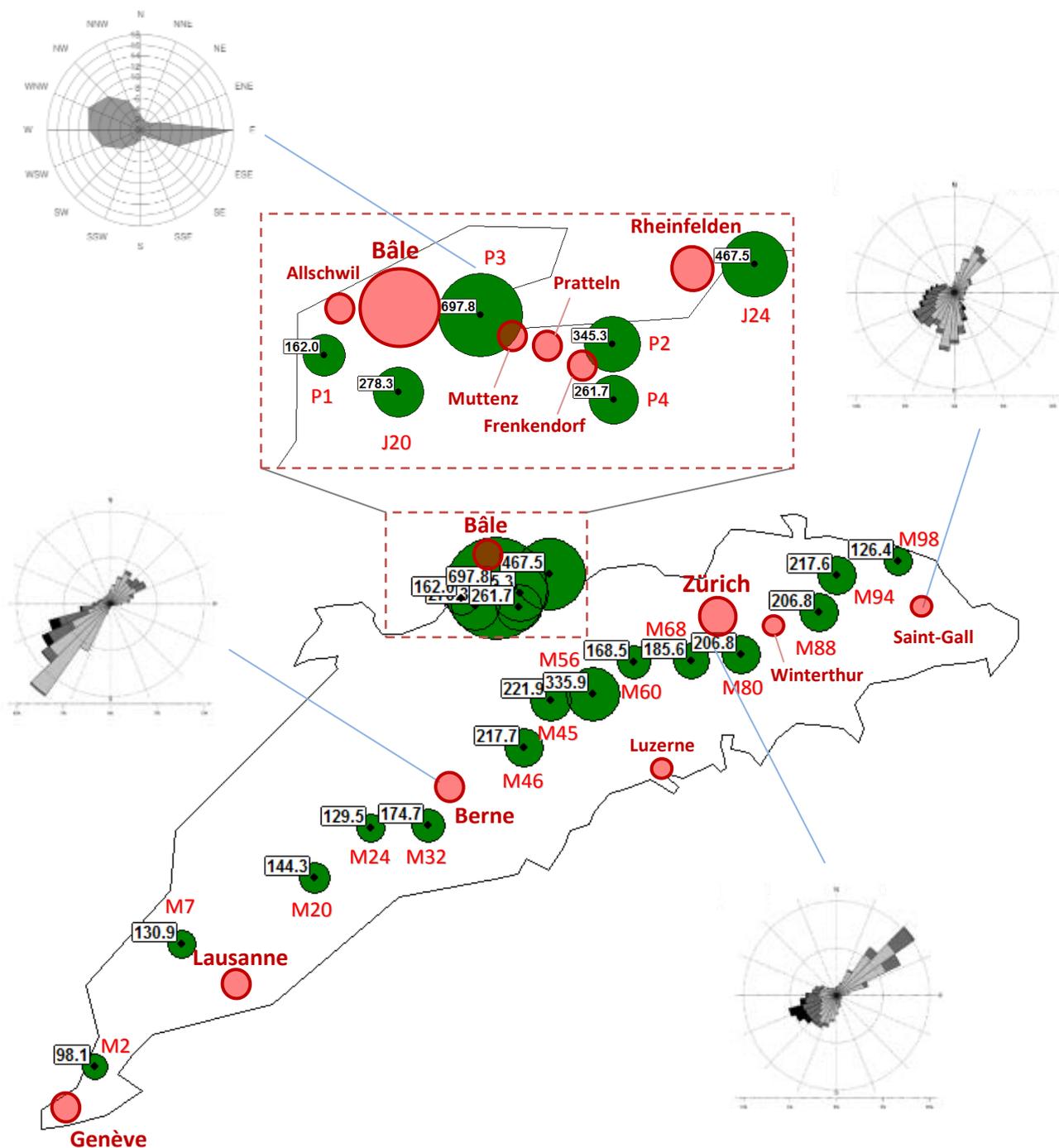


Figure V-21. Distribution spatiale au nord de la Suisse (avec un zoom sur la région de Bâle) des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées du 18/08/2010 au 18/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Rose des vents des stations météorologiques de Basel/Binningen (moyenne 2009-2012) (www.windfinder.com) et de Berne, Zürich et Saint-Gall (moyenne 1981-2000) (www.meteoschweiz.ch).

Tableau V-4. Concentrations individuelles et totales (Σ_{13} HAP) en HAP (en ng.g⁻¹, masse sèche), teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (‰, masse sèche) mesurées dans les mousses *Hypnum cupressiforme* échantillonnées en Suisse du 18/08 au 18/10/2010

Echantillon	ACE	FLR	PHE	ANT	FTN	PYR	B(a)A	CHR	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	Σ_{13} HAP	%C	%N	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$
S_J20	3,4	47,1	31,5	0,9	44,0	101,9	6,2	13,7	9,7	5,4	6,2	1,1	7,2	278,3	43,7	1,2	-31,3	-7,5
S_J24	4,6	43,0	41,1	2,7	57,7	48,9	39,3	40,2	61,7	29,8	38,4	9,7	50,5	467,5	45,7	1,3	-30,3	-8,9
S_M2	2,2	23,2	17,9	0,6	12,7	17,6	2,1	5,2	4,9	2,6	3,8	1,0	4,5	98,1	45,3	1,2	-31,4	-3,3
S_M7	2,0	24,4	16,7	0,7	20,0	42,7	1,8	5,7	4,8	2,8	3,9	1,0	4,4	130,9	44,8	1,2	-30,7	-6,5
S_M20	2,0	33,2	22,9	1,0	19,1	38,6	1,8	7,0	5,2	3,6	4,2	1,1	4,4	144,3	44,2	1,1	-29,4	-7,9
S_M24	2,3	21,2	21,2	1,2	18,0	35,4	3,1	8,1	5,5	3,2	4,4	0,9	5,2	129,5	46,9	1,1	-31,7	-10,8
S_M32	2,1	33,7	26,8	1,1	24,8	37,0	4,1	11,2	10,1	6,0	6,5	2,1	9,1	174,7	45,6	1,5	-30,1	-9,1
S_M45	3,4	34,0	29,3	1,7	36,4	73,0	2,7	11,3	9,3	5,1	6,8	1,3	7,5	221,9	46,8	1,1	-30,6	-8,0
S_M46	5,9	39,5	30,1	1,6	32,4	67,2	1,9	9,9	8,4	4,5	6,0	1,2	8,9	217,7	44,6	1,3	-31,1	-7,8
S_M56	5,0	30,0	36,0	1,9	61,4	151,3	4,9	12,4	10,0	5,3	7,2	1,5	9,2	335,9	43,8	1,7	-31,0	-5,8
S_M60	3,4	34,8	23,7	1,3	24,0	48,6	3,1	7,7	6,1	3,5	4,5	1,1	6,6	168,5	44,9	1,4	-31,0	-5,3
S_M68	4,2	39,2	23,0	1,4	26,9	49,8	3,5	8,8	8,2	3,9	6,5	1,3	9,1	185,6	45,8	1,9	-30,5	-4,6
S_M80	4,4	51,7	27,5	1,8	25,6	52,8	4,7	9,8	8,0	4,6	6,6	1,2	7,9	206,8	45,5	1,2	-31,9	-5,1
S_M88	4,5	34,4	33,2	1,1	39,2	86,5	9,3	16,3	9,8	6,6	7,2	2,8	9,3	260,3	45,1	1,3	-30,3	-6,6
S_M94	4,2	63,4	34,9	1,3	28,2	44,3	3,8	8,8	7,9	4,6	6,2	1,2	8,9	217,6	45,2	1,3	-31,1	-8,6
S_M98	2,7	36,7	22,4	0,5	14,2	20,7	3,7	7,9	6,0	3,5	3,3	0,9	4,1	126,4	46,9	1,3	-30,0	-7,7
S_P1	4,1	34,9	22,6	0,8	19,1	22,2	8,0	11,5	12,9	7,0	8,0	1,9	8,9	162,0	42,8	1,5	-30,1	-3,8
S_P2	4,9	47,1	43,8	1,5	55,5	104,6	9,0	19,4	18,5	10,0	11,3	2,8	17,0	345,3	45,6	1,6	-31,1	-9,0
S_P3	4,3	48,5	81,4	3,9	116,8	102,1	59,7	61,1	70,6	36,4	47,0	10,9	55,1	697,8	42,8	1,6	-31,5	-4,7
S_P4	3,4	50,4	30,5	1,4	36,1	66,9	12,9	14,8	14,1	8,0	10,1	2,1	10,9	261,7	43,2	1,2	-31,8	-6,1

Les teneurs individuelles en HAP varient de 0,5 à 151,3 ng.g⁻¹ (MS) pour l'antracène sur le site de St. Gall (M98) et le pyrène sur le site de Staffelbach (M56) respectivement. Comme en Navarre, les composés majoritaires sont le fluorène (21,2-63,4 ng.g⁻¹), le phénanthrène (16,7-81,4 ng.g⁻¹), le fluoranthène (12,7-116,8 ng.g⁻¹) et le pyrène (17,6-151,3 ng.g⁻¹). Toutefois, les mousses prélevées sur les sites P3 et J24 de la région de Bâle contiennent également des teneurs importantes en HAP lourds (B(a)A → B(ghi)P), allant jusqu'à 70,6 ng.g⁻¹ pour le benzo(b)fluoranthène sur le site P3. Ainsi, la contribution des HAP individuels à la concentration totale varie significativement en fonction du site d'étude (Figure V-22). Les mousses avec les concentrations faibles en HAP, telles que celles prélevées sur le site M2, présentent les mêmes pourcentages de HAP individuels que les sites peu contaminés de Navarre, tels que Belate (N_4) (Figure V-19). Le site M56 est caractérisé par une teneur en pyrène équivalente à 45% de la concentration totale, confirmant l'hypothèse que la contamination de ce site est due au trafic routier (Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). Les mousses de ce site présentent approximativement les mêmes pourcentages relatifs de HAP que le site de Sesma (N_19) en Navarre. Le site P3 est caractérisé par une teneur en HAP lourds (B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) équivalente à 49% de la concentration totale, contre 24% pour le site M2 et 15% pour le site M56. Cela confirme l'origine industrielle de la contamination des mousses de ce site (Ares *et al.*, 2009 ; Ares *et al.*, 2011). Aucune mousse prélevée en Navarre ne présente les mêmes teneurs relatives de HAP, ce qui confirme une nouvelle fois que la source majeure de HAP dans cette région espagnole est le trafic routier.

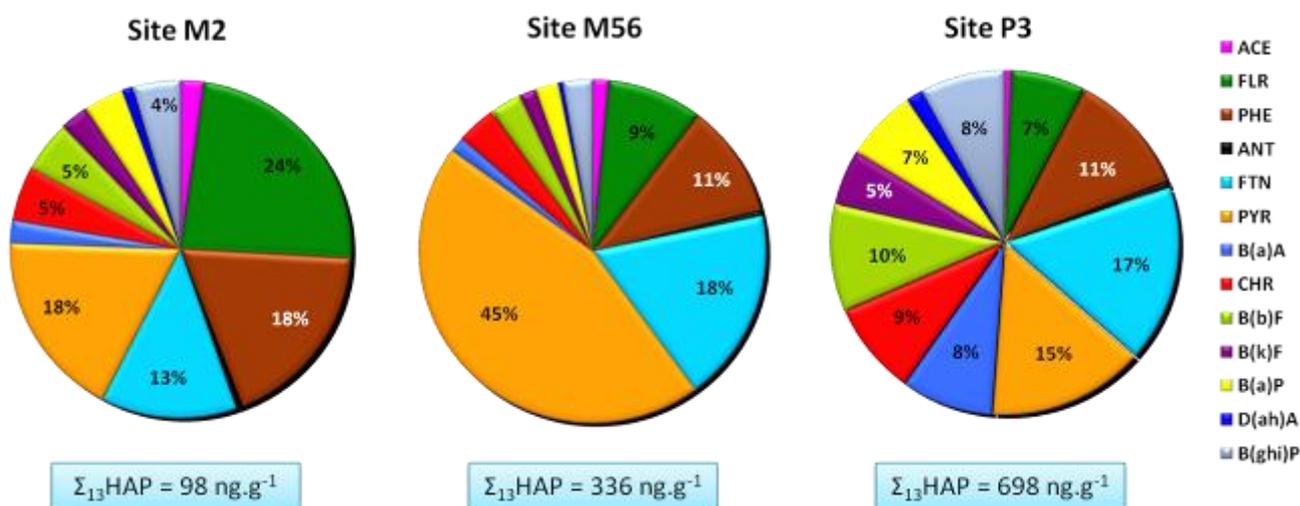


Figure V-22. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : un site avec une faible contamination (M2), un site fortement contaminé par des émissions du trafic routier (M56) et par des émissions industrielles (P3)

Les analyses élémentaires des mousses prélevées en Suisse ont révélé des teneurs en carbone de 42,8 à 46,9%, avec une moyenne de 45,0% (MS), et en azote de 1,1 à 1,9%, avec une moyenne de 1,4% (Tableau V-4), très similaires aux valeurs obtenues en Navarre (Tableau V-3).

Les analyses isotopiques ont donné des rapports $\delta^{13}\text{C}$ de -29,4 à -31,9‰, avec une moyenne de -30,8‰, et des rapports $\delta^{15}\text{N}$ de -10,8 à -3,3‰, avec une moyenne de -6,9‰ (Tableau V-4). Les rapports d'isotopes stables de carbone $\delta^{13}\text{C}$ sont significativement inférieurs à ceux de Navarre, traduisant une activité anthropique plus forte au nord de la Suisse. En revanche, les valeurs étant peu dispersées entre les différents sites de Suisse (écart maximal de 8‰), aucune tendance spatiale ne se dégage. Quant aux rapports des isotopes stables d'azote $\delta^{15}\text{N}$, certains sites présentent des valeurs inférieures au minimum de la Navarre (-7,9‰), avec jusqu'à -10,8‰ pour les mousses du site M24 (Galmwald) (Figure V-23). Les régions urbaines (Genève, Zürich et Bâle) présentent des rapports $\delta^{15}\text{N}$ de -9,2‰ (M32, Berne) à -3,3‰ (Genève). Cet intervalle est relativement moins élevé que dans la littérature : de -7 à 2‰ dans une ville du nord de l'Italie (Gerdol *et al.*, 2002b) et de -8 à 4‰ dans des villes chinoises (Xiao *et al.*, 2010). Les valeurs maximales mesurées sont du même ordre que celles de la Navarre, alors que les villes suisses sont habitées par une population plus importante. Par exemple, à Zürich, agglomération de plus de 1 million d'habitants, le rapport $\delta^{15}\text{N}$ mesuré est de -5,1‰, alors qu'à proximité de Logroño en Navarre (~150 000 habitants), le rapport mesuré est de -3,0‰. Cela s'explique par le fait que malgré une forte urbanisation, l'agriculture occupe, par la culture intensive, une majorité du Plateau Suisse et de la région de Bâle. Le rapport $\delta^{15}\text{N}$ étant corrélé au rapport des concentrations $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3\text{-N}$ dans les dépôts totaux (Solga *et al.*, 2005), les émissions d'azote sous sa forme réduite (NH_x) par l'activité agricole seraient donc relativement plus importantes au nord de la Suisse que les émissions sous sa forme oxydée (NO_x) par la combustion de carburants fossiles.

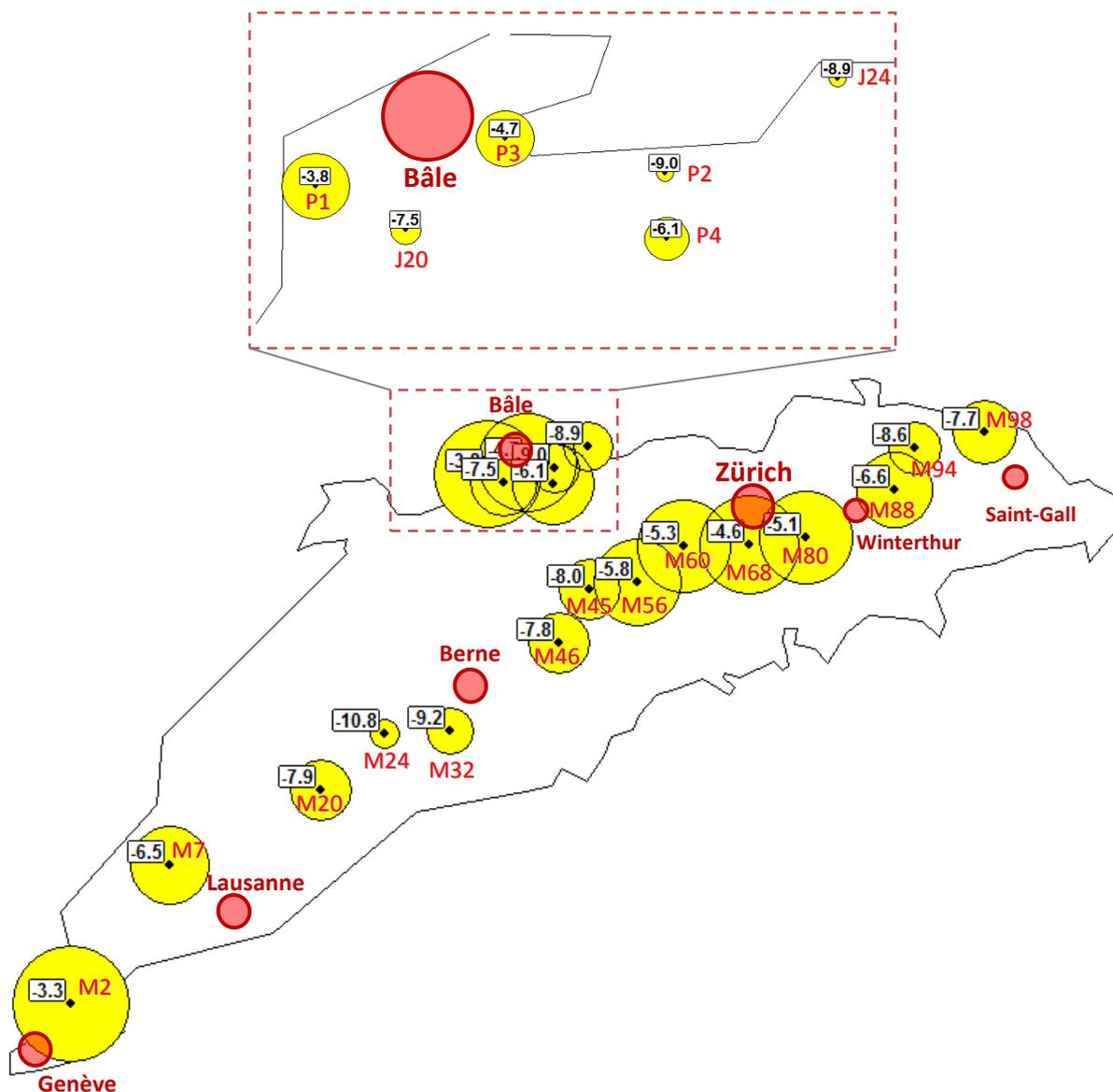


Figure V-23. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées au nord de la Suisse du 18/08/2010 au 18/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)

Les mousses prélevées en Suisse ont présenté de grandes disparités en ce qui concerne leurs teneurs en HAP, carbone et azote. Une pollution régionale du Plateau suisse est liée à la forte urbanisation de cette région. Comme en Navarre, la pollution locale provenant d'axes routiers impacte également les mousses. Toutefois, les mousses de la région de Bâle se sont avérées les plus contaminées, du fait d'émissions industrielles locales.

V.4.2.2. Cas de l'Île-de-France

Les concentrations en HAP mesurées ainsi que les résultats obtenus lors de l'analyse élémentaire et isotopique des échantillons de *Hypnum cupressiforme* prélevés en Île-de-France sont présentés dans le [Tableau V-5](#). Les teneurs totales en HAP mesurées varient de 149 à 360 ng.g⁻¹, avec une valeur moyenne est de 264 ng.g⁻¹ (MS). On retrouve environ la même gamme de concentrations qu'en Navarre. Toutefois, les concentrations en Île-de-France sont en moyenne significativement plus élevées, ce qui peut s'expliquer par une urbanisation et une industrialisation plus forte de la région.

La distribution spatiale des teneurs totales en HAP dans les mousses d'Île-de-France est représentée par la [Figure V-24](#). Les teneurs totales obtenues pour les sites appartenant à l'agglomération parisienne (n°6, 8, 10,12-18) varient de 206 à 358 ng.g⁻¹, pour les sites 12 (Villevaudé, 77) et 10 (Attainville, 95) respectivement. Trois sites situés hors de l'agglomération présentent des valeurs inférieures à 200 ng.g⁻¹: 148 ng.g⁻¹ au site 3 (Chenoise, 77), 184 ng.g⁻¹ au site 7 (Saint-Léger-en-Yvelines, 78) et 175 ng.g⁻¹ au site 9 (La-Roche-Guyon, 95) situés respectivement à 40 km à l'ouest, 10 km à l'est et 8 km au nord-est de l'agglomération parisienne. D'autres sites choisis hors agglomération présentent toutefois des niveaux de contamination aussi élevés que dans l'agglomération parisienne (sites 1, 2, 4, 5 & 11), avec des teneurs totales en HAP de 242 à 360 ng.g⁻¹, pour les sites 4 (Faremoutiers, 77) et 1 (Poligny, 77) respectivement. Le site 2 (Fontainebleau) est situé à seulement 4 km au sud de l'agglomération parisienne, exposé aux vents du nord provenant des zones urbanisées. Le site 11 (Chaumontel, 95) situé à 8 km au nord de l'agglomération parisienne et les sites 4 (Faremoutiers, 77) et 5 (Germigny-l'Evêque, 77) situés à environ 15 km au nord-est de l'agglomération sont également exposés aux vents dominants venant du sud-ouest, c'est-à-dire directement des zones urbaines. D'autre part, les sites 11 et 5 sont situés à 5 km d'axes importants : la Francilienne (N104) et l'autoroute A4 (qui relie Paris à Strasbourg) respectivement. Enfin, les mousses du site 1 (Poligny, 77), situé en dehors de l'aire urbaine de Paris, à plus de 20 km des limites de l'agglomération parisienne, présentent la teneur totale la plus élevée mesurée en Île-de-France (360 ng.g⁻¹). Or, ce site est situé à 2 km de l'autoroute A6, qui relie Paris à Lyon et Marseille, les 2^{ème} et 3^{ème} aires urbaines de France (INSEE, 2009a). A Poligny, la densité de trafic est de 50 000 véhicules par jour (IAU, 2005). On émet donc l'hypothèse que la contamination de ce site est due au trafic routier.

Tableau V-5. Concentrations individuelles et totales (Σ_{13} HAP) de HAP (en ng.g⁻¹, masse sèche), teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (‰, masse sèche) mesurées dans les mousses *Hypnum cupressiforme* échantillonnées en France du 4/10/2010 au 10/10/2010

Echantillon	ACE	FLR	PHE	ANT	FTN	PYR	B(a)A	CHR	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	Σ_{13} HAP	%C	%N	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$
F_1	3,6	45,2	34,5	2,1	52,4	115,9	14,6	30,6	11,9	6,1	7,2	1,9	33,9	359,9	41,74	1,64	-30,51	-5,45
F_2	3,1	33,4	25,4	1,3	42,3	85,2	11,3	15,2	12,9	7,4	8,6	1,7	8,0	255,7	38,37	1,41	-31,29	-7,04
F_3	2,1	30,0	19,8	0,7	19,2	33,2	6,1	11,2	8,9	4,9	5,9	1,3	5,3	148,5	42,95	1,67	-30,73	-6,48
F_4	3,6	35,8	23,3	1,1	38,1	80,8	9,6	14,3	11,9	6,6	7,6	1,7	7,0	241,6	40,51	1,63	-30,79	-6,37
F_5	2,5	38,8	28,5	1,3	38,0	56,0	14,7	21,3	20,0	10,5	12,9	3,1	11,5	259,1	44,04	2,06	-30,16	-6,53
F_6	2,8	48,2	34,0	1,5	39,2	60,6	13,8	16,8	18,1	9,9	11,8	2,5	11,8	271,0	39,05	1,72	-29,86	-5,56
F_7	1,5	26,9	20,9	0,9	24,6	34,8	12,1	17,1	15,8	8,3	9,2	2,5	9,6	184,3	44,08	1,63	-31,07	-5,96
F_8	2,7	53,2	37,0	1,7	47,9	89,4	14,6	20,9	17,9	9,6	12,4	2,7	13,5	323,4	44,27	1,49	-31,45	-7,64
F_9	1,8	29,3	20,1	0,7	24,0	43,2	8,7	12,3	11,7	6,2	7,3	2,0	7,9	175,1	43,31	1,76	-30,33	-3,34
F_10	4,0	54,0	42,0	2,0	60,2	105,6	15,0	19,8	18,3	9,9	11,9	2,6	12,7	358,1	43,63	1,74	-31,20	-5,99
F_11	2,1	37,4	28,8	1,3	37,9	66,5	16,6	20,0	18,9	9,5	11,7	2,9	10,7	264,3	42,60	1,69	-30,63	-5,15
F_12	1,8	30,9	25,0	1,0	29,6	47,9	12,1	15,5	13,7	7,3	9,5	2,3	9,4	205,9	43,50	1,55	-31,04	-6,01
F_13	1,6	32,8	25,4	1,6	43,8	66,8	20,3	26,4	24,2	12,3	17,2	3,8	14,9	291,2	44,64	1,70	-30,99	-4,90
F_14	3,1	55,0	35,9	1,6	45,1	74,2	11,8	22,5	18,1	10,0	11,5	2,7	12,8	304,4	44,10	1,23	-30,77	-8,04
F_15	2,4	43,9	35,0	1,3	50,0	77,3	18,8	28,0	24,4	12,5	17,1	3,8	18,9	333,5	42,35	1,61	-32,26	-4,02
F_16	2,2	36,6	31,9	1,1	31,4	51,2	12,4	17,7	15,9	8,5	10,8	2,7	12,1	234,7	43,14	1,46	-32,25	-5,16
F_17	1,6	30,3	25,7	1,1	32,1	44,3	15,6	22,9	21,3	11,1	13,4	2,9	17,7	240,0	43,33	1,31	-31,20	-7,74
F_18	2,6	42,1	32,2	1,2	41,6	57,3	18,7	27,1	25,7	13,0	15,7	3,6	21,4	302,1	43,44	1,44	-30,81	-7,47

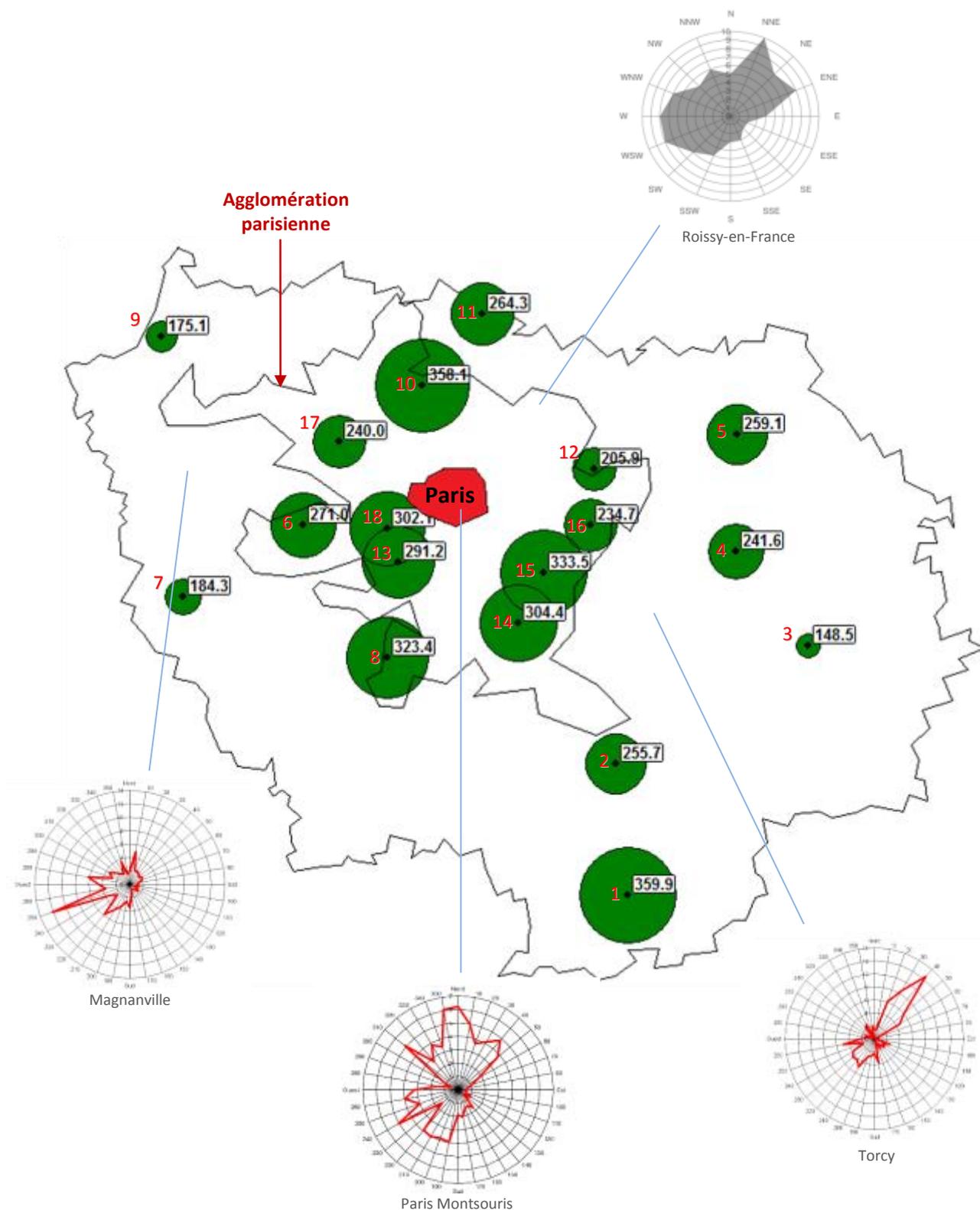


Figure V-24. Distribution spatiale en Île-de-France des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Rose des vents des stations météorologiques de Magnanville, Paris Montsouris, Torcy et Roissy-en-France (moyenne 2010-2012) (Sources : MétéoFrance, www.windfinder.com)

Les teneurs individuelles en HAP varient de 0,7 à 115,9 ng.g⁻¹ (MS) pour l'anthracène au site 3 (Chenoise, 77) et le pyrène au site 1 (Poligny, 77) respectivement. On retrouve les mêmes composés majoritaires qu'en Navarre : le fluorène (26,9-55,0 ng.g⁻¹), le phénanthrène (19,8-42,0 ng.g⁻¹), le fluoranthène (19,2-60,2 ng.g⁻¹) et le pyrène (33,2-115,9 ng.g⁻¹). Les composés minoritaires sont également l'acénaphthène (1,5-4 ng.g⁻¹), l'anthracène (0,7-2,1 ng.g⁻¹) et le dibenzo(a,h) anthracène (1,3-3,8 ng.g⁻¹). Toutefois, en Île-de-France, les HAP appartenant à la fraction lourde contribuent plus fortement aux teneurs totales en HAP que les 2 autres régions, avec des concentrations allant jusqu'à 33,9 ng.g⁻¹ pour le benzo(ghi)perylène au site 1. En effet, les HAP lourds ont contribué en moyenne à 33% des teneurs totales de HAP mesurées dans les mousses d'Île-de-France, contre 16% en moyenne en Navarre et 25% en Suisse. On retrouve une contribution moyenne des HAP lourds similaire à la région de Bâle en Suisse (36% en moyenne pour les sites d'étude J20, J24 et P1-4). L'activité industrielle est donc une source importante de contamination atmosphérique en Île-de-France. Cependant, on observe des disparités spatiales : certains sites sont également soumis à une contamination importante due au trafic routier (Figure V-25).

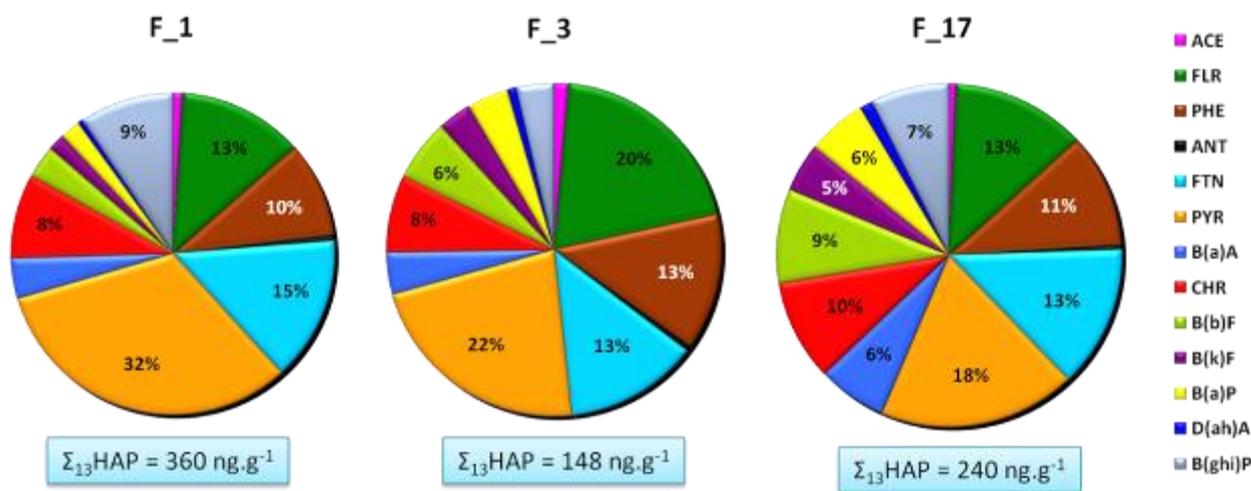


Figure V-25. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : un site avec une faible contamination (n°3), un site fortement contaminé par des émissions du trafic routier (n°1) et par des émissions industrielles (n°17)

Par exemple, le site 1 est caractérisé par 31% de contribution du pyrène, contre 17 % pour le site 17 (Saint-Germain-en-Laye, 78), alors que la contribution des HAP lourds est de 30% contre 44% respectivement. Cette observation permet de vérifier l'hypothèse d'une contamination due au trafic du site 1 par l'autoroute A6 (Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orłinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006). La présence de nombreuses industries à Saint-Germain-en-Laye, dans les domaines de l'aéronautique (Eurotech International), du

papier (Herma France, Lorenzten et Wetret, Metso Paper) et de la peinture (Tollens), explique une plus forte teneur relative en HAP lourds (Ares *et al.*, 2009 ; Ares *et al.*, 2011). Le site de fond (site 3) est caractérisé par une teneur en HAP à 23% de pyrène et 29% de HAP lourds, ce qui est supérieur aux sites les moins contaminés de Navarre (site 4 : 18% de PYR et 19% de HAP lourds) et de Suisse (M2 : 19% de PYR et 22% de HAP lourds). Ainsi, les sites ruraux d'Île-de-France seraient davantage contaminés par la pollution atmosphérique d'origine routière et industrielle que les sites les moins contaminés des deux autres régions étudiées. Cela se traduit pour le benzo(a)pyrène, HAP fortement toxique et majoritairement condensé à la phase particulaire (§ I.1), par des teneurs supérieures à 5,9 ng.g⁻¹, alors que le maximum mesuré en Navarre était de 5,5 ng.g⁻¹.

La distribution spatiale du benzo(a)pyrène en Île-de-France (Figure V-26) présente des tendances similaires à celles modélisées par l'Association Agréée de Surveillance de la Qualité de l'Air en Île-de-France (Airparif) pour les particules PM10 et PM2,5 (Figure V-27).

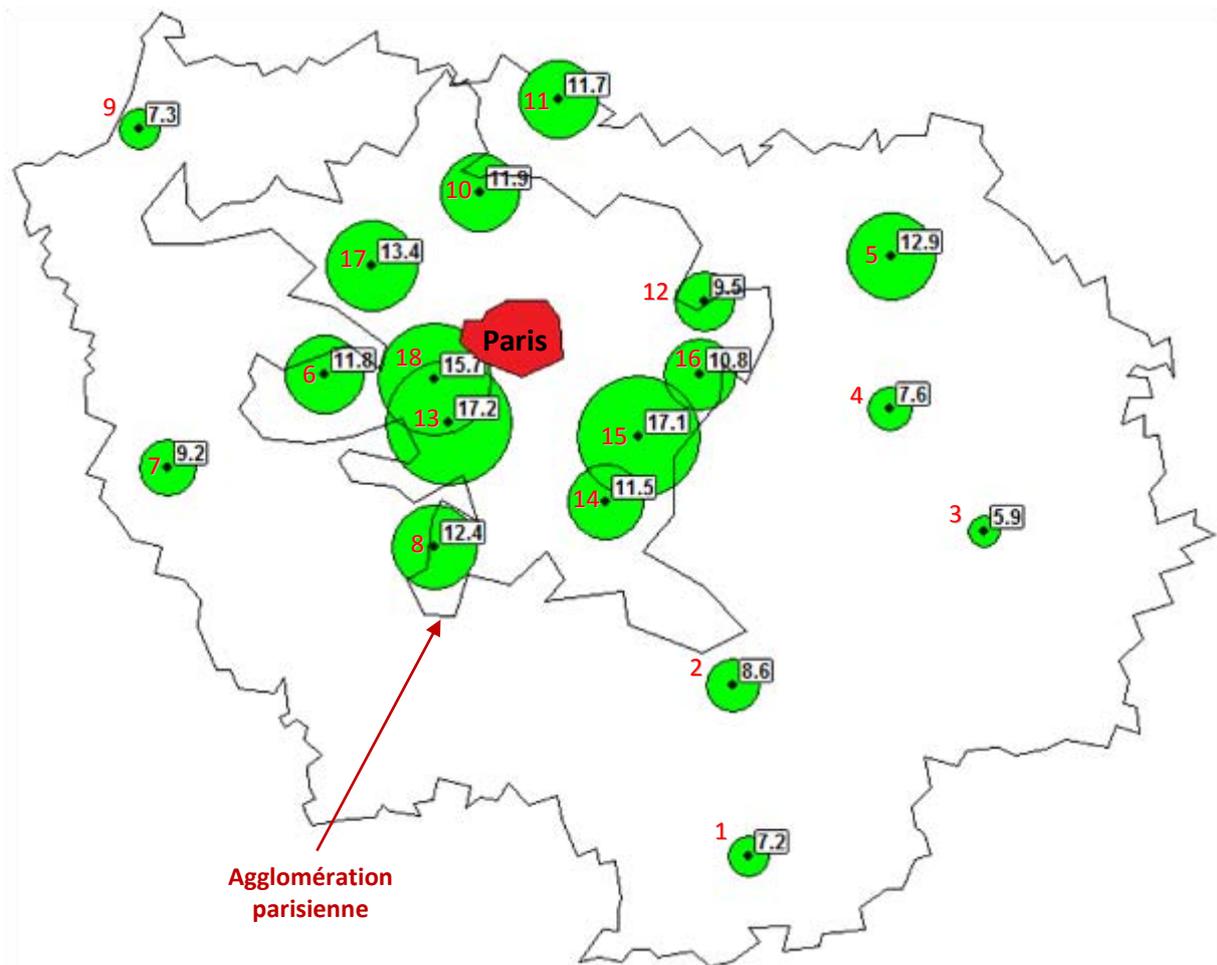


Figure V-26. Distribution spatiale en Île-de-France des teneurs totales en benzo(a)pyrène dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)

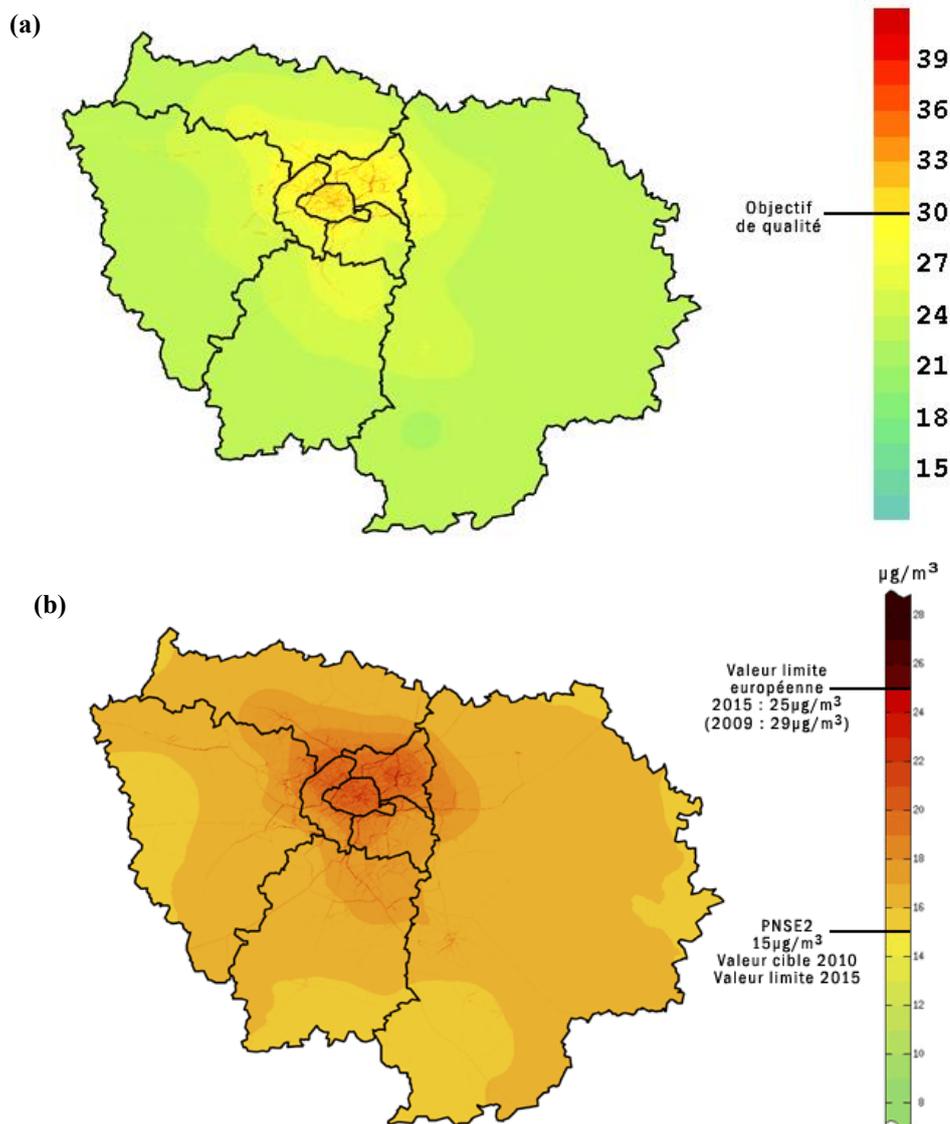


Figure V-27. Moyennes annuelles des concentrations en particules (a) $< 10 \mu\text{m}$ (PM10) et (b) $< 2,5 \mu\text{m}$ (PM2,5) en Île-de-France en 2009 (Source : www.airparif.asso.fr)

Toutefois, ces cartographies sont établies à partir de mesures expérimentales réalisées essentiellement au cœur de l'agglomération parisienne ; seules 4 stations mesurent les PM10 dans les zones rurales situées dans le sud-ouest (Forêt de Fontainebleau, 77), le sud (Bois-Herpin, 91), l'ouest (Prunay-le-Temple, 78) et le nord-ouest (Frémainville, 95). L'absence de mesures dans l'est de la région est probablement source d'une sous-estimation des PM dans le nord-est. En effet, la concentration en benzo(a)pyrène est élevée dans les mousses du site 5 ($12,9 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) alors que la modélisation d'Airparif présume des niveaux de PM relativement faibles. La mesure des HAP dans les mousses permet donc de repérer des points « chauds » de contamination par la pollution atmosphérique qui nécessiteraient davantage de suivi par les Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air.

Les analyses élémentaires des mousses prélevées en Île-de-France ont révélé des teneurs en carbone de 38,4 à 44,6%, avec une moyenne de 42,7% (MS), et en azote de 1,2 à 2,1%, avec une moyenne de 1,6 % (MS) (Tableau V-5). Ces valeurs sont du même ordre que dans les autres régions étudiées (Tableau V-3 et Tableau V-4). Aucune tendance spatiale nette ne se dégage vis-à-vis des sources de pollution d'Île-de-France identifiées précédemment avec les HAP.

Les analyses isotopiques ont donné des rapports $\delta^{13}\text{C}$ de -29,9 à -32,3‰, avec une moyenne de -31,0‰, et des rapports $\delta^{15}\text{N}$ de -8,0 à -3,3‰, avec une moyenne de -6,0‰ (Tableau V-5). Comme en Suisse, les rapports d'isotopes stables de carbone $\delta^{13}\text{C}$ sont significativement inférieurs à ceux de Navarre, traduisant une activité anthropique plus forte. Les valeurs les plus faibles ($< -32\text{‰}$) ont été mesurées sur les sites les plus fortement contaminés par la pollution automobile : les sites 15 (Boissy-St.Léger, 92) et 16 (Collégien), le premier étant situé à proximité de l'autoroute A86, dont la densité du trafic est de 240 000 véhicules par jour dans le secteur sud-est de l'agglomération, et le second étant très proche de l'autoroute A4, qui compte 169 000 véhicules par jour vers Marne-la-Vallée (IAU, 2005). Cependant, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ étant peu dispersées en Île-de-France (écart maximal de 8‰), il paraît difficile de dégager des tendances spatiales nettes sur l'ensemble de la région.

En ce qui concerne les isotopes stables d'azote $\delta^{15}\text{N}$, les valeurs sont similaires en Île-de-France et en Navarre. Or, l'étude des teneurs en HAP dans les mousses a révélé la présence de plus fortes émissions industrielles et urbaines en Île-de-France. Cependant, comme pour le Plateau Suisse, l'Île-de-France est une région d'agriculture intensive. Ainsi les émissions azotées dues à l'agriculture (NH_x) compensent les émissions dues à la combustion en milieu urbain (NO_x), d'où des rapports $\delta^{15}\text{N}$ intermédiaires. La distribution spatiale des rapports $\delta^{15}\text{N}$ (Figure V-28) montre une grande variabilité dans l'agglomération parisienne (-8,0 à -4,0‰) et hors agglomération (-7,0 à -3,3‰). En agglomération, des sites proches présentent des valeurs très différentes, comme par exemple, les sites 13 (Verrières-le-Buisson, 91) et 18 (Chaville, 92) avec des valeurs de -4,9 et -7,5‰ respectivement, alors que ces sites sont éloignés de moins de 10 km. Les émissions atmosphériques locales étant importantes et de diverses origines (trafic, industries, cultures céréalières...), il est difficile d'interpréter les résultats obtenus pour les sites urbains. Hors agglomération, les tendances sont plus claires, avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de -7,0 à -5,2‰ (pour les sites 1-5, 9 et 11), en fonction de la proximité avec les axes routiers. Seul le site 9 (La-Roche-Guyon) présente un rapport $\delta^{15}\text{N}$ significativement plus faible que les autres sites ruraux : -3,3‰. Cette valeur

s'explique par la proximité d'un centre d'incinération de déchets spéciaux situé à 11 km (SARP Industries à Limay).

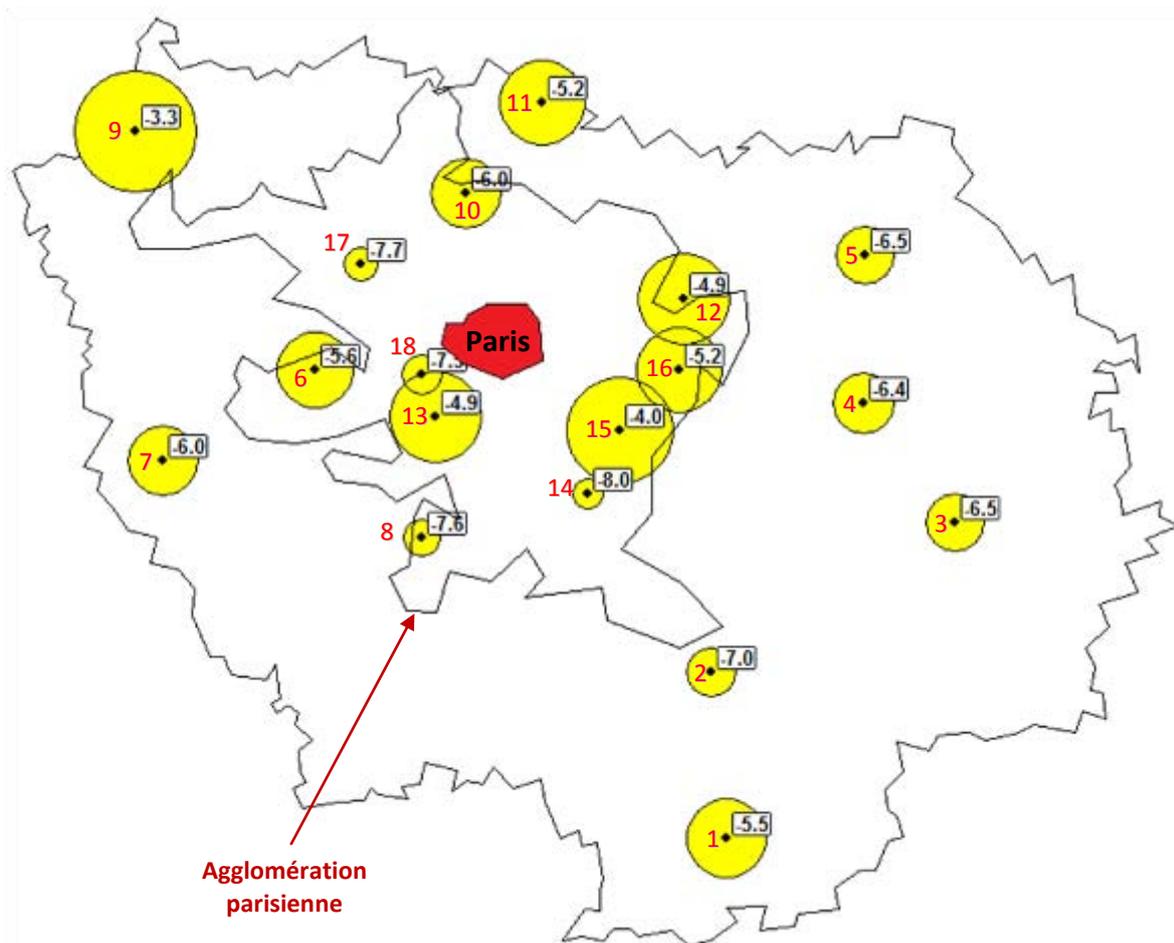


Figure V-28. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevées en Île-de-France du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField[®] (version 2.9.7.0)

Les mousses prélevées en Île-de-France ont globalement présenté des teneurs élevées en HAP, carbone et azote. L'agglomération parisienne est à l'origine d'une contamination régionale, dont seuls quelques sites ruraux sont épargnés. Comme pour les deux autres régions, le trafic routier peut également constituer une contamination atmosphérique locale importante.

V.4.3. ANALYSE MULTIVARIÉE À L'ÉCHELLE EUROPÉENNE

La mesure des concentrations en HAP et des teneurs élémentaires et isotopiques de carbone et d'azote dans les mousses *Hypnum cupressiforme* a permis de comparer les niveaux de contamination atmosphérique de trois régions européennes, de dégager les tendances spatiales au sein de chaque région et d'identifier les sources potentielles de contamination. Afin d'expliquer les tendances observées en Europe avec les méta-données disponibles concernant l'occupation des sols et les paramètres environnementaux, ainsi que pour rechercher d'éventuelles corrélations entre polluants mesurés, une étude statistique multivariée a été réalisée à l'aide des logiciels Unscrambler version 7.5 (Camo, Oslo) et XLSTAT 2008.3.02. (Addinsoft, Paris).

V.4.3.1. Caractérisation statistique des sites d'étude

Dans les paragraphes V.4.1 et V.4.2, l'étude de la contribution des HAP individuels à la concentration totale en HAP a montré que la composition en HAP varie selon les sources d'émission (trafic, industries...) et l'éloignement à la source d'émission (source locale, régionale ou transfrontalière). Afin de caractériser statistiquement les sites des 3 régions européennes en fonction de leurs teneurs en HAP, les données ont été soumises à une Analyse par Composantes Principales. Dans notre cas, les facteurs PC1 et PC2 ont expliqué 63% et 21% de la variance des données de HAP dans les mousses, soit au total 84% de l'ensemble des données expliqués par les deux premiers plans factoriels, ce qui est relativement satisfaisant. L'analyse multivariée par ACP a donc été restreinte à ces deux premiers facteurs, avec une représentation en 2 dimensions (Figure V-29). La première composante principale (PC1) caractérise fortement les HAP les plus lourds (B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) alors que la deuxième composante (PC2) caractérise fortement les composés les plus légers (ACE, FLR) ainsi que le composé majoritaire (PYR). Les autres composés intermédiaires (PHE, FTN, ANT, PYR) ainsi que la concentration totale en HAP ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) sont caractérisés par une combinaison linéaire des deux composantes, avec approximativement le même poids pour chacune d'elles.

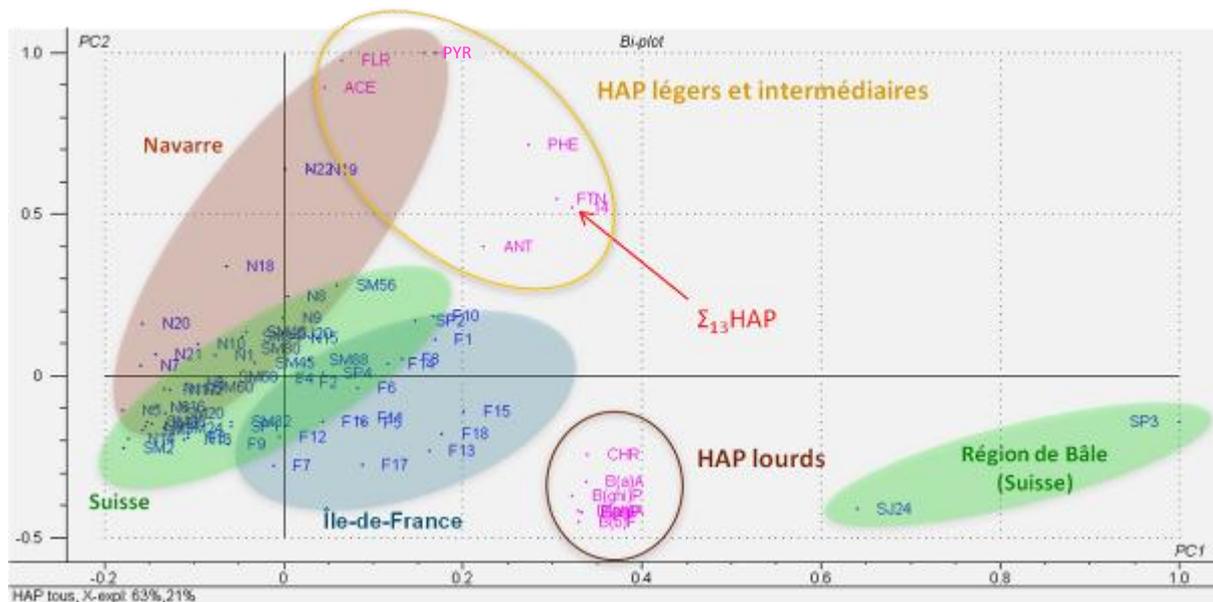


Figure V-29. Analyse par Composantes Principales des concentrations en HAP dans les mousses européennes obtenue avec Unscrambler®

Les individus sont les sites européens, représentés en bleu. Les variables quantitatives sont les concentrations en HAP individuels ($ACE \rightarrow B(ghi)P$) et la concentration totale en HAP ($\Sigma_{13}HAP$) dans les mousses de ces sites, représentées en rose.

La réalisation d'un test de Pearson avec XLSTAT 2008 a permis d'identifier des corrélations très significatives entre :

- la concentration totale en HAP et les concentrations en phénanthrène ($r = 0,903$, $p < 0,01$) et fluoranthène ($r = 0,975$, $p < 0,01$),
- les concentrations de l'ensemble des HAP de la fraction lourde : CHR, B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P, B(ghi)P, D(ah)A ($r \in [0,914 ; 0,997]$, $p < 0,01$).

La concentration totale est corrélée avec les concentrations des composés majoritaires (PHE et FTN), ce qui est cohérent puisque ces derniers ont une contribution importante dans la concentration totale. L'existence de corrélations montre que le phénanthrène et le fluoranthène d'une part, et que les HAP lourds d'autre part, proviennent bien de sources d'émission communes, identifiées précédemment comme étant respectivement le trafic automobile (Ho *et al.*, 2002 ; Omar *et al.*, 2002 ; Orlinski, 2002 ; Ravindra *et al.*, 2006) et l'industrie (Ares *et al.*, 2009 ; Ares *et al.*, 2011).

Les concentrations en HAP mesurées dans les mousses de Navarre (surface brune sur la Figure V-29) sont expliquées principalement par le facteur PC2, les teneurs en HAP lourds étant faibles et peu variables. Les données obtenues pour l'Île-de-France (surface bleue sur la Figure V-29) se distinguent clairement de celles de la Navarre sur l'ACP, car les sites français

sont davantage contaminés par les HAP lourds. Les données de Suisse (surface verte) présentent des caractéristiques communes avec soit la Navarre, soit l'Île-de-France, à l'exception de celles des sites J24 et P3 de la région de Bâle, expliquées quasi-exclusivement par PC1 à cause des teneurs très élevées en HAP lourds. L'ACP permet donc de montrer que, globalement, l'Île-de-France est la région la plus contaminée par l'activité industrielle et que la Navarre est la région la mieux préservée de la pollution d'origine industrielle. Le nord de la Suisse présente quant à lui de grandes disparités, avec des sites ruraux peu contaminés et des sites dans la région de Bâle très contaminés par les industries, nécessitant une surveillance locale. De plus, l'ACP montre des teneurs en HAP majoritaires (FLR, PHE, FTN et PYR) dans les mousses très variables au sein de chaque région, mais globalement similaires entre les régions. Les niveaux globaux de contamination des mousses par le trafic routier dans les trois régions sont donc équivalents. Enfin, on distingue clairement, grâce à l'ACP, des sites caractéristiques évoqués précédemment :

- les sites industrialisés : S_P3 et S_J24 en Suisse, F_13, F_15, F_17 et F_18 en Île-de-France, expliqués par PC1 du fait de leurs teneurs importantes en HAP lourds,
- le site 22 en Navarre, contaminé par une pollution transfrontalière, donc expliqué par PC2 du fait des teneurs élevées en HAP légers,
- les sites contaminés par le trafic automobile : le site 19 en Navarre, M56 en Suisse, 1 et 10 en France, dont les points se rapprochent sur l'ACP des composés majoritaires PHE, FTN et PYR.

Les rapports de diagnostic FTN/(FTN + PYR) et B(a)A/(B(a)A+CHR) présentent des variations significatives entre les 61 sites étudiés en Europe ($p < 0,01$). Ces derniers sont représentés en [Figure V-30](#). Le rapport FTN/(FTN + PYR) s'étend de 0,27 à 0,54 et présente une valeur moyenne de 0,36. Le rapport B(a)A/(B(a)A+CHR) s'étend de 0,13 à 0,56, avec une moyenne à 0,33. Les valeurs de ce rapport sont significativement supérieures ($p < 0,01$) en Île-de-France qu'en Navarre, avec 0,37 contre 0,17 en moyenne. Des études antérieures, menées dans l'air ambiant, ont montré que des rapports de 0,4 à 0,5 pour FTN/(FTN+PYR) et supérieurs à 0,35 pour B(a)A/(B(a)A+CHR) marquent la présence d'émissions provenant de la combustion de carburants fossiles, tandis que des rapports supérieurs à 0,5 pour FTN/(FTN+PYR) et inférieurs à 0,35 pour B(a)A/(B(a)A+CHR) marquent la présence de combustion de charbon, de bois ou de biomasse (De La Torre-Roche *et al.*, 2009 ; Akyüz et Cabuk, 2010). Blasco *et al.* (2006) ont mesuré dans des lichens, prélevés au bord d'une route nationale qui traverse les Pyrénées, des rapports de 0,37-0,57 et 0,41-0,56 pour

FTN/(FTN+PYR) et B(a)A/(B(a)A+CHR) respectivement. Les mousses des sites de la région de Bâle et de l'agglomération parisienne présentent des rapports similaires, ce qui confirme la contamination d'origine urbaine de ces sites. Les sites P3 et J24 à proximité de Bâle se démarquent avec des valeurs pour les deux rapports supérieures à 0,50, qui s'expliquent probablement par la proximité d'industries émettant des HAP. Les mousses des sites situés à proximité d'axes routiers hors zones urbaines, tels que F_1, S_M56 et N_19, sont caractérisées par des rapports FTN/(FTN+PYR) faibles, inférieurs à 0,30, à cause de leur teneur élevée en PYR. Le site de Bertiz présente des rapports très similaires à ces sites, ce qui confirme que le trafic routier est la source principale de HAP dans les mousses du Parc Naturel. Le site d'Irati en Navarre (n°22) se démarque de l'ensemble des autres sites d'Europe par un rapport FTN/(FTN+PYR) faible de 0,27 et un rapport B(a)A/(B(a)A+CHR) très élevé de 0,56. Ces rapports ne correspondent à aucune catégorie de sources d'émission répertoriée dans la littérature. Or, les HAP sont dégradés par des réactions photochimiques lors de leur transport dans l'atmosphère, à des temps de demi-vie variables, ce qui influe sur les rapports de diagnostic (Tobiszewski et Namiesnik, 2012). Les rapports de diagnostic de ce site appuient donc l'hypothèse précédente d'une contamination d'origine transfrontière.

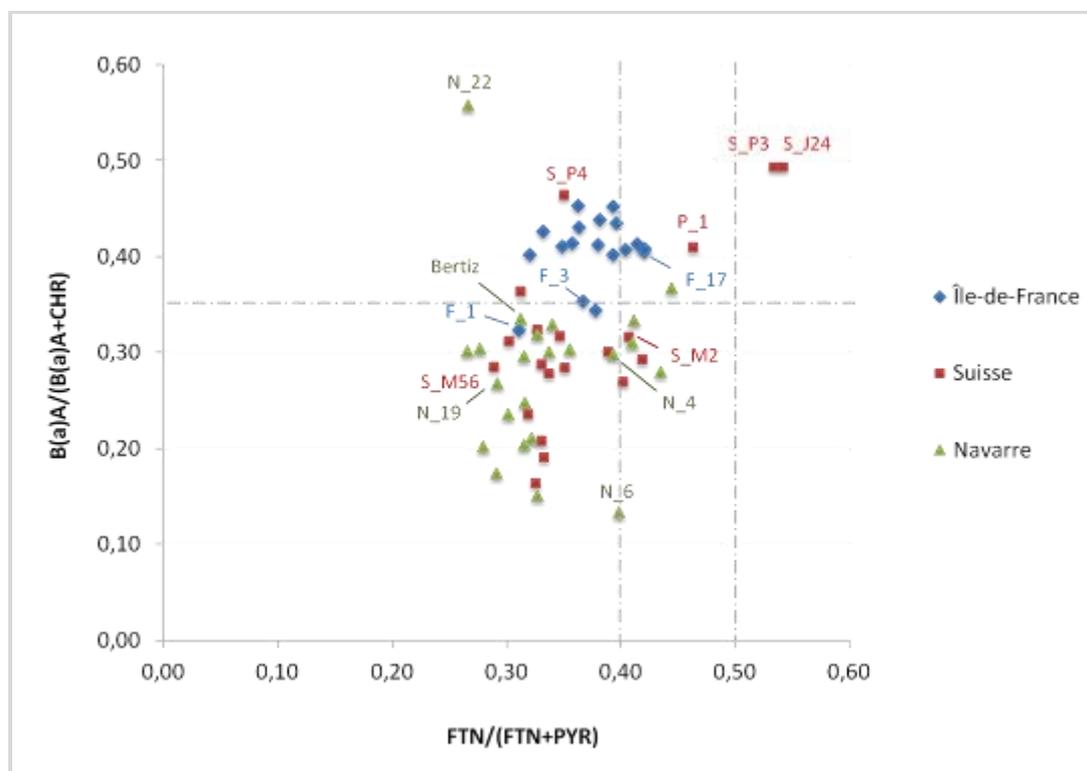


Figure V-30. Rapports de diagnostic B(a)A/(B(a)A+CHR) en fonction de FTN/(FTN+PYR) dans les mousses *Hypnum cupressiforme* prélevés en 2010 sur 61 sites d'Île-de-France, Suisse et Navarre

Les teneurs élémentaires et isotopiques en carbone et azote ont également été soumises à une ACP (Figure V-31). Les deux premières composantes principales (F1 et F2) expliquent 66% des données, ce qui est plus faible que pour les HAP. La composante principale F1 caractérise fortement les teneurs en C (corrélation négative) ainsi que les teneurs en N et $\delta^{15}\text{N}$ (corrélations positives). La composante F2 caractérise fortement les rapports $\delta^{13}\text{C}$ et faiblement les rapports $\delta^{15}\text{N}$ (corrélations positives).

Le test de Pearson a montré une faible corrélation entre les teneurs en N et $\delta^{15}\text{N}$ ($r = 0,305$, $p < 0,05$). Ainsi pour l'ensemble des échantillons étudiés, on observe des tendances communes : ceux qui contiennent plus d'azote présentent généralement des rapports $\delta^{15}\text{N}$ plus élevés. Les sites contaminés par les NO_x provenant de phénomènes de combustion, généralement émis par le trafic routier, présentent donc globalement des teneurs en azote plus élevés.

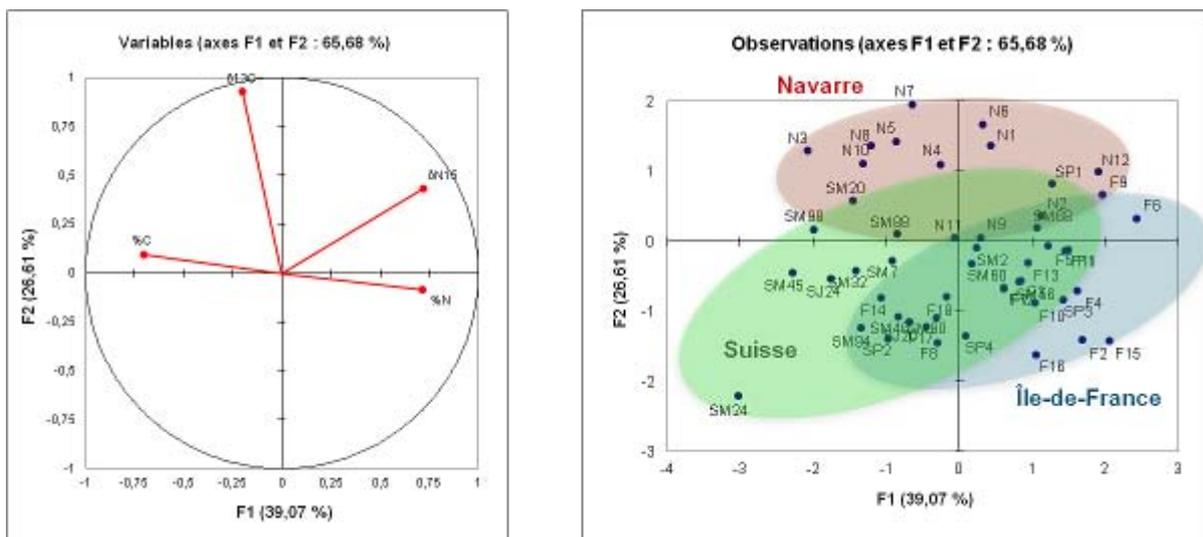


Figure V-31. Analyse par Composantes Principales des teneurs en carbone et azote et des rapports des isotopes stables de ces éléments dans les mousses européennes, obtenue avec XLSTAT 2008®

Les individus sont les sites européens, représentés en bleu (à droite). Les variables quantitatives sont les teneurs en carbone (%C) et en azote (%N), ainsi que les rapports isotopiques de carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et d'azote ($\delta^{15}\text{N}$) dans les mousses de ces sites, représentés en rouge dans le cercle des corrélations (à droite).

La distribution des individus reflète les observations faites précédemment, notamment que les données de Navarre sont caractérisées par des rapports $\delta^{13}\text{C}$ globalement plus élevés que les deux autres régions (corrélés avec F2) et celles de Suisse par des rapports $\delta^{15}\text{N}$ plus faibles (davantage de corrélations négatives avec F1). Les sites montrant des valeurs caractéristiques ressortent également :

- les sites contaminés par l'agriculture intensive, notamment le site M24 en Navarre, dont les valeurs sont fortement anti-corrélées avec F1 et F2.
- les sites urbains, contaminés par le trafic routier, comme par exemple les sites 15 et 16 en Île-de-France ou P3 en Suisse, dont les valeurs sont fortement corrélées avec F1 et anti-corrélées avec F2.

Le test de Pearson a montré une corrélation négative entre le rapport d'isotopes stables de carbone $\delta^{13}\text{C}$ et le fluoranthène, l'ensemble des HAP lourds (B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) et la concentration totale en HAP ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) ($r \in [-0,431 ; -0,302]$, $p < 0,01$). Globalement, les sites les plus contaminés par les HAP sont donc ceux présentant les rapports $\delta^{13}\text{C}$ les plus faibles. Ainsi, les sites dont les mousses sont les plus contaminées par le CO_2 d'origine anthropique sont généralement ceux qui présentent les concentrations les plus élevées en HAP. Cette tendance est probablement liée à l'émission simultanée de l'ensemble de ces polluants lors de phénomènes de combustion de matières fossiles et de biomasse.

Pour ce qui est de l'azote, ses teneurs et les rapports de ses isotopes stables sont faiblement corrélés avec les teneurs en HAP lourds tels que le benzo(a)anthracène, le chrysène, le benzo(b)fluoranthène et le benzo(k)fluoranthène ($r \in [0,253 ; 0,283]$, $p < 0,05$). Ainsi, les sites les plus contaminés par les HAP lourds sont ceux présentant les rapports $\delta^{15}\text{N}$ les plus élevés. On en déduit que les mousses des sites les plus contaminés par les émissions de NO_x , provenant de phénomènes de combustion, sont donc généralement ceux qui présentent les concentrations les plus élevées en HAP lourds. Cependant, il est difficile d'observer des tendances générales entre l'ensemble des HAP et les rapports d'isotopes stables d'azote, du fait de la plus grande multiplicité des sources d'azote.

IV.4.3.2. Influence de l'occupation des sols

La méthode de régression des moindres carrés partiels ou *Partial Least Squares* (PLS) permet de relier une variable ou plusieurs variables quantitatives à expliquer (Y) avec plusieurs variables explicatives (X), l'objectif étant d'interpréter les relations entre les variables Y et X. C'est une méthode de modélisation linéaire où l'information contenue dans les variables X originales est projetée sur un petit nombre de variables sous-jacentes appelées composantes PLS ou facteurs. Le choix de ces composantes est dicté en fonction des covariances maximales X/Y par une procédure itérative. L'interprétation de la relation entre les variables X et les variables Y est alors simplifiée, puisque cette relation est basée sur une suite de composantes PLS qui seront orthogonales entre elles par construction et les moins nombreuses possible (Tenenhaus, 1998). Pour cette étude, la PLS a été utilisée afin de relier les concentrations en polluants mesurées dans les mousses (Y) aux méta-données disponibles concernant les sites d'échantillonnage (X).

Afin d'expliquer la distribution spatiale des teneurs en HAP dans les mousses, une PLS a été réalisée avec les données relatives à l'occupation des sols, obtenues à partir de la cartographie « CORINE Land Cover » réalisée en 2000 dans le cadre du programme CORINE (*COoRdination of INformation on the Environment*) de la Commission Européenne. La base de données fournit le pourcentage de surface de sol occupé par les zones urbaines, agricoles et forestières autour des sites de prélèvement. Les données, disponibles pour des rayons de 10, 25 ou 50 km autour des sites pour les 3 types d'occupation et pour des rayons de 50 et 100 km pour les zones urbaines, figurent en Annexe VII. L'occupation moyenne des sols dans un rayon de 10 km autour des sites de prélèvement est représentée en Figure V-32.

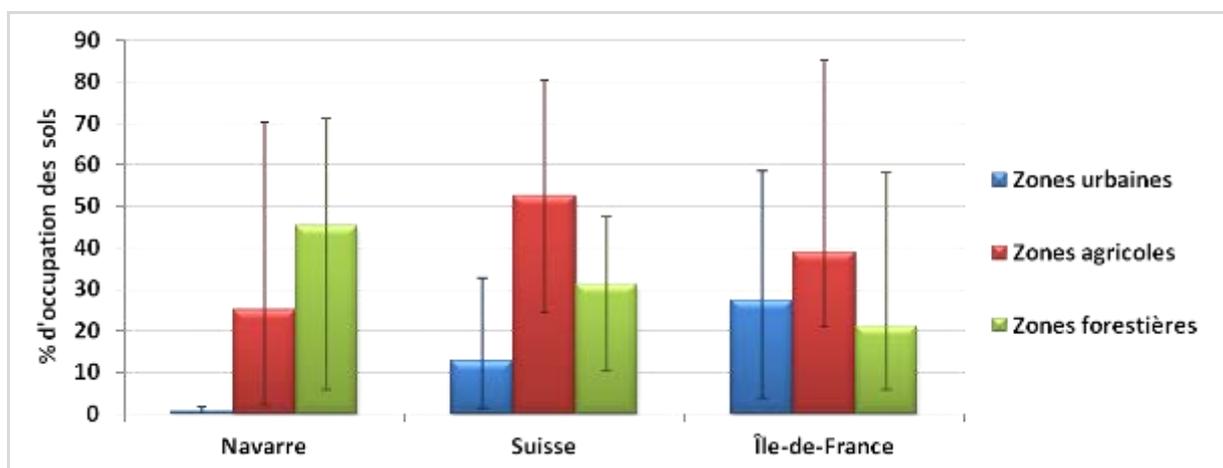


Figure V-32. Pourcentages moyens d'occupation des sols à un rayon de 10 km autour des sites des trois régions d'étude (Source : <http://www.eea.europa.eu/publications/COR0-landcover>). Les barres d'erreur représentent les valeurs minimales et maximales.

Globalement, l'Île-de-France est la région la plus urbanisée, avec une moyenne de 27% d'occupation par les villes, contre 13% en Suisse et 1% en Navarre. Le nord de la Suisse est la région la plus agricole, avec en moyenne 52% d'occupation agraire, suivi par l'Île-de-France avec 39% et la Navarre avec 25%. Le nord de la Navarre est lui occupé par une surface importante de forêts, avec 45% des surfaces à 10 km autour des sites de prélèvements. Il est à noter toutefois que des contrastes très importants existent au sein des différentes régions.

La PLS a donné un cercle de corrélations caractérisé par une composante t1 corrélée négativement avec les taux d'urbanisation à 10-100 km et corrélée négativement avec le taux de surface forestière à 10-50 km, ainsi qu'une composante t2 corrélée positivement avec les taux de zones agraires à 10-50 km (Figure V-33).

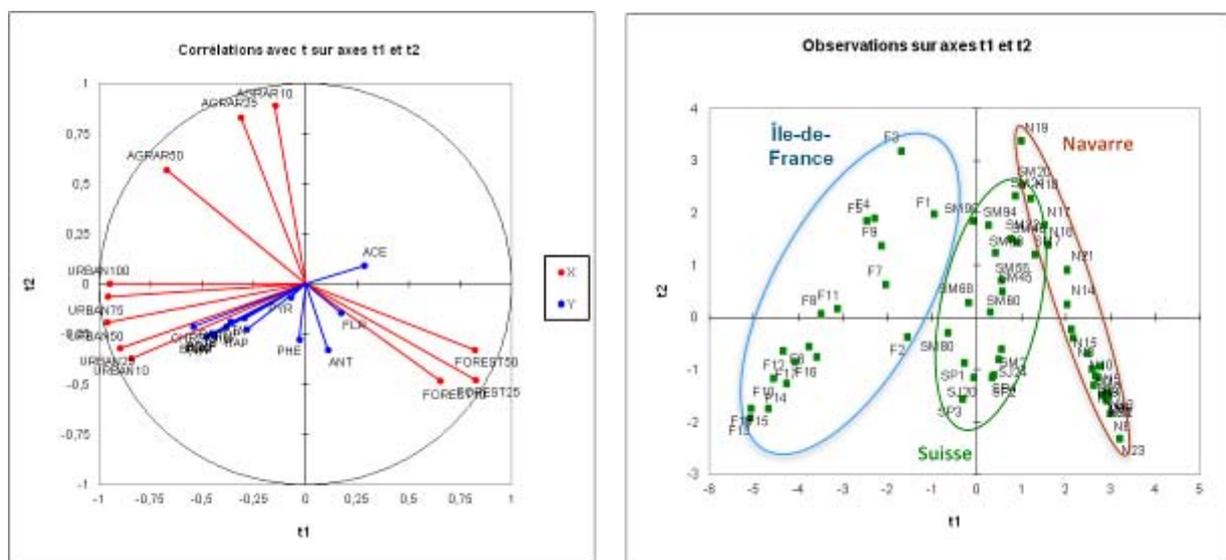


Figure V-33. Représentation graphique de la régression des moindres carrés partiels (PLS) des teneurs en HAP dans les mousses en fonction des données d'occupation des sols (variables explicatives X) pour les 61 sites de prélèvement en Europe, obtenue avec XLSTAT 2008®

Les individus sont les sites européens, représentés sur le graphique de droite. Sur le cercle des corrélations (à gauche) se trouvent les variables quantitatives Y, les teneurs en HAP individuels et la concentration totale (HAP) dans les mousses, et les variables explicatives X, les pourcentages d'occupation des sols (URBAN : zones urbaines, AGRAR : zones agraires, FOREST : zones forestières, dans un rayon de 10 à 100 km).

Les concentrations en HAP sont majoritairement expliquées par la composante t1. La présence ou l'absence de zones agraires autour des sites de prélèvement n'a donc pas une influence significative sur les teneurs en HAP dans les mousses. Les concentrations totales en HAP et les concentrations individuelles en fluoranthène et en HAP lourds sont anti-corrélées avec t1. Les zones les plus contaminées par les HAP correspondent donc aux zones urbaines. Les corrélations les plus significatives sont observées avec les taux d'urbanisation dans un

rayon de 10 km (*URBAN 10*), avec des coefficients de corrélation de 0,340 pour la somme des teneurs en HAP, 0,343 pour le fluoranthène et 0,393-0,553 pour les HAP lourds ($p < 0,05$). Inversement, les zones forestières sont marquées par de faibles concentrations totales en HAP et par la présence majoritairement de HAP légers (ACE et FLR). On distingue clairement les individus en fonction de leur région d'origine :

- les sites d'Île-de-France (entourés en bleu), corrélés négativement avec t1, reflétant des taux d'urbanisation élevés associés,
- les sites de Navarre (entourés en marron), corrélés positivement avec t1, du fait de la présence d'une surface importante de forêts et surtout d'une urbanisation très faible,
- les sites de Suisse (entourés en vert) peu corrélés avec t1, à cause d'une urbanisation moins forte qu'en Île-de-France et des zones forestières moins nombreuses qu'en Navarre.

Les individus sont fortement dispersés par la composante t2, car les trois régions présentent des taux de zones agraires très variables en fonction des sites de prélèvement.

Vis-à-vis des teneurs totales en HAP, les individus sont mal représentés par cette PLS, car les composés majoritaires fluorène, phénanthrène et surtout pyrène sont faiblement corrélés avec t1 ou t2. Par exemple, le site F1 du sud de l'Île-de-France, situé en zone rurale mais à proximité d'une autoroute, est l'individu le moins anti-corrélé avec t1 alors que les mousses de ce site présentent la teneur totale en HAP la plus élevée de la région. Ceci s'explique par le fait que la contamination est majoritairement due aux émissions du trafic routier, dont les axes s'étendent dans les zones rurales. En revanche, la PLS permet une assez bonne représentation des individus en fonction de leur composition en HAP lourds, puisqu'on retrouve les valeurs les plus élevées pour les sites de l'agglomération parisienne et de la région de Bâle. Ceci est dû au fait que les HAP lourds proviennent majoritairement des industries et que ces dernières se concentrent dans les zones urbaines. Cependant, la corrélation entre les teneurs en HAP lourds et les taux d'urbanisation faible est relativement faible ($r < 0,553$, $p < 0,05$) car le taux d'urbanisation est variable en fonction des zones urbaines étudiées.

V.4.3.3. Influence de paramètres environnementaux

Les HAP présents dans les mousses proviennent des dépôts atmosphériques, influencés d'une part par l'émission par des sources variées et plus ou moins éloignées du site de prélèvement, et d'autre part par des paramètres environnementaux qui influent sur la composition en HAP atmosphériques et sur le processus de dépôt. Il s'agit de paramètres géomorphologiques (relief, pente...) et climatologiques (chaleur, radiation solaire, pluviométrie, vents...). L'altitude du site de prélèvement a été identifiée dans la littérature comme étant un paramètre important influençant les teneurs en métaux lourds (Zechmeister, 1995 ; Gerdol *et al.*, 2002a) et en HAP (Liu *et al.*, 2005) dans les mousses. De plus, nous avons vu au Chapitre III, que les teneurs en HAP dans les mousses de Bertiz suivent des tendances saisonnières, dues en partie aux précipitations. Il s'agira donc ici de rechercher d'éventuelles corrélations entre les concentrations en polluants mesurées dans les mousses et l'altitude des points de prélèvement ainsi que la pluviométrie au niveau de ces sites.

Les sites de prélèvement choisis en Europe se situent à des altitudes de 43-183 m en Île-de-France, 351-685 m en Suisse et 215-1220 m en Navarre. Les altitudes des 61 sites sont répertoriées en Annexe VI. Une PLS a été réalisée avec l'altitude comme variable explicative (X) des concentrations en polluants mesurés dans les mousses (Y). Des corrélations négatives significatives ont été montrées entre l'altitude des sites de prélèvement et les concentrations en HAP lourds dans les mousses : B(a)A ($r = -0,707$, $p < 0,05$), CHR ($r = -0,661$, $p < 0,05$), B(b)F ($r = -0,720$, $p < 0,05$), B(k)F ($r = -0,701$, $p < 0,05$), D(ah)A ($r = -0,661$, $p < 0,05$) et B(ghi)P ($r = -0,576$, $p < 0,05$). Les mousses des sites situés en altitude présentent donc des teneurs en HAP lourds plus faibles. Ceci est probablement dû au phénomène de fractionnement des HAP en altitude, lié d'une part à la sédimentation des particules au contact du relief, et d'autre part à une condensation plus importante à cause des pressions de vapeur moins importantes (Liu *et al.*, 2005).

Une corrélation significative entre l'altitude et le rapport d'isotopes stables de carbone $\delta^{13}\text{C}$ a également été montrée ($r = 0,506$, $p < 0,05$). Ainsi les mousses des sites localisés en altitude sont enrichies en ^{13}C , c'est-à-dire qu'elles contiennent moins de carbone émis par des sources anthropiques. Ce résultat s'explique par des températures et des pressions de vapeur plus faibles dans l'atmosphère en altitude qui réduisent l'activité photosynthétique (Körner *et al.*, 1991).

Afin d'étudier l'influence des précipitations sur les teneurs en HAP dans les mousses de Navarre, la pluviométrie annuelle (septembre 2009-octobre 2010) et mensuelle (28 jours précédents l'échantillonnage) a été calculée à partir des données journalières fournies par les stations météorologiques du Gouvernement de la Navarre (Tableau V-6). L'ensemble des stations choisies se situent à moins de 10 km des sites de prélèvement de mousses. Avec les précipitations annuelles, on retrouve le gradient nord-sud présenté dans la Figure V-4a : < 500 mm pour le site le plus méridional (site 19) à 1900 mm pour le site 22 dans le nord-est de la Navarre. Les précipitations pendant le mois précédent l'échantillonnage (septembre 2010) ont contribué à 1-10 % des précipitations annuelles avec des disparités géographiques : le nord-est a connu de fortes précipitations, alors que le nord-ouest a été relativement peu arrosé. Une PLS a été réalisée avec la pluviométrie annuelle et mensuelle comme variables explicatives des teneurs en HAP, C, N et de leurs isotopes stables dans les mousses. Aucune corrélation significative n'a été observée.

Les précipitations annuelles moyennes des sites de Suisse sur la période 2003-2007 ont été fournies par Meteotest (Annexe VIII). Les valeurs s'étendent de 826 à 1214 mm.an⁻¹. Aucune corrélation n'a été montrée avec les teneurs en HAP, C, N et les isotopes stables de N et C.

Les précipitations annuelles de 2010 ont été calculées pour les différents sites d'Île-de-France à l'aide des données SIM de MétéoFrance (Annexe VIII). La pluviométrie varie de 582 à 755 mm.an⁻¹ entre les sites. La PLS n'a montré aucune corrélation avec les teneurs en C, N et les isotopes stables de N et C. En revanche, elle a montré une corrélation négative significative ($p < 0,01$) entre les précipitations d'Île-de-France et les teneurs en B(a)A ($r = -0,518$), B(b)F ($r = -0,547$), B(k)F ($r = -0,551$), B(a)P ($r = -0,456$) et D(ah)A ($r = -0,438$) dans les mousses de cette région. Cette tendance pourrait provenir d'un lessivage de la phase particulaire par les précipitations, entraînant les HAP lourds sorbés aux particules. Elle n'est apparue qu'en Île-de-France, probablement car il s'agit de la région la plus contaminée par les HAP lourds.

Enfin, une PLS a été réalisée avec l'ensemble des données de pluviométrie des 61 sites européens et les teneurs en HAP, C, N ainsi que leurs isotopes stables dans les mousses. Aucune corrélation n'a pu être montrée. Ainsi, les précipitations ne sont pas le facteur prépondérant de la distribution spatiale des polluants dans les mousses.

Tableau V-6. Données de pluviométrie des stations météorologiques de Navarre, situées dans un rayon de 10 km des sites de prélèvement (Source : <http://meteo.navarra.es>)

Site	Précipitations annuelles (L.m ⁻²)	Précipitations mensuelles (L.m ⁻²)
N_1	1585	54
N_2	1366	69
N_3	1843	89
N_4	1572	55
N_5	1177	41
N_6	1545	72
N_7	733	10
N_8	793	25
N_9	1215	27
N_10	1095	34
N_11	1199	31
N_12	1512	45
N_13	1483	64
N_14	781	53
N_15	893	55
N_16	713	46
N_17	713	46
N_18	568	37
N_19	377	19
N_20	1053	100
N_21	1491	129
N_22	1900	175
N_23	1362	142

V.4.3.4. Comparaison avec les données de métaux lourds

Afin de compléter l'étude de biosurveillance des HAP atmosphériques à l'échelle européenne, une comparaison a été réalisée avec les concentrations en éléments traces métalliques. Les échantillons de *Hypnum cupressiforme* destinés à l'analyse des métaux lourds ont été prélevés lors de la campagne d'échantillonnage de 2010 du programme PIC-Végétation sur les mêmes sites et aux mêmes dates que ceux destinés à l'étude des HAP. Les résultats ont été mis à notre disposition par Lötti Thöni pour la Suisse et Jesús Miguel Santamaría pour la Navarre. Les analyses des mousses espagnoles ont été réalisées par Laura Gonzalez-Miqueo dans le cadre de sa thèse (Gonzalez-Miqueo, 2009). Les résultats obtenus en Suisse et en Navarre sont présentés en Annexe IX.

Des tests de Pearson réalisés sur les résultats de Suisse ont montré des corrélations très significatives ($p < 0,01$) entre les concentrations de tous les HAP lourds (B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) et certains métaux lourds : l'argent ($r > 0,677$), le bismuth ($r > 0,827$), le cadmium ($r > 0,605$), le cobalt ($r > 0,789$), le plomb ($r > 0,823$) et le zinc (0,935) (Tableau V-7). Il en résulte des corrélations significatives entre la concentration totale en HAP et ces métaux ($r > 0,544$, $p < 0,01$). Ce constat est d'autant plus intéressant que les concentrations en métaux lourds présentent des ordres de grandeur différents, avec par exemple pour le bismuth 0,01 à 0,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pour le cobalt 0,13 à 0,73 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pour le plomb 1,95 à 6,53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et pour le zinc 17,09 à 170,25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Ainsi les métaux Ag, Bi, Cd, Co, Pb et Zn et les HAP lourds semblent provenir d'une source d'émission commune. Les concentrations élevées en HAP lourds étant mesurées au niveau des sites de la région de Bâle, on en déduit que ces polluants proviennent de sources industrielles.

En Navarre, des corrélations significatives ($p < 0,01$) ont également été observées entre les concentrations de certains HAP et métaux lourds : Cu, Hg, Pb, Sb et Zn (Tableau V-8). Les concentrations en cuivre (2,34-7,67 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) sont significativement corrélées avec celles du B(b)F et B(k)F ($r > 0,501$), celles du mercure (0,02-0,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) avec B(b)F, B(k)F, B(a)P et B(ghi)P ($r > 0,568$), celles du plomb (1,02-10,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) avec B(b)F, B(k)F, B(a)P et B(ghi)P ($r > 0,494$), celles de l'antimoine (0,04-0,12 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) avec B(b)F, B(a)P et B(ghi)P ($r > 0,518$) et celles du zinc (12,66-37,85 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) avec B(b)F, B(k)F, B(a)P et B(ghi)P ($r > 0,539$). Des études antérieures menées avec des mousses ont montré que ces éléments sont des marqueurs des émissions du trafic routier (Pearson *et al.*, 2000 ; Zechmeister *et al.*, 2006).

Tableau V-7. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations en HAP lourds ou la concentration totale en HAP ($\Sigma_{13}HAP$) et les métaux lourds dans les mousses prélevées en Suisse

r (p < 0,01)	B(a)A	CHR	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	$\Sigma_{13}HAP$
Ag	0,727	0,741	0,737	0,737	0,706	0,677	0,692	0,627
Bi	0,877	0,827	0,896	0,884	0,876	0,852	0,879	0,644
Cd	0,666	0,667	0,662	0,660	0,639	0,605	0,632	0,544
Co	0,827	0,794	0,836	0,824	0,820	0,789	0,815	0,650
Pb	0,854	0,843	0,863	0,857	0,842	0,823	0,838	0,691
Zn	0,958	0,935	0,980	0,977	0,969	0,962	0,965	0,721

Tableau V-8. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations de certains HAP lourds et métaux lourds dans les mousses prélevées en Navarre

r (p < 0,01)	B(b)F	B(k)F	B(a)P	B(ghi)P
Cu	0,501	0,569	ns	ns
Hg	0,681	0,684	0,568	0,679
Pb	0,592	0,494	0,551	0,568
Sb	0,518	ns	0,575	0,570
Zn	0,665	0,598	0,595	0,539

ns : coefficient non significatif

V.4.3.5. Comparaison avec les données de qualité de l'air

Les teneurs moyennes annuelles en NH₃, NO₂ et PM10 dans l'air ambiant ont été fournies pour 2008, 2009 et 2010 par Meteotest pour les 20 sites de Suisse (Annexe X). Des tests de corrélation ont été réalisés avec les mesures des teneurs en HAP, carbone, azote et des signatures isotopiques du C et N dans les mousses (Tableau V-9). Les teneurs en NH₃ et NO₂ sont anti-corrélées ($r = -0,677$, $p < 0,01$) et les teneurs en NO₂ et PM10 sont significativement corrélées ($r = 0,622$, $p < 0,01$). Aucune corrélation n'a été montrée entre l'ammoniac et les mesures réalisées dans les mousses. Des corrélations faiblement significatives ont été montrées entre le dioxyde d'azote et le phénanthrène ($r = 0,527$, $p < 0,01$), le benzo(a)anthracène ($r = 0,507$, $p < 0,01$) et le chrysène ($r = 0,521$, $p < 0,01$), ainsi qu'entre les PM10 et le fluoranthène ($r = 0,513$, $p < 0,01$) et les teneurs en azote ($r = 0,547$, $p < 0,01$). Le dioxyde d'azote et les PM10 sont émis lors de processus de combustion, ce qui explique des tendances communes avec les HAP. Il est toutefois difficile de dégager des tendances générales.

Tableau V-9. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations en HAP dans les mousses (ng.g⁻¹) et les teneurs en NH₃, NO₂ et PM10 dans l'air ambiant (µg.g⁻¹)

r (p < 0,01)	NH₃	NO₂	PM10
NH₃	1		
NO₂	-0,676	1	
PM10	-0,450	0,622	1
ACE	0,268	-0,024	0,160
FLR	-0,084	0,371	0,159
PHE	-0,159	0,527	0,472
ANT	-0,172	0,335	0,499
FTN	-0,174	0,465	0,513
PYR	0,049	0,140	0,371
B(a)A	-0,266	0,507	0,381
CHR	-0,238	0,521	0,417
B(b)F	-0,247	0,467	0,348
B(k)F	-0,247	0,486	0,358
B(a)P	-0,255	0,464	0,367
D(ah)A	-0,223	0,448	0,333
B(ghi)P	-0,233	0,452	0,351
ΣHAP	-0,185	0,482	0,460
δN15	-0,345	0,205	0,437
%N	-0,052	0,188	0,546
δ13C	0,367	-0,344	-0,222
%C	0,179	-0,317	-0,310

V.5. Conclusion

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité des mousses à intégrer la variabilité spatiale des retombées atmosphériques de HAP à une échelle régionale et à permettre l'identification des sources et des niveaux de pollution des régions étudiées. La mesure des teneurs en HAP, carbone, azote et des rapports d'isotopes stables de C et N dans les mousses pleurocarpes *Hypnum cupressiforme* échantillonnées sur 61 sites de trois pays d'Europe a permis de dégager des tendances à l'échelle régionale et de caractériser les sources d'émission de HAP au niveau des trois régions étudiées de manière qualitative :

- (1) Le Nord de la Navarre est la région la moins contaminée, avec des teneurs en HAP dans les mousses globalement faibles de 100 à 356 ng.g⁻¹, dues essentiellement au trafic routier qui transite vers la France et le reste de l'Espagne. Les mousses du site d'Irati, situé dans les Pyrénées à la frontière avec la France, présentent des teneurs en HAP à 2 et 3 cycles aromatiques élevés, dues à une pollution d'origine transfrontière. Par rapport aux autres régions, les mousses de Navarre sont enrichies en ¹³C (rapport $\delta^{13}\text{C}$ élevé), ce qui reflète des émissions de CO₂ plus faibles. L'urbanisation et l'agriculture étant peu développées, le rapport $\delta^{15}\text{N}$ ne présente pas de valeurs extrêmes.
- (2) La Suisse présente la plus grande variabilité de niveaux de contamination des mousses, avec des teneurs totales en HAP de 98 à 698 ng.g⁻¹. La région située entre Berne, Zürich et Bâle est marquée par des teneurs élevées en HAP, faibles en ¹³C et très variables en ¹⁵N, en relation avec les émissions de HAP, CO₂ et NO_x provenant des nombreuses zones urbaines et des axes routiers qui les lient, ainsi que les émissions de NH_x issues de l'agriculture intensive. La région de Bâle est fortement contaminée par les HAP lourds provenant de l'industrie, mais cette pollution est très locale, car elle décroît rapidement lorsqu'on s'éloigne des sources d'émission.
- (3) L'Île-de-France présente des teneurs en HAP de 149 à 360 ng.g⁻¹ dans les mousses. Cette région est globalement la plus industrialisée des trois régions étudiées. Il en résulte que l'ensemble des sites présentent des teneurs élevées en HAP lourds. Le trafic routier est également une source importante de contamination des mousses, avec

des teneurs totales en HAP importantes et un appauvrissement des mousses en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$ faible) au niveau de l'agglomération parisienne et à proximité des autoroutes. C'est également une région impactée par l'agriculture, avec des $\delta^{15}\text{N}$ faibles au niveau de certains sites, mais dans une moindre mesure que la Suisse.

Afin d'expliquer statistiquement les teneurs mesurées dans les mousses, des analyses multivariées ont été réalisées avec des méta-données caractérisant les activités anthropiques et les paramètres environnementaux des régions d'étude : l'occupation des sols, l'altitude des sites et la pluviométrie annuelle. De plus, elles ont été comparées avec les teneurs en métaux lourds mesurées dans des mousses échantillonnées sur les mêmes sites d'étude et des données de qualité de l'air.

La présence d'une urbanisation importante dans un rayon de 10 km autour des sites semble conduire à des teneurs importantes en HAP les plus lourds (B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P), qui constituent les composés les plus toxiques. Ainsi, les teneurs en HAP sont corrélées aux teneurs en particules PM10 dans l'air ambiant, dont les concentrations sont importantes en milieu urbain. Des corrélations sont apparues entre les teneurs des mousses en HAP lourds et en métaux lourds : Ag, Bi, Cd, Co, Pb et Zn en Suisse et Cu, Hg, Pb, Sb et Zn en Navarre, caractérisant respectivement des sources industrielles et routières. Les mousses les plus contaminées par les HAP lourds ont également tendance à contenir plus d'azote et à présenter des rapports $\delta^{15}\text{N}$ élevés. Ceci s'explique par la corrélation entre les teneurs en NO_2 dans l'air ambiant et les teneurs en HAP dans les mousses, due à l'existence de sources d'émission communes des HAP et des oxydes d'azote. En effet, le NO_2 est formé par oxydation du NO émis par les processus de combustion, en particulier par le trafic automobile. Une tendance inverse apparaît pour les rapports $\delta^{13}\text{C}$ qui sont très faibles lorsque l'urbanisation dans un rayon de 10 km est importante, du fait d'émissions importantes de CO_2 d'origine anthropique appauvri en ^{13}C .

Les mousses sont aussi marquées par un appauvrissement en HAP lourds et un enrichissement en ^{13}C avec l'altitude, qui influe sur les teneurs en polluants dans l'atmosphère. Une faible corrélation négative entre la pluviométrie annuelle et les teneurs en HAP lourds dans les mousses a également été observée en Île-de-France, où les teneurs de ces composés sont globalement élevées par rapport aux autres régions étudiées. Elle s'explique par un hypothétique lessivage par les précipitations des particules présentes à la surface des mousses.

Afin de compléter l'interprétation, il faudrait tenir compte des données d'émission de l'ensemble des sources fixes et mobiles et de la distance à laquelle se trouvent ces sources, ainsi que de l'ensemble des paramètres environnementaux de la région (climat, relief...) et du site d'étude (végétation, pente...). Un système d'information géographique (SIG) nommé *MossMet* a été créé par des participants du PIC-Végétation afin de pouvoir relier les mesures réalisées dans les mousses aux nombreuses méta-données (Kleppin *et al.*, 2007 ; Pesch *et al.*, 2007 ; Kleppin *et al.*, 2008). Cependant, cet outil ne peut donner des résultats concluants que si les données proviennent de plusieurs centaines de sites.

Les teneurs en HAP mesurées dans les mousses *Hypnum cupressiforme* d'Île-de-France, de Suisse et de Navarre seront communiquées très prochainement au centre de coordination du programme PIC-Végétation. Les données seront compilées avec celles obtenues par d'autres participants du programme, puis soumises à des analyses multivariées afin de dégager des tendances à l'échelle européenne. Un rapport concernant le projet pilote de mesure des POP à l'aide de mousses paraîtra en 2013.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les bryophytes constituent des outils reconnus pour la biosurveillance des retombées de polluants atmosphériques et sont utilisées depuis une trentaine d'années pour l'étude des dépôts atmosphériques de métaux lourds. Une attention particulière est portée actuellement sur les polluants organiques persistants, dont les effets sanitaires et écotoxicologiques sont tout aussi graves. Toutefois, leur mesure à l'échelle européenne dans les dépôts est restreinte à quelques sites gérés par le programme EMEP (*European Monitoring and Evaluation Programme*), mis en place suite à la signature en 1979 de la Convention de Genève sur la pollution transfrontière à longue distance.

Dans ce contexte, les objectifs de mes travaux de recherche sont de valider l'utilisation de bryophytes comme outils pour la biosurveillance des retombées atmosphériques d'un groupe de polluants organiques majeurs, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), et ce, à différentes échelles spatio-temporelles. Pour cela, trois études ont été mises en place en relation avec un site expérimental commun, le Parc Naturel de Bertiz :

- une étude de mousses échantillonnées sur ce site et conservées dans un herbier afin d'étudier les variations historiques des retombées atmosphériques,
- une étude annuelle de biosurveillance active associée à celle des flux de HAP dans les dépôts totaux, afin d'étudier les variations saisonnières des retombées atmosphériques et de calculer le facteur de bioconcentration des HAP dans les bryophytes,
- une étude à l'échelle régionale autour du parc naturel, associée à une comparaison des niveaux de pollution de deux autres régions européennes.

Dans un premier temps, une synthèse bibliographique a été effectuée afin de mieux connaître les molécules et la matrice étudiées : les HAP et les bryophytes, et afin de réaliser un état de l'art concernant la distribution et l'occurrence des HAP dans l'atmosphère, les retombées atmosphériques et les bryophytes.

Dans un deuxième temps, avant de mettre en œuvre les études de terrain, les procédures analytiques de détermination des concentrations de HAP par CLHP-FLD dans les

dépôts totaux et les mousses ont été optimisées et validées au laboratoire. La qualité de l'analyse par CLHP-FLD a été validée en termes de sensibilité, de linéarité et de répétabilité. Cette technique permet de déterminer des teneurs traces de HAP de l'ordre du $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les dépôts totaux et du $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (MS) dans les mousses. La procédure de détermination des teneurs en HAP dans les dépôts totaux, par extraction liquide-liquide suivie d'une analyse par CLHP-FLD, a montré une précision et une justesse satisfaisante pour la détermination des concentrations de 9 HAP. Le développement de l'extraction par liquide pressurisé (PLE) a permis, grâce à la réalisation d'un plan d'expériences, de déterminer les paramètres opératoires optimaux pour la détermination des teneurs en HAP dans les bryophytes. Cette technique permet de réaliser des extractions rapides et présente l'avantage d'être automatisée. Enfin, des tests de purification par extraction sur phase solide ont permis d'évaluer la phase normale la plus sélective et l'ensemble de la procédure analytique a été validée par l'étude d'un matériau de référence.

Dans un troisième temps, les études de terrain ont permis d'identifier des tendances spatio-temporelles des teneurs en HAP dans les mousses. Tout d'abord, les bryophytes conservées dans un herbier se sont révélées être d'excellents outils pour la biosurveillance *a posteriori* des dépôts atmosphériques de HAP sur le site de Bertiz. En effet, les teneurs en HAP ont reflété les sources historiques et actuelles de contamination atmosphérique : la production de charbon végétal au sein de la forêt pour les aciéries locales et l'utilisation exclusive pour le chauffage de poêles à bois à la fin du XIX^{ème} siècle, ainsi que la limitation des émissions industrielles de HAP lourds et l'intensification du trafic routier entre les années 1970 et 2000. L'étude des signatures isotopiques de carbone et d'azote est venue renforcer cette étude, puisqu'elle a permis d'identifier des sources d'émission anthropogéniques communes avec les HAP.

L'étude intensive annuelle menée à Bertiz a ensuite permis de valider le design d'un nouveau dispositif d'échantillonnage des dépôts totaux et d'élaborer une stratégie d'échantillonnage adaptée pour la détermination des retombées atmosphériques de HAP hors et sous couvert forestier. Il en résulte que la canopée, constituée par *Fagus sylvatica*, a intercepté 20% des flux atmosphériques totaux de HAP durant l'année. Ce résultat est important dans le cadre de l'évaluation globale de l'impact des retombées atmosphériques sur les écosystèmes.

L'étude annuelle a également permis d'observer des variations saisonnières des teneurs en HAP dans les mousses *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp., qui suivent une tendance similaire à celle des flux de HAP dans les dépôts totaux. Cette évolution est associée, d'une part, aux émissions saisonnières, telles que celles dues au chauffage domestique, qui s'ajoute durant la saison froide à la contamination provenant du trafic routier local, et d'autre part, aux paramètres météorologiques, tels que la pluviométrie qui induit un lessivage de l'atmosphère, et l'ensoleillement qui provoque la dégradation photochimique des HAP. Toutefois, un fractionnement de ces molécules entre les dépôts totaux et les mousses se produit car les teneurs en HAP dans les dépôts sont corrélées à la solubilité de ces composés alors que les teneurs dans les bryophytes sont corrélées à leur propriété lipophile (K_{OW}). Ainsi, le suivi des flux atmosphériques de HAP dans les dépôts totaux ne permet pas de prévoir *a priori* les teneurs relatives de HAP dans les écosystèmes.

Enfin, la mesure des teneurs en HAP, carbone, azote et des rapports d'isotopes stables de C et N dans les mousses pleurocarpes *Hypnum cupressiforme* Hedw. échantillonnées sur 61 sites de trois pays d'Europe a permis de dégager des tendances spatiales à l'échelle régionale et de caractériser les sources d'émission de HAP au niveau des trois régions étudiées. Les mousses de Navarre sont globalement moins contaminées par les HAP que ceux de l'Île-de-France et du Plateau Suisse, du fait de sa faible urbanisation. De plus, le site de Bertiz apparaît comme l'un des moins contaminés de Navarre. Une analyse multivariée menée avec des données d'occupation du sol, de paramètres environnementaux (altitude des sites, pluviométrie), ainsi qu'avec des données de pollution de l'air et de teneurs en métaux lourds dans les bryophytes, a renforcé cette caractérisation. Il en ressort que les mousses provenant de zones urbanisées sont fortement impactées par les HAP. Toutefois, les sources urbaines sont multiples (trafic, chauffage, industries...), et les concentrations atmosphériques varient en fonction de l'éloignement avec la source, si bien que notre étude se concentre sur la caractérisation qualitative des sources de pollution atmosphérique. Un nombre plus important de sites et l'intégration des mesures dans une base de données regroupant les nombreuses méta-données sont nécessaires pour aller plus loin dans l'étude des variations spatiales.

Les résultats obtenus dans ce travail ont fait l'objet de communications/publications présentées dans les annexes XI à XIII.

De nombreuses perspectives se dégagent de ce travail.

Les performances analytiques de la CLHP-FLD se sont révélées satisfaisantes dans notre étude. Cependant, le développement d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permettrait de diminuer la consommation de solvants. Cette technique est moins sensible que la CLHP-FLD pour l'analyse des HAP lourds, mais son utilisation en mode tandem (CPG-SM/SM) permettrait d'obtenir une meilleure sélectivité, des limites de quantification aussi avantageuses et l'analyse simultanée d'autres polluants organiques persistants tels que les PCB. Le projet initial financé par la Communauté de Travail des Pyrénées a été reconduit jusqu'en 2013 afin de réaliser une comparaison inter-laboratoires des teneurs en HAP et en PCB mesurées dans des échantillons composites de mousses et de lichens prélevés dans la forêt d'Irati. Des laboratoires français et espagnols participent à cette étude.

En ce qui concerne les études de terrain :

- Les variations historiques des retombées atmosphériques de HAP pourraient être étudiées au niveau d'autres régions, à partir de mousses provenant d'herbiers. Il faudrait veiller toutefois à disposer de quantités de matière compatibles avec l'analyse des HAP et d'informations suffisamment exhaustives concernant les données d'échantillonnage afin de pouvoir interpréter les résultats.
- Les études intensives à l'échelle annuelle nécessitent une logistique importante mais fournissent finalement des données limitées pour l'interprétation statistique. Afin de tirer davantage de conclusions sur les variations saisonnières des teneurs en HAP dans les mousses, il est nécessaire de mettre en place des études pluri-annuelles sur plusieurs sites. Un autre point important qui est ressorti de l'étude annuelle est la variabilité des teneurs en HAP dans les mousses sous la canopée forestière. Toutefois, une augmentation du nombre d'échantillons prélevés par mois semble peu envisageable, car cela risque de mettre en cause la biodiversité des bryophytes étudiées. En revanche, il serait intéressant de réaliser une étude de biosurveillance passive sous la canopée afin de mesurer la variabilité spatiale des teneurs en HAP. En effet, il est possible que des mousses prélevées dans leur habitat naturel ne présentent pas une variabilité aussi importante que lorsqu'elles sont disposées de manière « artificielle ». Pour cela, il faudrait trouver une forêt qui présente une surface plus importante de bryophytes.

- Enfin, une nouvelle étude à l'échelle européenne avec d'autres POP est nécessaire afin de valider les mousses en tant que bioindicateurs des retombées atmosphériques de ce groupe de polluants. En effet, les sources d'émission et la distribution des POP dans l'environnement sont très variables. Les HAP étant à la fois d'origine naturelle (volcans, feux de forêts) et anthropique, et étant émis par de nombreuses sources en tant que sous-produit de combustion, ces composés ne semblent pas être de bons marqueurs de la pollution transfrontière. Les composés tels que les PCB, étant uniquement d'origine anthropique et produits industriellement, pourraient constituer de meilleurs traceurs de cette pollution. Un autre point important est la réalisation d'études de la variabilité inter-espèces, car sur l'ensemble de l'Europe, la répartition géographique des espèces n'est pas uniforme. De plus, les différentes espèces présentent des habitats variés et la majorité croît sous le couvert forestier. La recherche de nouvelles espèces dont l'habitat est situé hors couvert forestier est donc nécessaire. Le travail de thèse de Sheila Izquieta, mené actuellement au sein du LICA, consiste à répondre à cette problématique, dans un premier temps pour les métaux lourds, par l'étude d'une espèce non utilisée précédemment en biosurveillance : *Pleurochaete squarrosa* (Brid.) Lindb., qui a le double avantage de croître dans les prairies et d'être présente dans tous les pays méditerranéens. Enfin, afin de comprendre les gradients altitudinaux des teneurs en HAP dans les mousses, une étude menée à différentes altitudes d'une région montagneuse serait intéressante. Une telle étude, financée par la Communauté de Travail des Pyrénées, et dans laquelle sont impliqués le LCA et le LICA, vient d'être initiée pour mesurer notamment les teneurs en HAP et PCB dans des lichens et des mousses prélevés sur une cinquantaine de sites de la forêt d'Irati dans les Pyrénées, qui constitue la plus vaste hêtraie d'Europe.

RÉFÉRENCES

Aboal, J., Couto, J., Fernández, J., Carballeira, A., 2006. Definition and Number of Subsamples for Using Mosses as Biomonitors of Airborne Trace Elements. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50 (1), 88-96.

Aceves, M., Grimalt, J.O., 1993. Seasonally dependent size distributions of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban aerosols from densely populated areas. *Environmental Science & Technology* 27 (13), 2896-2908.

Akyüz, M., Cabuk, H., 2010. Gas-particle partitioning and seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of Zonguldak, Turkey. *Science of The Total Environment* 408 (22), 5550-5558.

Alfani, A., Maisto, G., Vittoria Prati, M., Baldantoni, D., 2001. Leaves of *Quercus ilex* L. as biomonitors of PAHs in the air of Naples (Italy). *Atmospheric Environment* 35 (21), 3553-3559.

Alfani, A., De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M.V., 2005. Long-term PAH accumulation after bud break in *Quercus ilex* L. leaves in a polluted environment. *Atmospheric Environment* 39 (2), 307-314.

Allen, J.O., Dookeran, N.M., Smith, K.A., Sarofim, A.F., Taghizadeh, K., Lafleur, A.L., 1996. Measurement of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with Size-Segregated Atmospheric Aerosols in Massachusetts. *Environmental Science & Technology* 30 (3), 1023-1031.

Ares, A., Aboal, J.R., Fernández, J.A., Real, C., Carballeira, A., 2009. Use of the terrestrial moss *Pseudoscleropodium purum* to detect sources of small scale contamination by PAHs. *Atmospheric Environment* 43 (34), 5501-5509.

Ares, Á., Ángel Fernández, J., Ramón Aboal, J., Carballeira, A., 2011. Study of the air quality in industrial areas of Santa Cruz de Tenerife (Spain) by active biomonitoring with *Pseudoscleropodium purum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 (3), 533-541.

Arts, T., 1986. Drought resistant rhizoidal tubers in *Fissidens cristatus* Wils. ex Mitt. *Lindbergia* 16, 119-120.

Asada, T., Warner, B.G., Aravena, R., 2005. Nitrogen isotope signature variability in plant species from open peatland. *Aquatic Botany* 82 (4), 297-307.

Atkinson, R., Arey, J., 1994. Atmospheric chemistry of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: formation of atmospheric mutagens. *Environ Health Perspect* 102 (Suppl 4).

Augusto, S., Máguas, C., Matos, J., Pereira, M.J., Branquinho, C., 2010. Lichens as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: A comparison with soil, air and pine needles. *Environmental Pollution* 158 (2), 483-489.

Ayres, E., van der Wal, R., Sommerkorn, M., Bardgett, R.D., 2006. Direct uptake of soil nitrogen by mosses. *Biological Letters* 2 (2), 286-288.

Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N., Perry, R., 1991a. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior. *Water, Air, & Soil Pollution* 60 (3), 279-300.

Baek, S.O., Goldstone, M.E., Kirk, P.W.W., Lester, J.N., Perry, R., 1991b. Phase distribution and particle size dependency of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere. *Chemosphere* 22 (5-6), 503-520.

Bakker, M.I., Koerselman, J.W., Tolls, J., Kollöffel, C., 2001. Localization of deposited polycyclic aromatic hydrocarbons in leaves of *Plantago*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (5), 1112-1116.

Barrek, S., Cren-Olivé, C., Wiest, L., Baudot, R., Arnaudguilhem, C., Grenier-Loustalot, M.-F., 2009. Multi-residue analysis and ultra-trace quantification of 36 priority substances from the European Water Framework Directive by GC-MS and LC-FLD-MS/MS in surface waters. *Talanta* 79 (3), 712-722.

Behymer, T.D., Hites, R.A., 1985. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on simulated atmospheric particulates. *Environmental Science & Technology* 19 (1004-1006).

Belpomme, D., Irigaray, P., Hardell, L., Clapp, R., Montagnier, L., Epstein, S., Sasco, A.J., 2007. The multitude and diversity of environmental carcinogens. *Environmental Research* 105 (3), 414-429.

Birgül, A., Tasdemir, Y., Cindoruk, S.S., 2011. Atmospheric wet and dry deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) determined using a modified sampler. *Atmospheric Research* 101 (1-2), 341-353.

Björklund, E., Nilsson, T., Bowadt, S., 2000. Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 19 (7), 434-445.

Blasco, M., Domeño, C., Nerín, C., 2006. Use of Lichens as Pollution Biomonitoring in Remote Areas: Comparison of PAHs Extracted from Lichens and Atmospheric Particles Sampled in and Around the Somport Tunnel (Pyrenees). *Environmental Science & Technology* 40 (20), 6384-6391.

Blasco, M., Domeño, C., Bentayeb, K., Nerín, C., 2007. Solid-phase extraction clean-up procedure for the analysis of PAHs in lichens. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 87 (12), 833-846.

Blasco, M., Domeño, C., Nerín, C., 2008. Lichens biomonitoring as feasible methodology to assess air pollution in natural ecosystems: Combined study of quantitative PAHs analyses and lichen biodiversity in the Pyrenees Mountains. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391 (3), 759-771.

Blasco, M., Domeno, C., Lopez, P., Nerin, C., 2011. Behaviour of different lichen species as biomonitors of air pollution by PAHs in natural ecosystems. *Journal of Environmental Monitoring* 13 (9), 2588-2596.

Borghini, F., Grimalt, J.O., Sanchez-Hernandez, J.C., Bargagli, R., 2005. Organochlorine pollutants in soils and mosses from Victoria Land (Antarctica). *Chemosphere* 58 (3), 271-278.

Bourdat-Deschamps, M., Daudin, J.-J., Barriuso, E., 2007. An experimental design approach to optimise the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from rainfall water using stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* 1167 (2), 143-153.

Brorström-Lundén, E., Löfgren, C., 1998. Atmospheric fluxes of persistent semivolatile organic pollutants to a forest ecological system at the Swedish west coast and accumulation in spruce needles. *Environmental Pollution* 102 (1), 139-149.

Burton, M., Agneta, S., 1990. Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society* 104 (1-3), 267-280.

Calvert, J.G., Atkinson, R., Becker, K.H., Kamens, R.M., Seinfeld, J.H., Wallington, T.J., Yarwood, G., 2002. *The mechanisms of atmospheric oxidation of aromatic hydrocarbons*. Oxford University Press, New York, NY, USA, pp. 556.

Campbell, N.A., Reece, J.B., 2002. *Biology, Second Edition*. Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings. Version française: 2004, De Boeck & Larcier s.a. Editions De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, pp. 1364.

Cao, T., An, L., Wang, M., Lou, Y., Yu, Y., Wu, J., Zhu, Z., Qing, Y., Glime, J., 2008. Spatial and temporal changes of heavy metal concentrations in mosses and its indication to the environments in the past 40 years in the city of Shanghai, China. *Atmospheric Environment* 42 (21), 5390-5402.

Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., Hernández-Méndez, J., 2005. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A* 1089 (1-2), 1-17.

Carballeira, A., Ángel Fernández, J., Aboal, J.R., Real, C., Couto, J.A., 2006. Moss: A powerful tool for dioxin monitoring. *Atmospheric Environment* 40 (30), 5776-5786.

Cardellicchio, N., Buccolieri, A., Giandomenico, S., Lopez, L., Pizzulli, F., Spada, L., 2007. Organic pollutants (PAHs, PCBs) in sediments from the Mar Piccolo in Taranto (Ionian Sea, Southern Italy). *Marine Pollution Bulletin* 55 (10-12), 451-458.

Carlberg, G.E., Ofstad, E.B., Drangsholt, H., Steinnes, E., 1983. Atmospheric deposition of organic micropollutants in Norway studied by means of moss and lichen analysis. *Chemosphere* 12 (3), 341-356.

Carrera, G., Fernandez, P., Vilanova, R., Grimalt, J.O., 1998. Analysis of trace polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds in atmospheric residues by solid-phase disk extraction. *Journal of Chromatography A* 823 (1-2), 189-196.

Carrera, G., Fernandez, P., Grimalt, J.O., Ventura, M., Camarero, L., Catalan, J., Nickus, U., Thies, H., Psenner, R., 2002. Atmospheric Deposition of Organochlorine Compounds to Remote High Mountain Lakes of Europe. *Environmental Science & Technology* 36 (12), 2581-2588.

CEAEQ, 2006. Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques, extraction au dichlorométhane : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. MA. 403 - HPA 4.1, Rév. 3. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec. Québec, Canada. pp. 16. <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA403HPA41.pdf> (29/12/2011).

Cecinato, A., Ciccio, P., Brancaleoni, E., Zagari, M., 1998. PAH and N-PAH in the urban atmosphere of Rome and Milan. *Annali di Chimica* 88, 369-380.

Chen, J.M., Black, T.A., Adams, R.S., 1991. Evaluation of hemispherical photography for determining plant area index and geometry of a forest stand. *Agricultural and Forest Meteorology* 56 (1-2), 129-143.

Chen, L., Zhang, Y., Liu, B., 2010. In situ simultaneous determination the photolysis of multi-component PAHs adsorbed on the leaf surfaces of living *Kandelia candel* seedlings. *Talanta* 83 (2), 324-331.

CIRC, 2010. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 92. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. Centre International de Recherche contre le Cancer, Lyon, France. pp. 868. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>

CITEPA, 2011a. Emissions atmosphériques en France - France Métropolitaine - Substances relatives à la contamination par les polluants organiques persistants. CITEPA / CORALIE SECTEN format. Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique, Paris, France. pp. 13. http://www.citepa.org/emissions/nationale/Pop/Emissions_FRmt_POP.pdf (29/12/2011).

CITEPA, 2011b. Emissions atmosphériques en France - France Métropolitaine - Substances relatives à la contamination par les métaux lourds. CITEPA / CORALIE SECTEN format. Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique, Paris, France. pp. 28. http://www.citepa.org/emissions/nationale/ML/Emissions_FRmt_ML.pdf (23/03/2012).

Clarke, N., Zlindra, D., Ulrich, E., Mosello, R., Derome, J., Deromen, K., König, N., Lövblad, G., Draaijers, G.P.J., Hansen, K., Thimonier, A., Waldner, P., 2010. Sampling and Analysis of Deposition. Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. Part XIV. United Nations Economic Commission for Europe, Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, International Co-operative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution

Effects on Forests (ICP Forests). Hamburg, Germany, pp. 66. http://www.icp-forests.org/pdf/FINAL_Depo.pdf (29/12/2011).

Cotham, W.E., Bidleman, T.F., 1995. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls in Air at an Urban and a Rural Site Near Lake Michigan. *Environmental Science & Technology* 29 (11), 2782-2789.

Dabestani, R., Ivanov, I.N., 1999. A Compilation of Physical, Spectroscopic and Photophysical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Photochemistry and Photobiology* 70 (1), 10-34.

De La Torre-Roche, R.J., Lee, W.-Y., Campos-Diaz, S.I., 2009. Soil-borne polycyclic aromatic hydrocarbons in El Paso, Texas: Analysis of a potential problem in the United States/Mexico border region. *Journal of Hazardous Materials* 163 (2-3), 946-958.

De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M.V., Alfani, A., 2005. Temporal variations in PAH concentrations in *Quercus ilex* L. (holm oak) leaves in an urban area. *Chemosphere* 61 (3), 432-440.

De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M.V., Alfani, A., 2008. Leaf accumulation of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in *Quercus ilex* L. *Environmental Pollution* 153 (2), 376-383.

De Nicola, F., Claudia, L., MariaVittoria, P., Giulia, M., Anna, A., 2011. Biomonitoring of PAHs by using *Quercus ilex* leaves: Source diagnostic and toxicity assessment. *Atmospheric Environment* 45 (7), 1428-1433.

DeLuca, T.H., Zackrisson, O., Nilsson, M.-C., Sellstedt, A., 2002. Quantifying nitrogen-fixation in feather moss carpets of boreal forests. *Nature* 419 (6910), 917-920.

Didyk, B.M., Simoneit, B.R.T., Alvaro Pezoa, L., Luis Riveros, M., Anselmo Flores, A., 2000. Urban aerosol particles of Santiago, Chile: organic content and molecular characterization. *Atmospheric Environment* 34 (8), 1167-1179.

Dierssen, K., 2001. Distribution, ecological amplitude and phytosociological characterization of European bryophytes. *Bryophytorum Bibliotheca*. Band 56. J. Cramer in Gebrueder Borntraeger, Berlin-Stuttgart. 289 pp.

Ding, X., Wang, X.M., Xie, Z.Q., Xiang, C.H., Mai, B.X., Sun, L.G., Zheng, M., Sheng, G.Y., Fu, J.M., 2007a. Atmospheric Hexachlorocyclohexanes in the North Pacific Ocean and the Adjacent Arctic Region: Spatial Patterns, Chiral Signatures, and Sea–Air Exchanges. *Environmental Science & Technology* 41 (15), 5204-5209.

Ding, X., Wang, X.M., Xie, Z.Q., Xiang, C.H., Mai, B.X., Sun, L.G., Zheng, M., Sheng, G.Y., Fu, J.M., Pöschl, U., 2007b. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons observed over the North Pacific Ocean and the Arctic area: Spatial distribution and source identification. *Atmospheric Environment* 41 (10), 2061-2072.

Ding, X., Wang, X.M., Wang, Q.Y., Xie, Z.Q., Xiang, C.H., Mai, B.X., Sun, L.G., 2009. Atmospheric DDTs over the North Pacific Ocean and the adjacent Arctic region: Spatial

distribution, congener patterns and source implication. *Atmospheric Environment* 43 (28), 4319-4326.

DIONEX (2004). "Methods Optimization in Accelerated Solvent Extraction (ASE®), Dionex Corporation Technical Note 208, LPN 0982-02 PDF 9/04." Retrieved January 16th, 2012, from <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4736-TN208.pdf>.

Dolegowska, S., Migaszewski, Z.M., 2011. PAH concentrations in the moss species *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from the Kielce area (south-central Poland). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 (6), 1636-1644.

Domeño, C., Blasco, M., Sanchez, C., Nerin, C., 2006. A fast extraction technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from lichens samples used as biomonitors of air pollution: Dynamic sonication versus other methods. *Analytica Chimica Acta* 569 (1-2), 103-112.

Doong, R.-a., Chang, S.-m., Sun, Y.-c., 2000. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US Environmental Protection Agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A* 879 (2), 177-188.

Doornaert, B., Pichard, A., Gillet, C., 2003. Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) - Évaluation 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 final. INERIS-DRC-03-47026-ETSC-BDo-N°03DR177.doc - Version 1-3. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Unité d'Expertise Toxicologique des Substances Chimiques (ETSC), Direction des Risques Chroniques, Verneuil-en-Halatte. pp. 64. http://www.ineris.fr/centredoc/HAP_4.pdf

Doornaert, B., Pichard, A., 2005. Analyse et proposition de méthodes d'évaluation de la relation dose-réponse des effets cancérigènes induits par un mélange d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. *Environnement Risques Santé* 4 (3).

Dörr, G., Hippelein, M., Kaupp, H., Hutzinger, O., 1996. Baseline contamination assessment for a new resource recovery facility in Germany: Part VI: Levels and profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in ambient air. *Chemosphere* 33 (8), 1569-1578.

Durant, J.L., Busby Jr, W.F., Lafleur, A.L., Pénman, B.W., Crespi, C.L., Eisenberg, W.C., 1996. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Research-Genetic Toxicology* 371, 123-157.

Duval, M.M., Friedlander, S.K., 1981. Source resolution of polycyclic aromatic hydrocarbons in Los Angeles atmosphere - application of CMB with first order decay. US EPA Report no EPA-600/2-81-161.

Dvorská, A., Lammel, G., Klánová, J., 2011. Use of diagnostic ratios for studying source apportionment and reactivity of ambient polycyclic aromatic hydrocarbons over Central Europe. *Atmospheric Environment* 45 (2), 420-427.

Ederra, A., Villaroya, A., 2009. One hundred and twenty years of bryology in Vertizarana valley (Navarra, North Spain). *Cryptogamie, Bryologie* 30 (1), 109-127.

Erdozáin, P., Mikelarena, F., 2002. Traditional iron industry and rural community – The administration of the municipal “ferrerías” of Lesaka and Extalar in 1750-1859. *BIBLID* 32, 491-515.

Esen, F., Siddik Cindoruk, S., Tasdemir, Y., 2008. Bulk deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an industrial site of Turkey. *Environmental Pollution* 152 (2), 461-467.

Esparza, A., 2000. El “Señorío de Bertiz”. *Cuadernos del Centro de Estudios Bidasoa*, 3. 156 pp.

Esteve, W., Budzinski, H., Villenave, E., 2006. Relative rate constants for the heterogeneous reactions of NO₂ and OH radicals with polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on carbonaceous particles. Part 2: PAHs adsorbed on diesel particulate exhaust SRM 1650a. *Atmospheric Environment* 40 (2), 201-211.

Fernandez, P., Grimalt, J.O., Vilanova, R.M., 2002. Atmospheric Gas-Particle Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in High Mountain Regions of Europe. *Environmental Science & Technology* 36 (6), 1162-1168.

Fernández, P., Carrera, G., Grimalt, J.O., Ventura, M., Camarero, L., Catalan, J., Nickus, U., Thies, H., Psenner, R., 2003. Factors Governing the Atmospheric Deposition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Remote Areas. *Environmental Science & Technology* 37 (15), 3261-3267.

Ferroud, C., Guy, A., 2007. Solvants moléculaires organiques - Principales constantes physico-chimiques. *Techniques de l'Ingénieur. Référence K310*.

Finlayson-Pitts, B.J., Pitts Jr, J.N., 2000a. Chapter 10 - Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Derivatives: Atmospheric Chemistry and Toxicological Implications. *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere*. Academic Press, San Diego, pp. 436-546.

Finlayson-Pitts, B.J., Pitts Jr, J.N., 2000b. *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere*. Academic Press, San Diego, 969 pp.

Foan, L., Sablayrolles, C., Elustondo, D., Lasheras, E., González, L., Ederra, A., Simon, V., Santamaría, J.M., 2010. Reconstructing historical trends of polycyclic aromatic hydrocarbon deposition in a remote area of Spain using herbarium moss material. *Atmospheric Environment* 44 (26), 3207-3214.

Fowler, D., Pilegaard, K., Sutton, M.A., Ambus, P., Raivonen, M., Duyzer, J., Simpson, D., Fagerli, H., Fuzzi, S., Schjoerring, J.K., Granier, C., Nefel, A., Isaksen, I.S.A., Laj, P., Maione, M., Monks, P.S., Burkhardt, J., Daemmgen, U., Neiryneck, J., Personne, E., Wichink-Kruit, R., Butterbach-Bahl, K., Flechard, C., Tuovinen, J.P., Coyle, M., Gerosa, G., Loubet, B., Altimir, N., Gruenhage, L., Ammann, C., Cieslik, S., Paoletti, E., Mikkelsen, T.N., Ro-Poulsen, H., Cellier, P., Cape, J.N., Horvath, L., Loreto, F., Niinemets, Ü., Palmer, P.I.,

Rinne, J., Misztal, P., Nemitz, E., Nilsson, D., Pryor, S., Gallagher, M.W., Vesala, T., Skiba, U., Brüggemann, N., Zechmeister-Boltenstern, S., Williams, J., O'Dowd, C., Facchini, M.C., de Leeuw, G., Flossman, A., Chaumerliac, N., Erisman, J.W., 2009. Atmospheric composition change: Ecosystems - Atmosphere interactions. *Atmospheric Environment* 43 (33), 5193-5267.

Frank, T.D., Tweddale, S.A., Lenschow, S.J., 2005. Non-destructive estimation of canopy gap fractions and shrub canopy volume of dominant shrub species in the Mojave desert. *Journal of Terramechanics* 42 (3-4), 231-244.

Franz, T.P., Eisenreich, S.J., Swanson, M.B., 1991. Evaluation of precipitation samplers for assessing atmospheric fluxes of trace organic contaminants. *Chemosphere* 23 (3), 343-361.

Freeman, D.J., Cattell, F.C.R., 1990. Woodburning as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science & Technology* 24 (10), 1581-1585.

Fuertes, E., Álvarez, J., 1982. Aportaciones a la flora briológica española - El Señorío de Bertiz (Navarra) (*Contributions à la flore bryophytique espagnole - Le Señorío de Bertiz (Navarra)*). *Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie* 3 (2), 139-155.

Galuszka, A., 2007. Distribution patterns of PAHs and trace elements in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from different forest communities: A case study, south-central Poland. *Chemosphere* 67 (7), 1415-1422.

Gambaro, A., Radaelli, M., Piazza, R., Stortini, A.M., Contini, D., Belosi, F., Zangrando, R., Cescon, P., 2009. Organic micropollutants in wet and dry depositions in the Venice Lagoon. *Chemosphere* 76 (8), 1017-1022.

Gandois, L., 2009. Dynamique et bilan des Eléments Traces Métalliques (ETM) dans des écosystèmes forestiers français. Modélisation, Spéciation et Charges Critiques. Thèse, Université Toulouse III - Paul Sabatier, pp. 318.

Garban, B., Blanchoud, H., Motelay-Massei, A., Chevreuil, M., Ollivon, D., 2002. Atmospheric bulk deposition of PAHs onto France: trends from urban to remote sites. *Atmospheric Environment* 36 (34), 5395-5403.

Garrec, J.P., Van Haluwyn, C., 2002. Biosurveillance végétale de la qualité de l'air - Concepts, méthodes et applications (*Air quality biomonitoring with plants - Concepts, methods and applications*). Lavoisier, Paris, 117.

Garuszka, A., 2000. Toxic organic compounds in the environment. *Prz Geol* 48, 3681-3688.

Gerdol, R., Bragazza, L., Marchesini, R., 2002a. Element concentrations in the forest moss *Hylocomium splendens*: variation associated with altitude, net primary production and soil chemistry. *Environmental Pollution* 116 (1), 129-135.

Gerdol, R., Bragazza, L., Marchesini, R., Medici, A., Pedrini, P., Benedetti, S., Bovolenta, A., Coppi, S., 2002b. Use of moss (*Tortula muralis* Hedw.) for monitoring organic and inorganic air pollution in urban and rural sites in Northern Italy. *Atmospheric Environment* 36 (25), 4069-4075.

Gérin, M., Gosselin, P., Cordier, S., Viau, C., Quénel, P., Dewailly, E., 2003. Environnement et santé. Fondements et pratiques. Tec & Doc, Paris.

Ghosh, U., Hawthorne, S.B., 2010. Particle-Scale Measurement of PAH Aqueous Equilibrium Partitioning in Impacted Sediments. *Environmental Science & Technology* 44 (4), 1204-1210.

Giergielewicz-Mozajska, H., Dabrowski, L., Namiesnik, J., 2001. Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the Analysis of Environmental Solid Samples - Some Aspects of Theory and Practice. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31 (3), 149-165.

GN, 2007. Bases técnicas para el III PRUG del Parque Natural y LIC Señorío de Bertiz (ES2200017) - Analisis ecologico y socioeconomico (*Technical bases for the III PRUG of the Señorío de Bertiz Nature Reserve and SAC (ES2200017) - Ecological and socio-economic analysis*). Gestion Ambiental Viveros y Repoblaciones de Navarra S.A. - Gobierno de Navarra, http://www.navarra.es/NR/rdonlyres/6A77C806-7922-4E65-9D93-AD8572CC325C/163202/DOC1_PG_Bertiz_analisisI.pdf (9/01/2012), 84 pp.

GN, 2011. Meteorología y climatología de Navarra (*Météorologie et climatologie de la Navarre*). Departamento de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente - Gobierno de Navarra. <http://meteo.navarra.es/estaciones/estacion.cfm?IDEstacion=87> (9/01/2012).

Goffinet, B., Shaw, A.J., 2009. Bryophyte biology, second ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 565.

Gonzalez-Miqueo, L., 2009. Biomonitorización de contaminantes atmosféricos mediante la utilización de *Hypnum cupressiforme* Hedw. en la Comunidad Foral de Navarra y zonas limítrofes (*Bioindication de polluants atmosphériques par l'utilisation de Hypnum cupressiforme Hedw. dans la région de Navarre et les zones limitrophes*). Thèse, Universidad de Navarra, Pampelune, Espagne, pp. 250.

González-Miqueo, L., Elustondo, D., Lasheras, E., Santamaría, J.M., 2010. Use of native mosses as biomonitors of heavy metals and nitrogen deposition in the surroundings of two steel works. *Chemosphere* 78 (8), 965-971.

Goss, K.-U., Eisenreich, S.J., 1997. Sorption of volatile organic compounds to particles from a combustion source at different temperatures and relative humidities. *Atmospheric Environment* 31 (17), 2827-2834.

Grynkiewicz, M., Polkowska, Z., Namiesnik, J., 2002. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk precipitation and runoff waters in an urban region (Poland). *Atmospheric Environment* 36 (2), 361-369.

Guerzoni, S., Rossini, P., Molinaroli, E., Rampazzo, G., Raccanelli, S., 2004. Measurement of atmospheric deposition of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in the Lagoon of Venice, Italy. *Chemosphere* 54 (9), 1309-1317.

Guidotti, M., Stella, D., Owczarek, M., De Marco, A., De Simone, C., 2003. Lichens as polycyclic aromatic hydrocarbon bioaccumulators used in atmospheric pollution studies. *Journal of Chromatography A* 985 (1-2), 185-190.

Gupta, A., Kumar, R., Kumari, K.M., Srivastava, S.S., 2003. Measurement of NO₂, HNO₃, NH₃ and SO₂ and related particulate matter at a rural site in Rampur, India. *Atmospheric Environment* 37 (34), 4837-4846.

Gusev, A., Dutchak, S., Rozovskaya, O., Shatalov, V., Sokovykh, V., Vulykh, N., Aas, W., Breivik, K., 2011. EMEP Status Report 3/2011 - Persistent Organic Pollutants in the Environment, European Monitoring and Evaluation Programme, Co-operative Programme for Monitoring and Evaluation of the Long-range Transmission of Air Pollutants in Europe, pp. 108. http://www.msceast.org/reports/3_2011.pdf (29/12/2011).

Gustafsson, Ö., Andersson, P., Axelman, J., Bucheli, T.D., Kömp, P., McLachlan, M.S., Sobek, A., Thörngren, J.O., 2005. Observations of the PCB distribution within and in-between ice, snow, ice-rafted debris, ice-interstitial water, and seawater in the Barents Sea marginal ice zone and the North Pole area. *Science of The Total Environment* 342 (1-3), 261-279.

Hailwood, M., King, D., Leoz-Garzianda, E., Maynard, R., Menichini, E., Moorcroft, S., Pacyna, J., Perez Ballesta, P., Schneider, J., Westerholm, R., Wichmann-Fiebig, M., Woodfield, M., Van Bree, L., Conolly, C., 2001. Ambient air pollution by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH), Position paper. Publication officielle du groupe de travail sur les HAP pour l'Union Européenne, 27 juillet 2001, pp. 56. http://ec.europa.eu/environment/air/pdf/pp_pah.pdf (29/12/2011).

Halliday, E.C., 1961. Historical review, In: *Air Pollution*. OMS, Genève, pp. 9-37.

Han, X., Naeher, L.P., 2006. A review of traffic-related air pollution exposure assessment studies in the developing world. *Environment International* 32 (1), 106-120.

Harmens, H., Norris, D.A., Koerber, G.R., Buse, A., Steinnes, E., Rühling, Å., 2007. Temporal trends in the concentration of arsenic, chromium, copper, iron, nickel, vanadium and zinc in mosses across Europe between 1990 and 2000. *Atmospheric Environment* 41 (31), 6673-6687.

Harmens, H., Norris, D., *et al.*, 2008a. Spatial and temporal trends in heavy metal accumulation in mosses in Europe (1990-2005). Programme Coordination Center for the ICP Vegetation, International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops, Working Group on Effects of the Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, Bangor, UK, pp. 54. http://icpvegetation.ceh.ac.uk/publications/documents/Finalmossreportwithmaps_110708_profedits_180708_highquality.pdf (8/02/2012).

Harmens, H., Norris, D.A., Koerber, G.R., Buse, A., Steinnes, E., Rühling, Å., 2008b. Temporal trends (1990-2000) in the concentration of cadmium, lead and mercury in mosses across Europe. *Environmental Pollution* 151 (2), 368-376.

Harmens, H., Mills, G., Hayes, H., Norris, D., 2010a. Air Pollution and Vegetation - ICP Vegetation Annual Report 2009/2010. United Nations Economic Commission for Europe, Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops (ICP Vegetation), pp. 50.

<http://www.ceh.ac.uk/products/publications/documents/ICPVegetationannualreport2009-10.pdf> (29/12/2011).

Harmens, H., Norris, D.A., Steinnes, E., Kubin, E., Piispanen, J., Alber, R., Aleksiyenak, Y., Blum, O., Coskun, M., Dam, M., De Temmerman, L., Fernández, J.A., Frolova, M., Frontasyeva, M., González-Miqueo, L., Grodzinska, K., Jeran, Z., Korzekwa, S., Krmar, M., Kvietkus, K., Leblond, S., Liiv, S., Magnússon, S.H., Mankovská, B., Pesch, R., Rühling, Å., Santamaria, J.M., Schröder, W., Spiric, Z., Suchara, I., Thöni, L., Urumov, V., Yurukova, L., Zechmeister, H.G., 2010b. Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: Spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environmental Pollution* 158 (10), 3144-3156.

Harmens, H., Foan, L., Simon, V., Mills, G., 2011a. Mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review. Report for Defra contract AQ08610. Department for Environment Food and Rural Affairs, UK. pp. 26.

<http://icpvegetation.ceh.ac.uk/publications/documents/FinalPOPsreportDefra21.10.11.pdf> (8/02/2012).

Harmens, H., Mills, G., Hayes, H., Norris, D., 2011b. Air Pollution and Vegetation - ICP Vegetation Annual Report 2010/2011. United Nations Economic Commission for Europe, Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops (ICP Vegetation), pp. 50.

<http://icpvegetation.ceh.ac.uk/publications/documents/ICPVegetationannualreport2010-11.pdf> (29/12/2011).

Harmens, H., Norris, D.A., Cooper, D.M., Mills, G., Steinnes, E., Kubin, E., Thöni, L., Aboal, J.R., Alber, R., Carballeira, A., Coskun, M., De Temmerman, L., Frolova, M., Gonzalez-Miqueo, L., Jeran, Z., Leblond, S., Liiv, S., Mankovska, B., Pesch, R., Poikolainen, J., Rühling, A., Santamaria, J.M., Simonè, P., Schröder, W., Suchara, I., Yurukova, L., Zechmeister, H.G., 2011c. Nitrogen concentrations in mosses indicate the spatial distribution of atmospheric nitrogen deposition in Europe. *Environmental Pollution* 159 (10), 2852-2860.

Hawley, G.G., 1987. *The Condensed Chemical Dictionary*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA, pp. 1135.

Haynes, B.S., 1991. In: W. Bartock, Sarofim, A.F. (Eds.), *Fossil Fuel Combustion: a Source Book*. Wiley, New York, USA, pp. 261-326.

Heaton, T.H.E., Spiro, B., Robertson, S.M.C., 1997. Potential canopy influences on the isotopic composition of nitrogen and sulphur in atmospheric deposition. *Oecologia* 109 (4), 600-607.

Herpin, U., Markert, B., Weckert, V., Berlekamp, J., Friese, K., Siewers, U., Lieth, H., 1997. Retrospective analysis of heavy metal concentrations at selected locations in the Federal

Republic of Germany using moss material from a herbarium. *Science of The Total Environment* 205 (1), 1-12.

Hii, T.M., Basheer, C., Lee, H.K., 2009. Commercial polymeric fiber as sorbent for solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Journal of Chromatography A* 1216 (44), 7520-7526.

Ho, K.F., Lee, S.C., Chiu, G.M.Y., 2002. Characterization of selected volatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons and carbonyl compounds at a roadside monitoring station. *Atmospheric Environment* 36 (1), 57-65.

Holoubek, I., Korínek, P., Seda, Z., Schneiderová, E., Holoubková, I., Pacl, A., Triska, J., Cudlín, P., Čáslavský, J., 2000. The use of mosses and pine needles to detect persistent organic pollutants at local and regional scales. *Environmental Pollution* 109 (2), 283-292.

Holoubek, I., Klanova, J., Jarkovsky, J., Kohoutek, J., 2007a. Trends in background levels of persistent organic pollutants at Kosetice observatory, Czech Republic. Part I. Ambient air and wet deposition 1996-2005. *Journal of Environmental Monitoring* 9 (6), 557-563.

Holoubek, I., Klanova, J., Jarkovsky, J., Kubik, V., Helesic, J., 2007b. Trends in background levels of persistent organic pollutants at Kosetice observatory, Czech Republic. Part II. Aquatic and terrestrial environments 1996-2005. *Journal of Environmental Monitoring* 9 (6).

Holy, M., Pesch, R., Schröder, W., Harmens, H., Ilyin, I., Alber, R., Aleksiyenak, Y., Blum, O., Coşkun, M., Dam, M., De Temmerman, L., Fedorets, N., Figueira, R., Frolova, M., Frontasyeva, M., Goltsova, N., González Miqueo, L., Grodzińska, K., Jeran, Z., Korzekwa, S., Krmar, M., Kubin, E., Kvietskus, K., Larsen, M., Leblond, S., Liiv, S., Magnússon, S., Maňková, B., Mocanu, R., Piispanen, J., Rühling, Å., Santamaria, J., Steinnes, E., Suchara, I., Thöni, L., Turcsányi, G., Urumov, V., Wolterbeek, H.T., Yurukova, L., Zechmeister, H.G., 2010. First thorough identification of factors associated with Cd, Hg and Pb concentrations in mosses sampled in the European Surveys 1990, 1995, 2000 and 2005. *Journal of Atmospheric Chemistry* 63, 109-124.

Huang, D., Peng, P.a., Xu, Y., Deng, Y., Deng, H., 2009. Distribution and deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation in Guangzhou, South China. *Journal of Environmental Sciences* 21 (5), 654-660.

IAEA, 2009. Reference products for environment and trade. IAEA-140-OC , Sea Weed (*Fucus* sp.). International Atomic Energy Agency, Vienne, Autriche. http://nucleus.iaea.org/rpst/ReferenceProducts/ReferenceMaterials/Organic_Contaminants_/IAEA-140-OC.htm (30/12/2011).

IAU, 2005. Circulation routière en Ile de France - Évolution des flux et conditions de circulation dans la zone centrale, Institut d'Aménagement et d'Urbanisme de la Région d'Île-de-France, Neuilly. <http://www.iau-idf.fr/detail-dune-etude/etude/la-circulation-routiere-en-ile-de-france.html> (16/02/12).

ICP-Vegetation, 2010. Heavy metals in European mosses: 2010 survey. Monitoring manual. ICP Vegetation Programme Coordination Centre, CEH, Bangor, UK, pp.16.

http://icpvegetation.ceh.ac.uk/manuals/documents/UNECEHEAVYMETALSMOSSMANUAL2010POPsadaptedfinal_220510_.pdf (29/12/2011).

IEN, 2011. Población por nacionalidad y sexo. Datos del Padrón definitivo a 01/01/2011. Instituto de Estadística de Navarra (IEN) http://www.cfnavarra.es/estadistica/confindex.asp?i=Informaci%F3n%2Bestad%EDstica&p=ie/indice2.asp?qry=01&d=ie/idx_izq.asp?qry=01&b=Informaci%F3n (16/02/12)

IGN, 2012. Altitude sur la France métropolitaine - Institut Géographique National. www.geoportail.fr (16/02/12).

INE, 2011. Nomenclátor. Relación de unidades poblacionales. Instituto Nacional de Estadística, Madrid. www.ine.es/nomen2/index.do (18/02/12).

INSEE, 2008. Population, superficie et densité des principaux pays du monde. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Paris, France. http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=98&ref_id=CMPTEF01105 (29/12/2011).

INSEE, 2009a. Recensement de la population 2009, Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Paris. <http://www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/recensement/populations-legales/default.asp?annee=2009> (16/02/2012).

INSEE, 2009b. Agriculture -Exploitations agricoles - Utilisation du sol. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Paris. http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=20&ref_id=agrtc1021b (16/02/12).

INSEE, 2010a. Occupation des sols en 2010. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Paris. http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=20&ref_id=tertc01201 (16/02/12).

INSEE, 2010b. Établissements industriels selon l'activité au 31 décembre 2009. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Paris. http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=20&ref_id=indtc11101 (16/02/12).

INSERM, 2001. Métabolisme et mécanisme d'action des principales substances cancérigènes d'origine professionnelle. Susceptibilités génétiques et expositions professionnelles, Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale, pp. 147. http://www.inserm.fr/content/download/8523/63786/file/susceptibilites_genetiques_expo_prof_2001.pdf (29/12/2011).

Jang, M., McDow, S.R., 1997. Products of benzo(a)anthracene photodegradation in the presence of known organic constituents of atmospheric aerosols. Environmental Science and Technology 31, 1046-1053.

Jánská, M., Tomaniová, M., Hajslová, J., Kocourek, V., 2004. Appraisal of "classic" and "novel" extraction procedure efficiencies for the isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives from biotic matrices. Analytica Chimica Acta 520 (1-2), 93-103.

- Jolliffe, I.T., 2002. *Principal Component Analysis*, Second Edition. Springer-Verlag, New York.
- Jones, K.C., de Voogt, P., 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution* 100 (1-3), 209-221.
- Kamens, R.M., Guo, J., Guo, Z., McDow, S.R., 1990. Polynuclear aromatic hydrocarbon degradation by heterogeneous reactions with N₂O₅ on atmospheric particles. *Atmospheric Environment* 24A (5), 1161-1173.
- Khalili, N.R., Scheff, P.A., Holsen, T.M., 1995. PAH source fingerprints for coke ovens, diesel and, gasoline engines, highway tunnels, and wood combustion emissions. *Atmospheric Environment* 29 (4), 533-542.
- Kiss, G., Varga-Puchony, Z., Rohrbacher, G.b., Hlavay, J.z., 1998. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons on atmospheric aerosol particles of different sizes. *Atmospheric Research* 46 (3-4), 253-261.
- Klánová, J., Cupr, P., Baráková, D., Seda, Z., Andel, P., Holoubek, I., 2009. Can pine needles indicate trends in the air pollution levels at remote sites? *Environmental Pollution* 157 (12), 3248-3254.
- Kleppin, L., Schröder, W., Pesch, R., Schmidt, G., 2007. Development and application of the WebGIS 'MossMet'. In: Probst F, Keßler C (eds) *GI-days—young researchers forum. Proceedings of the 5th geographic information days*, 10–12. September, Münster, pp 217–227.
- Kleppin, L., Aden, C., Pesch, R., Schmidt, G., Schröder, W., 2008. 'MossMet'—Ein WebGIS auf Basis von open source—software für das bundesweite Moos-Monitoring 2005. *UBA-Texte* 02(08):11–18.
- Knulst, J.C., Westling, H.O., Brorström-Lundén, E., 1995. Airborne organic micropollutant concentrations in mosses and humus as indicators for local versus long-range sources. *Environmental Monitoring and Assessment* 36 (1), 75-91.
- Konieczka, P., Namiesnik, J., 2010. Estimating uncertainty in analytical procedures based on chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A* 1217 (6), 882-891.
- Körner, C., Farquhar, G.D., Roksandic, Z., 1991. Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altitudinal trends. *Oecologia* 88, 30-40.
- Krauss, M., Wilcke, W., Martius, C., Bandeira, A.G., Garcia, M.V.B., Amelung, W., 2005. Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environmental Pollution* 135 (1), 143-154.
- Krmar, M., Radnovic, D., Rakic, S., Matavuly, M., 2007. Possible use of terrestrial mosses in detection of atmospheric deposition of ⁷Be over large areas. *Journal of Environmental Radioactivity* 95 (1), 53-61.

- Krmar, M., Radnovic, D., Mihailovic, D.T., Lalic, B., Slivka, J., Bikit, I., 2009. Temporal variations of ^{7}Be , ^{210}Pb and ^{137}Cs in moss samples over 14 month period. *Applied Radiation and Isotopes* 67 (6), 1139-1147.
- Krommer, V., Zechmeister, H.G., Roder, I., Scharf, S., Hanus-Illnar, A., 2007. Monitoring atmospheric pollutants in the biosphere reserve Wienerwald by a combined approach of biomonitoring methods and technical measurements. *Chemosphere* 67 (10), 1956-1966.
- Kuang, Y.-w., Zhou, G.-y., Wen, D.-z., Li, J., Sun, F.-f., 2011. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in tree-rings of Masson pine (*Pinus massoniana* L.) from two industrial sites in the Pearl River Delta, south China. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 2630-2637.
- Lacoizqueta, J.M., 1885. Catálogo de las plantas que espontáneamente crecen en el Valle de Bertizarana (Catalogue des plantes poussant naturellement dans la vallée de Bertizarana). *Anales de la Sociedad Española de Historia Natural* 14, 187-346.
- Landis, M.S., Keeler, G.J., 1997. Critical Evaluation of a Modified Automatic Wet-Only Precipitation Collector for Mercury and Trace Element Determinations. *Environmental Science & Technology* 31 (9), 2610-2615.
- Larsen, R.K., Baker, J.E., 2003. Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Urban Atmosphere: A Comparison of Three Methods. *Environmental Science & Technology* 37 (9), 1873-1881.
- Le Corfec, Y., 2011. Sites et sols pollués - Gestion des passifs environnementaux. Dunod, Paris, pp. 407.
- Lead, W.A., Steinnes, E., Jones, K.C., 1996. Atmospheric Deposition of PCBs to Moss (*Hylocomium splendens*) in Norway between 1977 and 1990. *Environmental Science & Technology* 30 (2), 524-530.
- Leblanc, S., Chen, J., Fernandes, R., Deering, D., Conley, 2005. Methodology comparison for canopy structure parameters extraction from digital hemispherical photography in boreal forests. *Agricultural and Forest Meteorology* 129 (3-4), 187-207.
- Leblond, S., 2004. Etude pluridisciplinaire du transfert des métaux de l'atmosphère vers les mousses (*Scleropodium purum* (Hedw.) Limpr.) : Suivi sur un site rural (Vouzon, France). Thèse, Université Paris 7 - Denis Diderot, pp. 224.
- Lehndorff, E., Schwark, L., 2004. Biomonitoring of air quality in the Cologne Conurbation using pine needles as a passive sampler--Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Atmospheric Environment* 38 (23), 3793-3808.
- Lehndorff, E., Schwark, L., 2009a. Biomonitoring airborne parent and alkylated three-ring PAHs in the Greater Cologne Conurbation I: Temporal accumulation patterns. *Environmental Pollution* 157 (4), 1323-1331.

Lehndorff, E., Schwark, L., 2009b. Biomonitoring airborne parent and alkylated three-ring PAHs in the Greater Cologne Conurbation II: Regional distribution patterns. *Environmental Pollution* 157 (5), 1706-1713.

Leipe, T., Kersten, M., Heise, S., Pohl, C., Witt, G., Liehr, G., Zettler, M., Tauber, F., 2005. Ecotoxicity assessment of natural attenuation effects at a historical dumping site in the western Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 50 (4), 446-459.

Leoz-Garziandia, E., 2004. Programme pilote national de surveillance des HAP : rapport final, INERIS –DRC/AIRE-05-55268-Ele-n°79, Novembre 2004, Institut National de l'Environnement industriel et des RISques, pp. 30. www.lcsqa.org/system/files/etude_7_r4_4_pilote.pdf (5/02/2012).

Li, J., Cheng, H., Zhang, G., Qi, S., Li, X., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) deposition to and exchange at the air-water interface of Luhu, an urban lake in Guangzhou, China. *Environmental Pollution* 157 (1), 273-279.

Ligrone, R., Duckett, J.G., Renzaglia, K.S., 2000. Conducting tissues and phyletic relationships of bryophytes. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 355, 795-813.

Lim, T.B., Xu, R., Tan, B., Obbard, J.P., 2006. Persistent organic pollutants in moss as bioindicators of atmospheric pollution in Singapore. *Chemosphere* 64 (4), 596-602.

Lima, A.L.C., Farrington, J.W., Reddy, C.M., 2005. Combustion-Derived Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Environment - A Review. *Environmental Forensics* 6 (2), 109-131.

Liu, Q.-T., Diamond, M.L., Gingrich, S.E., Ondov, J.M., Maciejczyk, P., Stern, G.A., 2003. Accumulation of metals, trace elements and semi-volatile organic compounds on exterior window surfaces in Baltimore. *Environmental Pollution* 122 (1), 51-61.

Liu, X.-Y., Xiao, H.-Y., Liu, C.-Q., Li, Y.-Y., Xiao, H.-W., 2008a. Stable carbon and nitrogen isotopes of the moss *Haplocladium microphyllum* in an urban and a background area (SW China): The role of environmental conditions and atmospheric nitrogen deposition. *Atmospheric Environment* 42 (21), 5413-5423.

Liu, X.-Y., Xiao, H.-Y., Liu, C.-Q., Li, Y.-Y., Xiao, H.-W., 2008b. Atmospheric transport of urban-derived NH_x: Evidence from nitrogen concentration and δ¹⁵N in epilithic mosses at Guiyang, SW China. *Environmental Pollution* 156 (3), 715-722.

Liu, X.-Y., Xiao, H.-Y., Liu, C.-Q., Xiao, H.-W., Wang, Y.-L., 2009. Assessment of atmospheric sulfur with the epilithic moss *Haplocladium microphyllum*: Evidences from tissue sulfur and δ³⁴S analysis. *Environmental Pollution* 157 (7), 2066-2071.

Liu, X.-Y., Xiao, H.-Y., Liu, C.-Q., Li, Y.-Y., Xiao, H.-W., Wang, Y.-L., 2010. Response of stable carbon isotope in epilithic mosses to atmospheric nitrogen deposition. *Environmental Pollution* 158 (6), 2273-2281.

Liu, X., Zhang, G., Jones, K.C., Li, X., Peng, X., Qi, S., 2005. Compositional fractionation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mosses (*Hypnum plumaeformae* WILS.) from

the northern slope of Nanling Mountains, South China. *Atmospheric Environment* 39 (30), 5490-5499.

Mägdefrau, K., 1982. Life forms of bryophytes. In: A. Smith, *Bryophyte ecology*. Chapman and Hall, London & New York, pp. 45-58.

Malcolm, B., Malcolm, N., 2000. Mosses and other bryophytes – An illustrated glossary. Micro-Optics Press, Micro-Optics Ltd., Nelson, New Zealand, 220 pp.

Manahan, S.E., 1994. *Environmental Chemistry*, sixth ed. Lewis Publisher, New York, USA, pp. 898.

Manoli, E., Samara, C., Konstantinou, I., Albanis, T., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. *Chemosphere* 41 (12), 1845-1855.

Mantis, J., Chaloulakou, A., Samara, C., 2005. PM10-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Greater Area of Athens, Greece. *Chemosphere* 59 (5), 593-604.

Marchand, N., 2003. Etude de la composante organique de l'aérosol atmosphérique : cas de deux vallées (Chamonix et Maurienne) et développement analytique. Thèse. Université de Savoie, pp. 286.

Mariussen, E., Steinnes, E., Breivik, K., Nygård, T., Schlabach, M., Kålås, J.A., 2008. Spatial patterns of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in mosses, herbivores and a carnivore from the Norwegian terrestrial biota. *Science of The Total Environment* 404 (1), 162-170.

Markert, B., 1995. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. *Science of The Total Environment* 176 (1-3), 45-61.

Marr, L.C., Kirchstetter, T.W., Harley, R.A., Miguel, A.H., Hering, S.V., Hammond, S.K., 1999. Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Motor Vehicle Fuels and Exhaust Emissions. *Environmental Science & Technology* 33 (18), 3091-3099.

Marr, L.C., Dzepina, K., Jimenez, J.L., Reisen, F., Bethel, H.L., Arey, J., Gaffney, J.S., Marley, N.A., Molina, L.T., Molina, M.J., 2006. Sources and transformations of particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico City. *Atmospheric Chemistry and Physics* 6, 1733-1745.

Marshall, J.D., Brooks, J.R., Lajtha, K., 2007. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: R. Michener and K. Lajtha, *Stable isotopes in ecology and environmental science - 2nd ed.* Blackwell Publishing, Malden, pp. 22-60.

Martin, J., Maystre, L.-Y., 1988. *Santé et Pollution de l'Air*. Presse Polytechniques Romandes, Lausanne, Switzerland, pp. 217.

Masclat, P., Mouvier, G., Nikolaou, K., 1986. Relative decay index and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Atmospheric Environment* (1967) 20 (3), 439-446.

Mastral, A.M., López, J.M., Callén, M.S., García, T., Murillo, R., Navarro, M.V., 2003. Spatial and temporal PAH concentrations in Zaragoza, Spain. *The Science of The Total Environment* 307 (1-3), 111-124.

Mathé, F., Houdret, J.L., 2009. Surveillance de la qualité de l'air : le dispositif français. *Techniques de l'Ingénieur*. Référence G1632. Date de publication : 10 avr. 2009.

McDow, S.R., Sun, Q.-r., Vartiainen, M., Hong, Y.-s., Yao, Y.-l., Fister, T., Yao, R.-q., Kamens, R.M., 1994. Effect of Composition and State of Organic Components on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Decay in Atmospheric Aerosols. *Environmental Science & Technology* 28 (12), 2147-2153.

Meier, I., Leuschner, C., 2008. Leaf Size and Leaf Area Index in *Fagus sylvatica* Forests: Competing Effects of Precipitation, Temperature, and Nitrogen Availability. *Ecosystems* 11 (5), 655-669.

Menichini, E., 1992. Urban air pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons: levels and sources of variability. *The Science of The Total Environment* 116 (1-2), 109-135.

Menichini, E., Monfredini, F., Merli, F., 1999. The temporal variability of the profile of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air: a study in a medium traffic area in Rome, 1993-1998. *Atmospheric Environment* 33 (23), 3739-3750.

Migaszewski, Z.M., Galuszka, A., Paslawski, P., 2002. Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace metals in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains, South-Central Poland. *Environment International* 28 (4), 303-313.

Migaszewski, Z.M., Galuszka, A., Crock, J.G., Lamothe, P.J., Dolegowska, S., 2009. Interspecies and interregional comparisons of the chemistry of PAHs and trace elements in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from Poland and Alaska. *Atmospheric Environment* 43 (7), 1464-1473.

Milukaitė, A., 1998. Flux of Benzo(a)pyrene to the Ground Surface and its Distribution in the Ecosystem. *Water, Air, & Soil Pollution* 105 (1), 471-480.

Mostert, M.M.R., Ayoko, G.A., Kokot, S., 2010. Application of chemometrics to analysis of soil pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 29 (5), 430-445.

Motelay-Massei, A., Ollivon, D., Garban, B., Chevreuil, M., 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk deposition at a suburban site: assessment by principal component analysis of the influence of meteorological parameters. *Atmospheric Environment* 37 (22), 3135-3146.

Motelay-Massei, A., Garban, B., Tiphagne-Larcher, K., Chevreuil, M., Ollivon, D., 2006. Mass balance for polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban watershed of Le Havre (France): Transport and fate of PAHs from the atmosphere to the outlet. *Water Research* 40 (10), 1995-2006.

Motelay-Massei, A., Ollivon, D., Garban, B., Tiphagne-Larcher, K., Zimmerlin, I., Chevreuil, M., 2007. PAHs in the bulk atmospheric deposition of the Seine river basin: Source

identification and apportionment by ratios, multivariate statistical techniques and scanning electron microscopy. *Chemosphere* 67 (2), 312-321.

Müller, J.F., Hawker, D.W., McLachlan, M.S., Connell, D.W., 2001. PAHs, PCDD/Fs, PCBs and HCB in leaves from Brisbane, Australia. *Chemosphere* 43 (4-7), 507-515.

Neumann, H.H., den Hartog, G., Shaw, R.H., 1989. Leaf area measurements based on hemispheric photographs and leaf-litter collection in a deciduous forest during autumn leaf-fall. *Agricultural and Forest Meteorology* 45, 325-345.

Newton, A.E., Wikström, N., Bell, N., Forrest, L.L., Ignatov, M.S., 2007. Dating the diversification of pleurocarpous mosses. In: A. E. Newton and R. S. Tangney, *Pleurocarpous mosses: Systematics and Evolution*. Taylor and Francis, Boca Raton, FL, USA, pp. 337-366.

Niu, J., Chen, J., Martens, D., Quan, X., Yang, F., Kettrup, A., Schramm, K.-W., 2003. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] needles under sunlight irradiation. *Environmental Pollution* 123 (1), 39-45.

Odabasi, M., Vardar, N., Sofuoglu, A., Tasdemir, Y., Holsen, T.M., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chicago air. *The Science of The Total Environment* 227 (1), 57-67.

OFS, 2001. L'utilisation du sol : hier et aujourd'hui. Statistique suisse de la superficie. Office fédéral de la statistique, Neuchâtel. <http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index/news/publikationen.html?publicationID=797> (16/02/12).

OFS, 2006. Statistique de la superficie 1979/85, 1992/97 - Office Fédéral de la Statistique, Neuchâtel. http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index/themen/02/03/blank/key/01/zustand_und_entwicklung_tabelle.html (16/02/2012).

OFS, 2010a. Entreprises marchandes selon la division économique et la taille de l'entreprise en 2008 - Office Fédéral de la Statistique, Neuchâtel <http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index/themen/06/02/blank/data.html> (16/02/12).

OFS, 2010b. Mobilité et transports. Rapport 837-1000. Statistique de poche 2010. Office Fédéral de la Statistique, Neuchâtel. <http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index/themen/11.html> (16/02/12).

OFS, 2011. La population de la Suisse 2010. Office fédéral de la statistique, Neuchâtel. <http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index/themen/01/22/publ.html?publicationID=4525> (16/02/2012).

Oguntimehin, I., Nakatani, N., Sakugawa, H., 2008. Phytotoxicities of fluoranthene and phenanthrene deposited on needle surfaces of the evergreen conifer, Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.). *Environmental Pollution* 154 (2), 264-271.

Oliver, M.J., 1991. Influence of Protoplasmic Water Loss on the Control of Protein Synthesis in the Desiccation-Tolerant Moss *Tortula ruralis* : Ramifications for a Repair-Based Mechanism of Desiccation Tolerance. *Plant Physiology* 97, 1501-1511.

Omar, N.Y.M.J., Abas, M.R.B., Ketuly, K.A., Tahir, N.M., 2002. Concentrations of PAHs in atmospheric particles (PM-10) and roadside soil particles collected in Kuala Lumpur, Malaysia. *Atmospheric Environment* 36 (2), 247-254.

Orecchio, S., Gianguzza, A., Culotta, L., 2008. Absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pinus* bark: Analytical method and use for environmental pollution monitoring in the Palermo area (Sicily, Italy). *Environmental Research* 107 (3), 371-379.

Orlinski, R., 2002. Multipoint moss passive samplers assessment of urban airborne polycyclic aromatic hydrocarbons: concentrations profile and distribution along Warsaw main streets. *Chemosphere* 48 (2), 181-186.

Ötvös, E., Kozák, I.O., Fekete, J., Sharma, V.K., Tuba, Z., 2004. Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mosses (*Hypnum cupressiforme*) in Hungary. *Science of The Total Environment* 330 (1-3), 89-99.

Pankow, J.F., 1994. An absorption model of gas/particle partitioning of organic compounds in the atmosphere. *Atmospheric Environment* 28 (2), 185-188.

Pearson, J., Wells, D.M., Seller, K.J., Bennett, A., Soares, A., Woodall, J., Ingrouille, M.J., 2000. Traffic exposure increases natural ^{15}N and heavy metal concentrations in mosses. *New Phytologist* 147 (2), 317-326.

Pekey, B., Karakas, D., Ayberk, S., 2007. Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to Izmit Bay, Turkey. *Chemosphere* 67 (3), 537-547.

Pena, M.T., Casais, M.C., Mejuto, M.C., Cela, R., 2009. Development of an ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A* 1216 (36), 6356-6364.

Pensado, L., Blanco, E., Casais, M.C., Mejuto, M.C., Martinez, E., Carro, A.M., Cela, R., 2004. Strategic sample composition in the screening of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water samples using liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A* 1056 (1-2), 121-130.

Peñuelas, J., Estiarte, M., 1996. Trends in plant carbon concentration and plant demand for N throughout this century. *Oecologia* 109 (1), 69-73.

Peñuelas, J., Filella, I., 2001. Herbaria century record of increasing eutrophication in Spanish terrestrial ecosystems. *Global change biology* 7 (4), 427-433.

Pereira Netto, A.D., Barreto, R.P., Moreira, J.C., Arbilla, G., 2007. Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Terminalia catappa* L. (Combretaceae) bark from a selected heavy road traffic area of Rio de Janeiro City, Brazil. *Journal of Hazardous Materials* 142 (1-2), 389-396.

Pesch, R., Schmid, G., Schröder, W., Aden, C., Kleppin, L., Holy, M., 2007. Development, implementation and application of the WebGIS MossMet. In: Scharl A, Tochtermann K (eds) The geospatial web. How geo-browsers, social software and the Web 2.0 are shaping the network society. Springer, London, pp 191–200.

Piccardo, M.T., Pala, M., Bonaccorso, B., Stella, A., Redaelli, A., Paola, G., Valerio, F., 2005. *Pinus nigra* and *Pinus pinaster* needles as passive samplers of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Pollution* 133 (2), 293-301.

Popp, P., Bauer, C., Wennrich, L., 2001. Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436 (1), 1-9.

Popp, P., Bauer, C., Hauser, B., Keil, P., Wennrich, L., 2003. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds from water: A comparison between solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. *Journal of Separation Science* 26 (9-10), 961-967.

Poster, D., Schantz, M., Sander, L., Wise, S., 2006. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386 (4), 859-881.

Prajapati, S.K., Tripathi, B.D., 2008. Biomonitoring seasonal variation of urban air polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using *Ficus benghalensis* leaves. *Environmental Pollution* 151 (3), 543-548.

Prevedouros, K., Brorström-Lundén, E., J. Halsall, C., Jones, K.C., Lee, R.G.M., Sweetman, A.J., 2004a. Seasonal and long-term trends in atmospheric PAH concentrations: evidence and implications. *Environmental Pollution* 128 (1-2), 17-27.

Prevedouros, K., Jones, K.C., Sweetman, A.J., 2004b. Modelling the atmospheric fate and seasonality of polycyclic aromatic hydrocarbons in the UK. *Chemosphere* 56 (3), 195-208.

Prieto, A., Telleria, O., Etxebarria, N., Fernandez, L.A., Usobiaga, A., Zuloaga, O., 2008. Simultaneous preconcentration of a wide variety of organic pollutants in water samples: Comparison of stir bar sorptive extraction and membrane-assisted solvent extraction. *Journal of Chromatography A* 1214 (1-2), 1-10.

Ramade, F., 2002. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. 2ème édition. Dunod, Paris, France.

Ratola, N., Lacorte, S., Alves, A., Barceló, D., 2006. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles by gas chromatography-mass spectrometry: Comparison of different extraction and clean-up procedures. *Journal of Chromatography A* 1114 (2), 198-204.

Ratola, N., Alves, A., Psillakis, E., 2010a. Biomonitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contamination in the Island of Crete Using Pine Needles. *Water, Air, & Soil Pollution* 215 (1), 189-203.

Ratola, N., Amigo, J.M., Alves, A., 2010b. Comprehensive assessment of pine needles as bioindicators of PAHs using multivariate analysis. The importance of temporal trends. *Chemosphere* 81 (11), 1517-1525.

Ratola, N., Amigo, J.M., Alves, A., 2010c. Levels and Sources of PAHs in Selected Sites from Portugal: Biomonitoring with *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* Needles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58 (3), 631-647.

Ratola, N., Amigo, J.M., Oliveira, M.S.N., Araújo, R., Silva, J.A., Alves, A., 2011. Differences between *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* as bioindicators of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental and Experimental Botany* 72 (2), 339-347.

Ravindra, K., Bencs, L., Wauters, E., de Hoog, J., Deutsch, F., Roekens, E., Bleux, N., Berghmans, P., Van Grieken, R., 2006. Seasonal and site-specific variation in vapour and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmospheric Environment* 40 (4), 771-785.

Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42 (13), 2895-2921.

Ribas, A., Peñuelas, J., 2004. Temporal patterns of surface ozone levels in different habitats of the North Western Mediterranean basin. *Atmospheric Environment* 38 (7), 985-992.

Rigét, F., Bignert, A., Braune, B., Stow, J., Wilson, S., 2010. Temporal trends of legacy POPs in Arctic biota, an update. *Science of The Total Environment* 408 (15), 2874-2884.

Rodil, R., Schellin, M., Popp, P., 2007. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and beverages using membrane-assisted solvent extraction in combination with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1163 (1-2), 288-297.

Rodriguez, J.H., Pignata, M.L., Fangmeier, A., Klumpp, A., 2010. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and trace elements in the bioindicator plants *Tillandsia capillaris* and *Lolium multiflorum* exposed at PM10 monitoring stations in Stuttgart (Germany). *Chemosphere* 80 (3), 208-215.

Rogge, W.F., Hildemann, L.M., Mazurek, M.A., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T., 1993a. Sources of fine organic aerosol. 5. Natural gas home appliances. *Environmental Science & Technology* 27 (13), 2736-2744.

Rogge, W.F., Hildemann, L.M., Mazurek, M.A., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T., 1993b. Sources of fine organic aerosol. 2. Noncatalyst and catalyst-equipped automobiles and heavy-duty diesel trucks. *Environmental Science & Technology* 27 (4), 636-651.

Ross, H., 1990. On the use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreberi*) for estimating atmospheric trace metal deposition. *Water, Air, & Soil Pollution* 50 (1), 63-76.

Rossini, P., Guerzoni, S., Molinaroli, E., Rampazzo, G., De Lazzari, A., Zancanaro, A., 2005. Atmospheric bulk deposition to the lagoon of Venice: Part I. Fluxes of metals, nutrients and organic contaminants. *Environment International* 31 (7), 959-974.

Roy, S., Sen, C.K., Hänninen, O., 1996. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons using moss bags: Bioaccumulation and responses of antioxidant enzymes in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere* 32 (12), 2305-2315.

Rühling, Å., Tyler, G., 1969. Ecology of heavy metals - a regional and historical study. *Botaniska Notiser* 122, 248-259.

Sablayrolles, C., 2004. Etude fondamentale des transferts des composés traces organiques aux plantes. Cas des systèmes amendés par des boues d'épuration. Thèse. Institut National Polytechnique de Toulouse, pp. 411.

Saim, N., Dean, J.R., Abdullah, M.P., Zakaria, Z., 1998. An Experimental Design Approach for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Highly Contaminated Soil Using Accelerated Solvent Extraction. *Analytical Chemistry* 70 (2), 420-424.

Sanders, G., Jones, K.C., Hamilton-Taylor, J., Dorr, H., 1995. PCB and PAH fluxes to a dated UK peat core. *Environmental Pollution* 89 (1), 17-25.

Sawidis, T., Tsikritzis, L., Tsigaridas, K., 2009. Cesium-137 monitoring using mosses from W. Macedonia, N. Greece. *Journal of Environmental Management* 90 (8), 2620-2627.

Schofield, W.B., 1981. Ecological significance of morphological characters in moss gametophyte. *Bryologist* 84, 149-165.

Schofield, W.B., 1985. Introduction to bryology. Blackburn Press, Caldwell, NJ, USA, pp. 431.

Schröder, W., Pesch, R., Englert, C., Harmens, H., Suchara, I., Zechmeister, H.G., Thöni, L., Mankovská, B., Jeran, Z., Grodzinska, K., Alber, R., 2008. Metal accumulation in mosses across national boundaries: Uncovering and ranking causes of spatial variation. *Environmental Pollution* 151 (2), 377-388.

Schröder, W., Holy, M., Pesch, R., Harmens, H., Fagerli, H., Alber, R., Coşkun, M., De Temmerman, L., Frolova, M., González-Miqueo, L., Jeran, Z., Kubin, E., Leblond, S., Liiv, S., Maňkovská, B., Piispanen, J., Santamaría, J.M., Simonè, P., Suchara, I., Yurukova, L., Thöni, L., Zechmeister, H.G., 2010a. First Europe-wide correlation analysis identifying factors best explaining the total nitrogen concentration in mosses. *Atmospheric Environment* 44 (29), 3485-3491.

Schröder, W., Holy, M., Pesch, R., Harmens, H., Ilyin, I., Steinnes, E., Alber, R., Aleksiyayenak, Y., Blum, O., Coşkun, M., Dam, M., De Temmerman, L., Frolova, M., Frontasyeva, M., González-Miqueo, L., Grodzińska, K., Jeran, Z., Korzekwa, S., Krmar, M., Kubin, E., Kvietskus, K., Leblond, S., Liiv, S., Magnússon, S., Maňkovská, B., Piispanen, J., Rühling, Å., Santamaría, J., Spiric, Z., Suchara, I., Thöni, L., Urumov, V., Yurukova, L., Zechmeister, H.G., 2010b. Are cadmium, lead and mercury concentrations in mosses across

Europe primarily determined by atmospheric deposition of these metals? *Journal of Soils and Sediments* 10, 1572-1584.

Sheu, H.-L., Lee, W.-J., Lin, S.J., Fang, G.-C., Chang, H.-C., You, W.-C., 1997. Particle-bound PAH content in ambient air. *Environmental Pollution* 96 (3), 369-382.

Shotbolt, L., Bükér, P., Ashmore, M.R., 2007. Reconstructing temporal trends in heavy metal deposition: Assessing the value of herbarium moss samples. *Environmental Pollution* 147 (1), 120-130.

Shukla, V., Upreti, D., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) accumulation in lichen *Phaeophyscia hispidula* of DehraDun City, Garhwal Himalayas. *Environmental Monitoring and Assessment* 149 (1), 1-7.

Sicard, P., 2006. Caractérisation des retombées atmosphériques en France en zone rurale sous forme de précipitations, gaz et aérosols. Analyse des tendances spatio-temporelles et des séries chronologiques. Thèse, Université des Sciences et Technologies de Lille, pp. 425.

Simonich, S.L., Hites, R.A., 1994. Importance of vegetation in removing polycyclic aromatic hydrocarbons from the atmosphere. *Nature* 370 (6484), 49-51.

Smith, D.J.T., Harrison, R.M., 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particles. In: R. M. Harrison and R. VanGrieken, *Atmospheric Particles*. Wiley, USA.

Smith, K.R., 1987. *Biofuels, Air Pollution, and Health—a Global Review*. Plenum Press, New York, USA.

Smith, P.N., Cobb, G.P., Godard-Codding, C., Hoff, D., McMurry, S.T., Rainwater, T.R., Reynolds, K.D., 2007. Contaminant exposure in terrestrial vertebrates. *Environmental Pollution* 150 (1), 41-64.

Sola Aleyeto, A., 1999. *Geografía general de Navarra*. Gobierno de Navarra. Departamento de Educacion y Cultura, Pamplona. 406 p. <http://dpto.educacion.navarra.es/publicaciones/pdf/geo.pdf> (16/02/12), Pamplona.

Soleille, S., Brignon, J.M., 2006. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France - HAP. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, pp. 50. http://www.ineris.fr/rsde/fiches/fiche_hydrocarbures_aromatiques_polycycliques_hap_2005_VF.pdf (29/12/2011).

Solga, A., Burkhardt, J., Zechmeister, H.G., Frahm, J.P., 2005. Nitrogen content, ¹⁵N natural abundance and biomass of the two pleurocarpous mosses *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. and *Scleropodium purum* (Hedw.) Limpr. in relation to atmospheric nitrogen deposition. *Environmental Pollution* 134 (3), 465-473.

Solga, A., Eichert, T., Frahm, J.P., 2006. Historical alteration in the nitrogen concentration and ¹⁵N natural abundance of mosses in Germany: Indication for regionally varying changes in atmospheric nitrogen deposition within the last 140 years. *Atmospheric Environment* 40 (40), 8044-8055.

Steinnes, E., Rambæk, J.P., Hanssen, J.E., 1992. Large scale multi-element survey of atmospheric deposition using naturally growing moss as biomonitor. *Chemosphere* 25 (5), 735-752.

Strother, P.K., Wood, G.D., W.A., T., Beck, J.H., 2004. Middle-Cambrian cryptospores and the origin of land plants. *Memoirs of the Association of Australian Paleontologists* 29, 99-113.

Sumerling, T.J., 1984. The use of mosses as indicators of airborne radionuclides near a major nuclear installation. *Science of The Total Environment* 35 (3), 251-265.

Tasdemir, Y.c., Esen, F., 2007. Urban air PAHs: Concentrations, temporal changes and gas/particle partitioning at a traffic site in Turkey. *Atmospheric Research* 84 (1), 1-12.

Tcherkez, G., 2010. *Isotopie biologique - Introduction aux effets isotopiques et à leurs applications en biologie*. Lavoisier, Paris, 237 pp.

Tenenhaus, M., 1998. *La régression PLS : théorie et pratique*. E. TECHNIP, Paris.

Tham, Y., Takeda, K., Sakugawa, H., 2008. Exploring the Correlation of Particulate PAHs, Sulfur Dioxide, Nitrogen Dioxide and Ozone, A Preliminary Study. *Water, Air, & Soil Pollution* 194 (1), 5-12.

Thimonier, A., 1998. Measurement of Atmospheric Deposition Under Forest Canopies: Some Recommendations for Equipment and Sampling Design. *Environmental Monitoring and Assessment* 52 (3), 353-387.

Thomas, W., 1979. Monitoring organic and inorganic trace substances by epiphytic mosses - a regional pattern of air pollution. In: *Proceedings of the 13th International Conferences on Trace Substances in Environmental Health*, Columbia, June 1979, 285-289.

Thomas, W., Rühling, Å., Simon, H., 1984. Accumulation of airborne pollutants (PAH, chlorinated hydrocarbons, heavy metals) in various plant species and humus. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* 36 (4), 295-310.

Thomas, W., Shunke, E., 1984. Polyaromatic hydrocarbons, chlorinated hydrocarbons, and trace metals in moss samples from Iceland. *Lindbergia* 10, 27-32.

Tian, X., Liu, J., Zhou, G., Peng, P., Wang, X., Wang, C., 2008. Estimation of the annual scavenged amount of polycyclic aromatic hydrocarbons by forests in the Pearl River Delta of Southern China. *Environmental Pollution* 156 (2), 306-315.

Tobiszewski, M., Namiesnik, J., 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution* 162 (0), 110-119.

Tranchant, J., 1995. *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse (Practical handbook of gas chromatography)*. Masson, Paris, France, pp. 362.

Tsapakis, M., Apostolaki, M., Eisenreich, S., Stephanou, E.G., 2006. Atmospheric Deposition and Marine Sedimentation Fluxes of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Eastern Mediterranean Basin. *Environmental Science & Technology* 40 (16), 4922-4927.

Turekian, V.C., Macko, S., Ballentine, D., Swap, R.J., Garstang, M., 1998. Causes of bulk carbon and nitrogen isotopic fractionations in the products of vegetation burns: laboratory studies. *Chemical Geology* 152 (1-2), 181-192.

Tyler, G., 1990. Bryophytes and heavy metals: a literature review. *Botanical Journal of the Linnean Society* 104 (1-3), 231-253.

UE, 2004. Directive 2004/107/CE du Parlement européen et du Conseil concernant l'arsenic, le cadmium, le mercure, le nickel et les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'air ambiant. Journal officiel n° L 023 du 26/01/2005. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004L0107:FR:HTML>.

UNECE, 1998. Protocol on Persistent Organic Pollutants. Long-Range Transboundary Air Pollution Convention. United Nations Economic Commission for Europe. Aarhus, Denmark. Available from: <http://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/lrtap/full%20text/1998.Pops.f.pdf>. (last accessed December 29, 2011).

Van Vaeck, L., K., Van Cauwenberghe, K., Janssens, J., 1984. The gas-particle distribution of organic aerosol constituents: Measurement of the volatilisation artefact in Hi-Vol cascade impactor sampling. *Atmospheric Environment* (1967) 18 (2), 417-430.

Vanderpoorten, A., Goffinet, B., 2009. Introduction to Bryophytes. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Vehviläinen, J., Isaksson, E., Moore, J., 2002. A 20th-century record of naphthalene in an icecore from Svalbard. *Annals of Glaciology* 35, 257-260.

Villeneuve, J.P., Cattini, C., Carvalho, F.P. (1997). "World-wide and regional intercomparison for the determination of organochlorine compounds and petroleum hydrocarbons in *Fucus* sample IAEA-140, International Atomic Energy Agency, Marine Environment Laboratory, Monaco." Retrieved January 16th, 2012, from http://nucleus.iaea.org/rpst/Documents/al_140.pdf.

Viskari, E.L., Rekilä, R., Roy, S., Lehto, O., Ruuskanen, J., Kärenlampi, L., 1997. Airborne pollutants along a roadside: Assessment using snow analyses and moss bags. *Environmental Pollution* 97 (1-2), 153-160.

Wang, D., Chen, J., Xu, Z., Qiao, X., Huang, L., 2005. Disappearance of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on surfaces of pine [*Pinus thunbergii*] needles under irradiation of sunlight: Volatilization and photolysis. *Atmospheric Environment* 39 (25), 4583-4591.

Wang, W., Massey Simonich, S.L., Giri, B., Xue, M., Zhao, J., Chen, S., Shen, H., Shen, G., Wang, R., Cao, J., Tao, S., 2011. Spatial distribution and seasonal variation of atmospheric bulk deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in Beijing-Tianjin region, North China. *Environmental Pollution* 159 (1), 287-293.

Wang, Y., Li, P.-h., Li, H.-l., Liu, X.-h., Wang, W.-x., 2010. PAHs distribution in precipitation at Mount Taishan: China. Identification of sources and meteorological influences. *Atmospheric Research* 95 (1), 1-7.

Wang, Z., Chen, J., Yang, P., Qiao, X., Tian, F., 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dalian soils: distribution and toxicity assessment. *Journal of Environmental Monitoring* 9 (2), 199-204.

Wang, Z., Ma, X., Na, G., Lin, Z., Ding, Q., Yao, Z., 2009. Correlations between physicochemical properties of PAHs and their distribution in soil, moss and reindeer dung at Ny-Ålesund of the Arctic. *Environmental Pollution* 157 (11), 3132-3136.

Wegener, J.W.M., van Schaik, M.J.M., Aiking, H., 1992. Active biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons by means of mosses. *Environmental Pollution* 76 (1), 15-18.

Weiss, D., Shotyk, W., Kramers, J.D., Gloor, M., 1999. Sphagnum mosses as archives of recent and past atmospheric lead deposition in Switzerland. *Atmospheric Environment* 33 (23), 3751-3763.

Weiss, P., Lorbeer, G., Scharf, S., 2000. Regional aspects and statistical characterisation of the load with semivolatile organic compounds at remote Austrian forest sites. *Chemosphere* 40 (9-11), 1159-1171.

Wenzel, K.-D., Hubert, A., Manz, M., Weissflog, L., Engewald, W., Schüürmann, G., 1998. Accelerated Solvent Extraction of Semivolatile Organic Compounds from Biomonitoring Samples of Pine Needles and Mosses. *Analytical Chemistry* 70 (22), 4827-4835.

Wiersum, U.E., 1996. The Formation of Polycyclic Aromatics, Fullerenes and Soot in Combustion. The Mechanism and the Environmental Connection. *Polycyclic Aromatic Compounds* 11 (1-4), 291-300.

Wilson, D., Stock, W.D., Hedderson, T., 2009. Historical nitrogen content of bryophyte tissue as an indicator of increased nitrogen deposition in the Cape Metropolitan Area, South Africa. *Environmental Pollution* 157 (3), 938-945.

Wolska, L., Rawa-Adkonis, M., Namiesnik, J., 2005. Determining PAHs and PCBs in aqueous samples: finding and evaluating sources of error. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382 (6), 1389-1397.

Xiao, H.-Y., Tang, C.-G., Xiao, H.-W., Wang, Y.-L., Liu, X.-Y., Liu, C.-Q., 2010. Tissue S/N ratios and stable isotopes ($\delta^{34}\text{S}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of epilithic mosses (*Haplocladium microphyllum*) for showing air pollution in urban cities in Southern China. *Environmental Pollution* 158 (5), 1726-1732.

Yogui, G.T., Sericano, J.L., 2008. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in lichens and mosses from King George Island, maritime Antarctica. *Chemosphere* 73 (10), 1589-1593.

Zechmeister, H., Dullinger, S., Hohenwallner, D., Riss, A., Hanus-Ilmar, A., Scharf, S., 2006. Pilot study on road traffic emissions (PAHs, heavy metals) measured by using mosses in a

tunnel experiment in Vienna, Austria. *Environmental Science and Pollution Research* 13 (6), 398-405.

Zechmeister, H.G., 1995. Correlation between altitude and heavy metal deposition in the Alps. *Environmental Pollution* 89, 73-80.

Zielinska, B., 2005. Atmospheric transformation of diesel emissions. *Experimental and Toxicologic Pathology* 57 (Supplement 1), 31-42.

Zmirou, D., Aubier, M., Bonnaud, F., Charpin, D., Blay de Gaix, F., Duriez, M., Geiger, P., Goldberg, M., Grzegorzulka, O., Koppel, A., Lameloise, P., Masse, R., Momas, I., Potelon, J.L., Quenel, P., Roussel, I., 2000. Politiques publiques, pollution atmosphérique et santé : poursuivre la réduction des risques - Rapport de juin 2000. Haut comité de la santé publique, Paris, France, pp. 165. www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics//004001641/0000.pdf (29/12/2011).

LISTE DES FIGURES

Figure I-1. Liste des HAP classés comme polluants prioritaires par l'USEPA.....	20
Figure I-2. Pyrosynthèse de HAP à partir de l'éthane (<i>D'après Ravindra et al., 2008</i>).....	23
Figure I-3. Processus de dépôts des polluants (<i>Martin et Maystre, 1988</i>)	27
Figure I-4. Structure chimique du benzo(a)pyrène (cancérogène) et du pyrène (non listé comme cancérogène) .	29
Figure I-5. Distribution relative des HAP entre la phase gazeuse et la phase particulaire dans l'air de Chicago (<i>D'après Odabasi et al., 1999 ; CRB : carbazole ; Les barres d'erreur représentent l'écart-type</i>).....	32
Figure I-6. Relations phylogénétiques entre les lignées majeures de plantes terrestres éteintes et existantes basées sur leurs caractéristiques morphologiques (<i>Vanderpoorten et Goffinet, 2009</i>)	43
Figure I-7. Cycle de vie des bryophytes (<i>D'après Vanderpoorten et Goffinet, 2009</i>)	44
Figure I-8. Morphologie et anatomie de <i>Brymela websteri</i> (Pilotrichaceae), un exemple de mousse.....	47
Figure I-9. Cellules conductrices d'eau chez la mousse <i>Dawsonia</i> observées au microscope électronique à balayage : coupe transversale (a) et longitudinale (b) (<i>Vanderpoorten et Goffinet, 2009</i>).....	48
Figure I-10. Cellule de transport des produits de la photosynthèse chez la mousse <i>Mnium hornun</i> , observée au microscope électronique à transmission, montrant : (a) la concentration des mitochondries m, du noyau n et des plastides p à l'extrémité distale de la cellule et (b) les microtubules (flèches) s'étendant du noyau au cytoplasme	48
Figure I-11. Exemples de mousses pleurocarpe et acrocarpe.....	59
Figure I-12. Collecteur de dépôts secs et humides utilisé à l'Agence Nationale du Conseil Supérieur des Recherches Scientifiques d'Espagne.....	65
Figure I-13. Collecteur de dépôts liquides de type PR1410 utilisé par le réseau EMEP.....	66
Figure I-14. Exemples de collecteurs de dépôts totaux adoptés par : (a) European Monitoring and Evaluation Programme (Europe, 1977) & Environmental Data Center (USA, 1993) ; (b) Working Group for Environmental Monitoring (Suède, 1989) ; (c) Programme « Forest Damage by Air Pollution » (Allemagne, 1989) ; (d) Centre de recherche de Klosterhede (Danemark, 1989) ; (<i>D'après Thimonier, 1998</i>)	70
Figure I-15. Gouttières pour la collecte des pluiolessivats : trois gouttières en PVC disposées en épis sont connectées à un même bidon de 10 L, placé dans une fosse (<i>Gandois, 2009</i>)	71
Figure I-16. Collecteur de dépôts totaux destiné à l'étude des composés organiques persistants : un entonnoir (\varnothing 23,4 cm) en verre Pyrex® est raccordé à une bouteille en verre Pyrex® de 2 L (<i>Guerzoni et al., 2004</i>)	73
Figure I-17. Exemple de procédure d'extraction par SPE sur cartouche C ₁₈	81
Figure I-18. Schéma d'un barreau de micro-extraction (<i>stir bar</i>)	82
Figure II-1. Schéma représentant les étapes développées pour déterminer les teneurs en HAP dans les dépôts totaux et les mousses.....	95
Figure II-2. Lyophilisation des échantillons de mousses : (a) Lyophilisateur Alpha 2-4 LD ; (b) <i>Isothecium myosuroides</i> Brid. lyophilisé ; (c) <i>Hypnum cupressiforme</i> lyophilisé	99
Figure II-3. Broyage des échantillons de mousses lyophilisées : (a) Broyeur de laboratoire ; (b) Broyat obtenu	100
Figure II-4. Extraction de dépôts totaux réalisée dans des ampoules de 2 L en teflon® à l'aide d'un agitateur Agitelec AG	101
Figure II-5. Soxtec System HT2 (Tecator, France) en cours d'utilisation en mode « rinçage» : (a) Dispositif d'extraction ; (b) Extraits de mousses en fin d'extraction.....	102
Figure II-6. Extraction de mousses par PLE : (a) Dispositif d'extraction ASE 200 ; (b) Extraits en fin d'extraction	103
Figure II-7. Concentration des extraits : (a) Dispositif d'évaporation Turbovap II ; (b) Extrait concentré de dépôts totaux ; (c) Extrait concentré de mousses.....	104
Figure II-8. Purification d'extraits de mousses par SPE	105
Figure II-9. Concentration des extraits purifiés sous courant d'azote	105
Figure II-10. Dispositif d'analyse par CLHP-FLD	107
Figure II-11. Schéma représentant l'étalonnage réalisé pour les analyses de HAP par CLHP-FLD	109
Figure II-12. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'une solution étalon de HAP à 10 ng.L ⁻¹ dans l'acetonitrile (<i>ANT d₁₀ et B(a)P d₁₀ sont à 45 ng.mL⁻¹ et FTN d₁₀ à 100 ng.mL⁻¹</i>)	110
Figure II-13. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'un extrait de dépôts totaux échantillonné en 2011 dans le Parc Naturel de Bertiz obtenu par extraction liquide-liquide.....	112
Figure II-14. Taux de pertes de HAP (%) lors d'un stockage de 1 mois à -20 °C dans des flacons en PE d'un échantillon d'eau du robinet dopé avec 10 ng.L ⁻¹ avec chacun des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA ..	116

Figure II-15. Boîtes à moustaches des rendements d'extraction par PLE des HAP contenus dans les mousses obtenus sur l'ensemble du domaine d'expérience du plan factoriel : rendements des HAP légers (NAP → PYR) évalués avec l'ANT d ₁₀ et des HAP lourds (B(a)A → IND) évalués avec le B(a)P d ₁₂	121
Figure II-16. Diagrammes d'interaction obtenus avec le logiciel Nemrodw [®] à partir des rendements obtenus pour la fraction lourde des HAP (B(a)A → IND) : (a) Interaction entre la température (T) et la durée d'extraction statique (t _s) ; (b) Interaction entre la température d'extraction (T) et le nombre de cycles (N).....	123
Figure II-17. Courbes d'iso-réponse représentant l'influence des paramètres opérationnels sur les rendements en HAP lourds.....	124
Figure II-18. Extraits obtenus lors des expériences 1 à 8 du plan d'expériences.....	124
Figure II-19. Chromatogramme obtenu par CLHP-FLD après injection d'un extrait de mousse <i>Hypnum cupressiforme</i> échantillonné en 2010 dans le Parc Naturel de Bertiz obtenu avec la procédure d'extraction optimale suivi d'une purification sur cartouches de Florisil [®]	126
Figure II-20. Chromatogramme obtenu après une purification avec une cartouche Strata NH ₂ (1 g/6 mL).....	129
Figure II-21. Aspect des extraits avant purification (a) et après purification par les cartouches : LC-Florisil (b) ; LC-Si (c) ; Strata Alumina-N 120 µm (d).....	129
Figure II-22. Rendements d'extractions obtenus après extraction avec les conditions optimales de PLE suivi par différentes purifications.....	130
Figure II-23. Concentrations moyennes de 9 HAP mesurées dans le matériau de référence IAEA-140/OC Fucus en fonction des valeurs moyennes certifiées données par l'AIEA (ng.g ⁻¹ , MS).....	132
Figure III-1. Charbonnières reconstituées au sein du Parc Naturel de Bertiz.....	139
Figure III-2. Espèces analysées pour l'étude historique des retombées atmosphériques de HAP à Bertiz : (a) <i>Dicranum scoparium</i> Hedw., (b) <i>Thuidium tamariscinum</i> Hedw. Schimp, (c) <i>Thamnobryum alopecurum</i> Hedw. Gangulee (d) <i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. (Source : www.biopix.eu).....	140
Figure III-3. Procédure analytique appliquée aux mousses d'herbier (<i>Dicranum scoparium</i> , <i>Hypnum cupressiforme</i> , <i>Thamnobryum alopecurum</i> ou <i>Thuidium tamariscinum</i>) pour déterminer leurs teneurs en HAP.....	142
Figure III-4. Variations temporelles des teneurs en azote (% de masse sèche) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz pendant trois périodes d'échantillonnage : 1879 – 1881 (XIX ^{ème} siècle), 1973 – 1975 (XX ^{ème} siècle) et 2006 – 2007 (XXI ^{ème} siècle), puis conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune.....	146
Figure III-5. Variations temporelles de δ ¹³ C (‰) et δ ¹⁵ N (‰) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz pendant trois périodes d'échantillonnage : 1879 – 1881 (XIX ^{ème} siècle), 1973 – 1975 (XX ^{ème} siècle) et 2006 – 2007 (XXI ^{ème} siècle), puis conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune.....	147
Figure III-6. Concentration totale en HAP dans les mousses datant du XIX ^{ème} , XX ^{ème} et XXI ^{ème} siècle (ng.g ⁻¹ , MS) et concentrations d'équivalence toxique (TEQ) (ng.g ⁻¹ , MS).....	153
Figure III-7. Analyse par composantes principales (ACP) des concentrations en HAP et en métaux lourds mesurés dans les échantillons prélevés à Bertiz entre 1879 et 2007 et conservés dans l'herbier de l'Université de Navarre (obtenue avec le logiciel Unscrambler [®]).....	155
Figure III-8. Concentrations moyennes en métaux lourds (en µg.g ⁻¹ , MS) dans les mousses prélevées à Bertiz pendant les périodes 1879-1881, 1973-1975 et 2006-2007, et conservées dans l'herbier de l'Université de Pampelune.....	155
Figure III-9. Analyse par composantes principales des concentrations en HAP dans les différentes espèces de mousses prélevées à Bertiz entre 1879 et 2007 et conservées dans l'herbier de l'Université de Navarre (obtenue avec le logiciel XLSTAT [®] 2008).....	157
Figure IV-1. Localisation du Parc Naturel de Bertiz en Espagne et en Navarre.....	165
Figure IV-2. Carte topographique du Parc Naturel de Bertiz (GN, 2007).....	166
Figure IV-3. Parcelles intensives, localisées (a) dans un champ et (b) dans une forêt de hêtres, où ont été prélevés les dépôts totaux de juin 2010 à mai 2011.....	169
Figure IV-4. Schémas représentant les parcelles intensives où ont été disposés les collecteurs de dépôts totaux destinés à l'analyse des HAP : (a) Parcelle située dans un champ, (b) Parcelle située en forêt.....	170
Figure IV-5. Collecteur de dépôts totaux pour l'évaluation des dépôts atmosphériques de HAP : (a) Entonnoir en verre et bouteille de collecte, (b) Plaque en Teflon [®] perforée pour la récupération de la litière, (c) Support du collecteur en acier inoxydable et tube en PVC pour la protection contre la lumière.....	172
Figure IV-6. Evolution de la pluviométrie et des températures minimales (T _{min}) et maximales (T _{max}) dans le Parc Naturel de Bertiz de juin 2010 à mai 2011 (GN, 2011).....	175
Figure IV-7. Evolution de l'éclairement moyen mensuel (en W.m ⁻²) et de l'ensoleillement total mensuel (en h) à Gorramendi (station météorologique située à 15 km de Bertiz) entre juin 2010 à mai 2011 (GN, 2011).....	175

Figure IV-8. (a) Représentation graphique du panorama projeté lors de la réalisation de photographies hémisphériques ; (b) Exemple de photographie hémisphérique de canopée (<i>D'après Frank et al., 2005</i>).....	176
Figure IV-9. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les dépôts totaux.....	177
Figure IV-10. Prélèvement de <i>Hylocomium splendens</i> (Hedw.) Schimp. dans le Massif de Aralar : (a) Site de prélèvement à la lisière d'une forêt de hêtres ; (b) Prélèvement d'un tapis de mousses terricoles ; (c) Brin de <i>Hylocomium splendens</i> caractérisé par des tiges rougeâtres.....	180
Figure IV-11. Prélèvement de <i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. dans le Massif de Aralar : (a) Site de prélèvement dans une forêt de hêtres ; (b) Tapis de mousses épiphytes sur une souche.....	180
Figure IV-12. Dispositif accueillant les transplants de mousses : (a) Lit de billes d'argile expansée, (b) Feutre de jardin perméable, (c) Auge contenant des transplants de <i>Hylocomium splendens</i>	181
Figure IV-13. Biosurveillance active hors couvert des retombées atmosphériques de HAP : (a) Localisation des transplants de mousses dans l'arboretum du Parc Naturel de Bertiz ; (b) Transplants de mousses.....	181
Figure IV-14. Biosurveillance active sous couvert forestier des retombées atmosphériques de HAP.....	182
Figure IV-15. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses utilisées pour l'étude active de biosurveillance des dépôts atmosphériques de HAP dans le Parc Naturel de Bertiz.....	183
Figure IV-16. Variations temporelles du volume moyen de dépôts totaux collectés en champ et en forêt ; comparaison avec le volume théorique de précipitations cumulées calculé à partir des données quotidiennes de pluviométrie (GN, 2011).....	185
Figure IV-17. Volume théorique de précipitations cumulées dans les collecteurs de dépôts totaux durant l'année d'échantillonnage (<i>Pl</i> , calculé à partir des données de pluviométrie quotidienne) et variation spatiale du volume cumulé de dépôts totaux dans les différents collecteurs mis en place dans le Parc Naturel de Bertiz (<i>DA</i> : collecteurs en champ ; <i>DB</i> : collecteurs en forêt).....	186
Figure IV-18. Variations temporelles des flux journaliers de 6 HAP et de la somme de ces flux, déterminés à partir d'échantillons moyens mensuels de dépôts totaux recueillis en champ (a) et sous la canopée forestière (b).....	189
Figure IV-19. Evolution saisonnière des flux journaliers de HAP (somme des flux de PHE, ANT, PYR, B(b)F, B(k)F et B(a)P, en $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) et des teneurs en ozone et dioxyde de soufre dans l'air ambiant (en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), mesurés hors couvert forestier à Bertiz entre juin 2010 et mai 2011.....	193
Figure IV-20. Variabilité inter-espèces : teneurs en HAP individuels (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) en $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (masse sèche) dans les échantillons de mousse <i>Hypnum cupressiforme</i> ($n = 3$) en fonction de celles dans <i>Hylocomium splendens</i> ($n = 3$) prélevées après 68 jours de biosurveillance active hors couvert forestier dans le Parc Naturel de Bertiz.....	198
Figure IV-21. Teneurs totales ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, MS) en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A, B(ghi)P) dans les mousses <i>Hylocomium splendens</i> prélevées dans le Massif d' Aralar et installées de juin 2010 à mai 2011 dans une forêt de hêtres du Parc Naturel de Bertiz.....	200
Figure IV-22. Concentrations individuelles moyennes en HAP ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, MS) dans les mousses <i>Hylocomium splendens</i> prélevées dans le Massif d' Aralar et exposées de juin 2010 à mai 2011 aux dépôts atmosphériques dans une forêt de hêtres du Parc Naturel de Bertiz.....	200
Figure IV-23. Variations saisonnières entre juin 2010 et mai 2011 des rapports de diagnostic FTN/(FTN+PYR) et B(a)P/B(ghi)P dans les mousses exposées aux retombées atmosphériques de Bertiz.....	201
Figure IV-24. Teneurs totales en 13 HAP dans les mousses <i>Hylocomium splendens</i> prélevées dans le Massif d' Aralar et exposées de juin 2010 à septembre 2010 aux dépôts atmosphériques hors couvert forestier ($n = 3$) et en forêt ($n = 8$) dans le Parc Naturel de Bertiz.....	203
Figure IV-25. Variations temporelles du LAI ($\text{m}^2\cdot\text{m}^{-2}$) mesuré au-dessus de chaque auge de mousses (B1-18) entre juillet en novembre 2010.....	204
Figure IV-26. Variations saisonnières entre juillet 2010 et mai 2011 des retombées atmosphériques de HAP mesurées dans les dépôts totaux ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}$) et des concentrations en HAP dans les mousses ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$).....	206
Figure IV-27. Variations saisonnières entre juillet 2010 et mai 2011 de la distribution des HAP dans (a) les dépôts et (b) les mousses.....	207
Figure V-1. Distribution spatiale des concentrations moyennes annuelles de B(a)P (en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) mesurées en 2009 au niveau des sites de surveillance EMEP (<i>Gusev et al., 2011</i>).....	216
Figure V-2. Concentrations moyennes en plomb dans les mousses européennes en 1990 et 2005 (résolution de $50*50$ km) (<i>Harmens et al., 2008a</i>).....	217
Figure V-3. Localisation de la Navarre en Espagne et carte topographique la région.....	220
Figure V-4. Précipitations cumulées (a) et températures moyennes (b) du 1/09/2009 au 31/08/2010 en Navarre.....	220
Figure V-5. (a) Densité de population en Navarre en 1999 (<i>Sola Aleyeto, 1999</i>) ; (b) Réseau routier de Navarre en 2012 (<i>Source : Sistema de Información Territorial de Navarra, www.sitna.navarra.es</i>).....	220

Figure V-6. (a) La Suisse et ses agglomérations principales (Source : http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/pays-zones-geo/suisse/); (b) Topographie de la Suisse ; (c) Grandes régions géologiques de Suisse (Source : Office fédéral de topographie suisse, http://www.swisstopo.admin.ch/internet/swisstopo/fr/home.html)	223
Figure V-7. Températures moyennes en °C (a) et pluviométrie annuelle en mm (b) mesurées en 2010 en Suisse	223
Figure V-8. (a) Densité de population en Suisse et population des villes ; (b) Densité du trafic automobile en Suisse en 2005 (Source : Office fédéral de la statistique, http://www.bfs.admin.ch/bfs/portal/fr/index.html) ...	223
Figure V-9. Localisation de l'Île-de-France et des départements de la région (avec leurs préfetures).....	225
Figure V-10. Températures annuelles moyennes (a) et pluviométrie cumulée moyenne (b) en France évaluées sur la période 1961-1990 (Source : MeteoFrance)	225
Figure V-11. (a) Occupation des sols en Île-de-France en 1999 (Source : INSEE) ; (b) Réseau routier d'Île-de-France – Trafics journaliers moyens en 2002-2003 (IAU, 2005)	225
Figure V-12. Localisation des 61 sites de prélèvement de mousses en Europe	230
Figure V-13. Espèces de mousses prélevées en Europe dans le cadre du PIC-Végétation (Harmens <i>et al.</i> , 2008a)	231
Figure V-14. Procédure analytique utilisée pour déterminer les teneurs en HAP dans les mousses européennes	233
Figure V-15. Echantillon de mousse <i>Hypnum cupressiforme</i> lyophilisé et broyé ($\phi < 50 \mu\text{m}$) destiné à l'analyse élémentaire et isotopique du carbone et de l'azote.....	234
Figure V-16. (a) Balance micrométrique utilisée pour peser les nacelles d'échantillon, (b) Matériel utilisé pour préparer les nacelles : miroir, pinces et spatule en acier inoxydable, (c) Plaquette contenant les échantillons pour prêts pour l'analyse	234
Figure V-17. Dispositif utilisé au laboratoire Bioemco (Paris) pour analyser les teneurs élémentaires en N,C et les rapports isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$	234
Figure V-18. Distribution spatiale au nord de la Navarre des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées du 28/09/2010 au 16/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Roses des vents réalisés à partir de données météorologiques recueillies par les stations automatiques de Navarre : Beortegi (Latitude : 42,7996 ; Longitude : -1,4334; Altitude : 580 m) ; Aguilar de Codes (Latitude : 42,6145 ; Longitude : -2,3939 ; Altitude : 736 m) ; Extarri-Aranatz (Latitude : 42,9103 ; Longitude : -2,0583 ; Altitude : 505 m) ; Doneztebe-Santesteban (Latitude : 43,1325 ; Longitude : -1,6597 ; Altitude : 125 m) (Source : http://meteo.navarra.es/climatologia/fichasclimaticasaut.cfm)	240
Figure V-19. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : le Parc Naturel de Bertiz (n°2), un site avec une faible contamination (n°4), un site fortement contaminé par des émissions locales (n°19) ou par une pollution transfrontalière (n°22)	242
Figure V-20. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)	244
Figure V-21. Distribution spatiale au nord de la Suisse (avec un zoom sur la région de Bâle) des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées du 18/08/2010 au 18/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Rose des vents des stations météorologiques de Basel/Binningen (moyenne 2009-2012) (www.windfinder.com) et de Berne, Zürich et Saint-Gall (moyenne 1981-2000) (www.meteoschweiz.ch).	247
Figure V-22. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : un site avec une faible contamination (M2), un site fortement contaminé par des émissions du trafic routier (M56) et par des émissions industrielles (P3)	249
Figure V-23. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées au nord de la Suisse du 18/08/2010 au 18/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0).....	251
Figure V-24. Distribution spatiale en Île-de-France des teneurs totales en 13 HAP (ACE, FLR, PHE, ANT, FTN, PYR, B(a)A, CHR, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A et B(ghi)P) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0) ; Rose des vents des stations météorologiques de Magnanville, Paris Montsouris, Torcy et Roissy-en-France (moyenne 2010-2012) (Sources : MeteoFrance, www.windfinder.com).....	254
Figure V-25. Contribution des HAP individuels à la concentration totale des 13 HAP en fonction du site étudié : un site avec une faible contamination (n°3), un site fortement contaminé par des émissions du trafic routier (n°1) et par des émissions industrielles (n°17).....	255

Figure V-26. Distribution spatiale en Île-de-France des teneurs totales en benzo(a)pyrène dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)	256
Figure V-27. Moyennes annuelles des concentrations en particules (a) < 10 µm (PM10) et (b) < 2,5 µm (PM2,5) en Île-de-France en 2009 (Source : www.airparif.asso.fr)	257
Figure V-28. Distribution du rapport des isotopes stables de l'azote δ ¹⁵ N (en ‰) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevées en Île-de-France du 4/10/2010 au 10/10/2010, représentée à l'aide du logiciel 3DField® (version 2.9.7.0)	259
Figure V-29. Analyse par Composantes Principales des concentrations en HAP dans les mousses européennes obtenue avec Unscrambler®	261
Figure V-30. Rapports de diagnostic B(a)A/(B(a)A+CHR) en fonction de FTN/(FTN+PYR) dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> prélevés en 2010 sur 61 sites d'Île-de-France, Suisse et Navarre	263
Figure V-31. Analyse par Composantes Principales des teneurs en carbone et azote et des rapports des isotopes stables de ces éléments dans les mousses européennes, obtenue avec XLSTAT 2008®	264
Figure V-32. Pourcentages moyens d'occupation des sols à un rayon de 10 km autour des sites des trois régions d'étude (Source : http://www.eea.europa.eu/publications/COR0-landcover). Les barres d'erreur représentent les valeurs minimales et maximales.....	266
Figure V-33. Représentation graphique de la régression des moindres carrés partiels (PLS) des teneurs en HAP dans les mousses en fonction des données d'occupation des sols (variables explicatives X) pour les 61 sites de prélèvement en Europe, obtenue avec XLSTAT 2008®	267

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1. HAP (avec les abréviations adoptées) classés en fonction du nombre de noyaux aromatiques.....	21
Tableau I-2. Caractéristiques physico-chimiques des 16 HAP de la liste prioritaire de l'USEPA.....	22
Tableau I-3. Classement des HAP en fonction de leur cancérogénicité par différents organismes et facteurs d'équivalence toxique (FET) disponibles dans la littérature (<i>Doornaert et al., 2003 ; CIRC, 2010</i>) – Exemples de FET recommandés par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA).....	28
Tableau I-4. Estimation des temps de demi-vie des HAP gazeux à partir des cinétiques de dégradation déterminées expérimentalement (<i>Zielinska, 2005</i>).....	33
Tableau I-5. Facteurs influençant la dégradation du B(a)P associé à l'aérosol de combustion de bois (<i>Kamens et al., 1990</i>).....	33
Tableau I-6. Temps de demi-vie des HAP dégradés par photolyse sur différents supports (<i>Behymer et Hites, 1985</i>).....	34
Tableau I-7. Concentrations en HAP dans l'air ambiant (ng.m^{-3}).....	37
Tableau I-8. Concentrations et flux associés aux dépôts totaux atmosphériques.....	41
Tableau I-9. Principaux bioindicateurs utilisés pour étudier les dépôts atmosphériques de HAP.....	57
Tableau I-10. Espèces de mousses utilisées comme bioindicateurs passifs de HAP atmosphériques répertoriées dans la littérature (classées par ordre chronologique).....	61
Tableau I-11. Teneurs en HAP mesurées dans des mousses prélevées en milieu rural (moyennes et valeurs extrêmes) (ng.g^{-1} , MS).....	63
Tableau I-12. Caractéristiques des collecteurs et des protocoles d'échantillonnage utilisés lors d'études de HAP dans les dépôts totaux.....	72
Tableau I-13. Protocoles de séchage et de stockage d'échantillons de mousses et de lichens destinés à l'analyse des HAP.....	76
Tableau I-14. Techniques d'extraction et de micro-extraction appliquées aux dépôts humides, aux dépôts totaux ou à l'eau destinée à la consommation humaine pour la détermination de leurs teneurs en HAP.....	79
Tableau I-15. Comparaison des différentes techniques d'extraction de HAP appliquées aux échantillons d'eau.....	85
Tableau II-1. Propriétés des solvants utilisés.....	97
Tableau II-2. Gradient d'éluion binaire acétonitrile/eau utilisé pour l'analyse des HAP.....	107
Tableau II-3. Paramètres analytiques de la détermination des HAP par CLHP-FLD.....	108
Tableau II-4. Limites de détection et de quantification des HAP par CLHP-FLD.....	111
Tableau II-5. Validation de la procédure analytique d'extraction et d'analyse des HAP dans les dépôts totaux : évaluation des limites de quantification, de la reproductibilité et de la précision.....	113
Tableau II-6. Concentrations en HAP (ng.L^{-1}) mesurées dans un échantillon composite de dépôts totaux prélevé en décembre 2010 sous le couvert forestier du Parc Naturel de Bertiz.....	115
Tableau II-7. Plan factoriel centré du premier ordre.....	119
Tableau II-8. Plan factoriel centré utilisé pour l'extraction des HAP des mousses par ASE.....	120
Tableau II-9. Coefficients obtenus par régression multilinéaire (modèle du premier ordre) des rendements d'extraction des fractions légères et lourdes de HAP, associés aux valeurs p obtenues par le test de Student ainsi que leur degré de significativité.....	122
Tableau II-10. Concentrations en HAP (ng.g^{-1} , MS) mesurées dans les mousses <i>Isothecium myosuroides</i> Brid. avec les conditions optimales d'extraction par PLE et comparaison avec les valeurs obtenues par Soxtec.....	127
Tableau II-11. Valeurs certifiées et informatives de concentrations en HAP dans le matériau de référence IAEA-140/OC Fucus (médiane et intervalle de confiance de 95% établis avec n résultats).....	131
Tableau III-1. Concentrations en HAP (ng.g^{-1} , masse sèche) dans les mousses prélevées sur le site de Bertiz au XIX ^{ème} , XX ^{ème} et XXI ^{ème} siècles : valeurs moyennes et étendue des mesures (minimum – maximum).....	150
Tableau IV-1. Concentrations mensuelles moyennes de HAP (ng.L^{-1}) mesurés dans les dépôts totaux collectés en champ (2 collecteurs) et sous la canopée forestière (6 collecteurs) pendant des périodes d'échantillonnage estivale (11/06/2010 → 20/07/2010) et automnale (13/10/2010 → 10/11/10).....	187
Tableau IV-2. Flux journaliers moyens de HAP sous la canopée forestière ($\text{ng.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) avec les écarts-types relatifs associés (%) pour les 6 collecteurs de pluviollessivats, évalués pendant des périodes d'échantillonnage estivale (11/06/2010 → 20/07/2010) et automnale (13/10/2010 → 10/11/10).....	187
Tableau IV-3. Flux atmosphériques de 6 HAP (en ng.m^{-2}) dans le parc Naturel de Bertiz dans les dépôts totaux entre juin 2010 et mai 2011 (326 jours) mesurés hors et sous couvert forestier.....	190

Tableau IV-4. Corrélations de Pearson significatives entre les flux mensuels moyens de HAP (composés individuels et total $\Sigma_6\text{HAP}$) et les flux moyens mensuels d'anions et de métaux lourds ainsi que les teneurs en O_3 et NO_2 dans l'air ambiant, mesurés à Bertiz entre juin 2010 et mai 2011	194
Tableau IV-5. Concentrations moyennes et médianes de 13 HAP (ng.g^{-1} masse sèche) avec les écarts-types associés dans deux espèces de mousses échantillonnées sur un site reculé du Massif d'Aralar (Navarre, Espagne) : <i>Hylocomium splendens</i> (Hedw.) Schimp. (n = 11) et <i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. (n = 3).	197
Tableau IV-6. Corrélations de Pearson ($p < 0,01$) entre les propriétés physico-chimiques des HAP, leurs teneurs dans les dépôts totaux, les mousses et le facteur de bioconcentration (FBC)	208
Tableau V-1. Caractéristiques géographiques des trois régions étudiées : le nord de la Navarre, le Plateau Suisse avec la région de Bâle ainsi que l'Île-de-France	228
Tableau V-2. Concentrations individuelles et totales ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) en HAP (en ng.g^{-1} , masse sèche) mesurées dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> échantillonnées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010.....	238
Tableau V-3. Teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (% , masse sèche) dans les échantillons de mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> échantillonnées en Navarre du 28/09/2010 au 16/10/2010	243
Tableau V-4. Concentrations individuelles et totales ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) en HAP (en ng.g^{-1} , masse sèche), teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (% , masse sèche) mesurées dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> échantillonnées en Suisse du 18/08 au 18/10/2010.....	248
Tableau V-5. Concentrations individuelles et totales ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) de HAP (en ng.g^{-1} , masse sèche), teneurs en carbone et azote (% , masse sèche) et rapports isotopiques de C et N (% , masse sèche) mesurées dans les mousses <i>Hypnum cupressiforme</i> échantillonnées en France du 4/10/2010 au 10/10/2010	253
Tableau V-6. Données de pluviométrie des stations météorologiques de Navarre, situées dans un rayon de 10 km des sites de prélèvement (Source : http://meteo.navarra.es).....	271
Tableau V-7. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations en HAP lourds ou la concentration totale en HAP ($\Sigma_{13}\text{HAP}$) et les métaux lourds dans les mousses prélevées en Suisse.....	273
Tableau V-8. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations de certains HAP lourds et métaux lourds dans les mousses prélevées en Navarre	273
Tableau V-9. Corrélations de Pearson significatives entre les concentrations en HAP dans les mousses (ng.g^{-1}) et les teneurs en NH_3 , NO_2 et PM_{10} dans l'air ambiant ($\mu\text{g.g}^{-1}$).....	274

Lire
la seconde partie
de la thèse