

Analyse des hydrocarbures et des acides gras dans les sédiments superficiels prélevés à proximité du rejet des eaux usées de la zone industrielle de la ville d'El Jadida (Côte Atlantique Marocaine)

I.T. Lançar^{1,*}, N. Bouchry¹, B. Tabyaoui¹, G. Mille² et P. Doumenq²

¹ *Labomtoire de Chimie Organique et Bioorganique, Unite Pesticides et Micropolluants Organiques, Faculté des Sciences, Université Chouaib Doukkali, BP. 20, El Jadida, Maroc*

² *Labomtoire de Chimie Analytique de l'Environnement, Faculte des Sciences et Techniques de Saint Jérôme, 13397 Marseille cedex 20, France*

* Correspondance et tirés-à-part.

ABSTRACT

Marine sediments collected near the El Jadida industrial sewage (Moroccan Atlantic Coastal) have been analysed in order to determine and to compare the amounts of : extractable organic matter, saturated and aromatic hydrocarbons and fatty acids. The quantitative and qualitative analysis of hydrocarbons (saturated and aromatics) is useful to know the **origine** of these compounds. Generally, petroleum hydrocarbons are predominant, but **biogenic** hydrocarbons are also present. The analysis are conducted by capillary gas **chromatography**, capillary gas **chromatography/mass spectrometry** and U.V. fluorescence (synchronous excitation) methods.

RÉSUMÉ

Des **sédiments marins prélevés** sur le littoral d'El Jadida, à **proximité** d'une zone de **rejet industriel**, ont été analysés afin de déterminer et de comparer le taux de **matière organique** extractible, d'hydrocarbures **saturés** et aromatiques et d'acides gras. **Les résultats des études** qualitatives et quantitatives des hydrocarbures (**saturés** et aromatiques) permettent de déterminer l'**origine** des hydrocarbures **présents** dans les sédiments. **Les hydrocarbures d'origine pétrolière** sont **généralement prédominants**. **Les analyses sont réalisées** par chromatographie en phase **gazeuse**, par couplage **chromatographie** en phase **gazeuse-spectrométrie** de **masse** et par fluorescence U.V. (technique d'excitation **-émission synchrones**).

Keywords : Hydrocarbons, fatty acids, analysis, **moroccan atlantic coastal sediments**, industrial sewage.

Mots-clés : Hydrocarbures, acides gras, analyses, **sédiments côtiers** du littoral atlantique marocain, **rejet industriel**.

INTRODUCTION

Les zones **côtières** sont le siège de nombreuses activités, urbaines, **industrielles**, portuaires ou **touristiques** qui **contribuent**, avec les **apports terrestres, fluviaux** et atmosphériques, à la majorité de la **matière organique** présente dans les **sédiments marins**. Sont également **présents**, des hydrocarbures **biogènes** issus des **organismes du milieu marin** (**bactéries, algues, plantes supérieures** ...) [1].

Les **rejets des déchets solides ou liquides à l'état brut** pourraient modifier la **qualité du milieu récepteur, particulièrement le littoral atlantique marocain** [2,3].

L'essor **démographique** important et l'accroissement des **activités industrielles** que **connaît** actuellement la ville d'El Jadida, nécessite **une étude** de la nature et de la provenance de la **matière organique** sédimentaire.

Dans ce contexte, des **sédiments marins** de deux stations, **situées à proximité du rejet des eaux usées** de la ville basse et de la zone **industrielle d'El Jadida**, ont été analysées.

Des informations sur **l'origine** de la **matière organique** peuvent **être** obtenues par **l'étude** des hydrocarbures et des acides **gras sédimentaires**. Ces **derniers** sont habituellement utilisés pour **déterminer** la contribution (**bactérienne, fongique, algale...**) **aux lipides** sédimentaires [4,5,6].

MATERIELS ET METHODES

Stations de prélèvement

Deux stations de **prélèvement** ont été choisies sur **le littoral d'El Jadida** selon une **radiale de 200 m, à proximité du rejet des eaux usées** de la ville basse et de la zone industrielle d'El Jadida. Le **débit** et la charge **totale** de ce **rejet** ont été évalués **successivement** à environ **13240 m³/jour** et **58030 kg/jour** de DCO [7].

La station **St₁**, **située à 10 m du rejet**, est **constituée de sédiments fins** de couleur **noire**.

La station **St₂**, **située à 200 m de St₁ vers le large**, est constituée de **sédiments fins** de couleur brun **foncé**.

A chacune des **deux** stations, le sediment est **prélevé sous forme** de **carottes** (**carottiers** en Plexiglas), **représentatif** de la **couche** superficielle (**0 - 5 cm**).

Réactifs

Les **solvants** utilisés sont **tous** de **qualité** chromatographique ou spectroscopique. Les composés **étalons** (Supelco, Belle Fonte, USA) sont de **qualité** chromatographique (99% +).

Méthode d'extraction

Les hydrocarbures et les **acides gras** sont **extraits après** digestion alcaline. Cette procédure a été **détaillée** dans **d'autres études** [8,9]. Le **principe** est d'effectuer une extraction sélective, afin de **séparer** la **matière** organique **saponifiable** (**acides gras** **contenus** dans la phase aqueuse) de la **matière** organique **insaponifiable** (**hydrocarbures** **contenus** dans la phase organique).

Les hydrocarbures **insaponifiables** (**matière** organique **extractible** : M.O.E) sont **ensuite séparés** en trois fractions : **F₁** (Fraction hydrocarbures **saturés**), **F₂** (Fraction hydrocarbures aromatiques) et **F₃** (Fraction **polaire**) sur une colonne de silice (**8g**)/**alumine** (**8g**) (70 - 230 Mesh, **Merck**) [10]. La fraction **F₁** est **éluee** d'abord par 20 ml d'hexane, puis par 20 ml d'un mélange **hexane/CH₂Cl₂** (90 : 10). Les fractions **F₂** et **F₃** sont respectivement **éluées** par 40 ml d'un mélange **hexane/CH₂Cl₂** (80 : 20) et 35 ml d'un mélange **CH₂Cl₂/MeOH** (5 : 1). **Nous nous sommes intéressés** dans ce travail uniquement **aux fractions** **F₁** et **F₂**.

Les acides **saponifiés** sont **dérivés** en esters **méthyliques** d'acides **gras** (EMAG) par traitement avec une solution **commerciale** à 10% de **BF₃** dans **MeOH** (Fluka). L'extrait **concentré**, **est ensuite purifié** sur une colonne de gel de silice (6g) (70 - 230 Mesh, Merck), en **utilisant** 30 ml d'un **mélange hexane/diéthyl éther** (9 : 1).

Méthodes d'analyse

Les fractions d'hydrocarbures saturés (F_1) ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CG/DIF) à l'aide d'un chromatographe Carlo Erba 6000 équipé d'un injecteur « on column » et d'un détecteur à ionisation de flamme. Nous avons utilisé une colonne apolaire CP Sil-5 (Chrompack) (longueur 30 m, diamètre interne 0.32 mm, épaisseur du film 0.25 μm) à 295 °C. L'hélium est le gaz vecteur. La température est programmée linéairement de 70 °C à 295 °C, à raison de 5°C/mn, suivie d'une isotherme de 20 mn à 295 °C.

Les esters méthyliques d'acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse grâce à un chromatographe Chrompack de type CP 9000 équipé d'une colonne DB-5MS (J & W) (longueur 60 m, diamètre interne 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 μm), d'un injecteur « on column » et d'un détecteur à ionisation de flamme. La programmation de température appliquée est la suivante : 60 °C à 160 °C (20 °C/mn), 160 °C à 290 °C (2 °C/mn) avec un palier final de 50 mn à 290 °C. Le gaz vecteur est l'hélium.

L'identification des hydrocarbures saturés (F_1) et des acides gras a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 5890 couplé à un spectromètre de masse quadripolaire Hewlett-Packard 5989A (CG/SM) pouvant opérer soit en mode impact électronique (IE) soit en mode ionisation chimique (IC) [11]. La colonne utilisée est une DB-5 MS (J & W) (longueur 60 m, diamètre interne 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 μm). Les programmations de température appliquées sont les mêmes que celles utilisées précédemment en CG/DIF. Le gaz vecteur est l'hélium.

Les analyses des fractions d'hydrocarbures aromatiques F_2 ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Varian 3400 couplé à un spectromètre de masse Varian Saturn II à piégeage d'ions (CG/SM) pouvant opérer soit en mode impact électronique (IE) soit en mode ionisation chimique (IC). Le chromatographe est équipé d'une colonne capillaire DB-5 MS (J & W) (longueur 60 m, diamètre interne 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 μm). La colonne est reliée au détecteur par une ligne

de transfert maintenue à 220°C. L'introduction de 1 µl d'extrait, à 10 mg/ml d'hexane, se fait à l'aide d'un passeur d'échantillon Varian 8200 CX en tête de colonne, grâce à un injecteur de température programmable SPI 1093 (0.1 minute à 40°C, suivi d'une augmentation jusqu'à 250°C à raison de 100°C/minute). La programmation de température appliquée à la colonne est : 1 minute à 70°C, 70°C à 250°C (5°C/minute) et une isotherme de 30 minutes à 250°C. Le gaz vecteur est l'hélium.

Les spectres de fluorescence U.V. des fractions aromatiques ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre Perkin Elmer LS 50 en utilisant la technique d'excitation - émission synchrones (EES) (vitesse de balayage : 50 mm/mn) avec un $\Delta\lambda = 23$ nm. Les échantillons sont analysés en solution dans de l'acétonitrile à des concentrations de l'ordre de 1 mg/l.

RESULTATS ET DISCUSSION

Gravimétrie

Le tableau I regroupe l'ensemble des résultats gravimétriques concernant la M.O.E, fraction saturée F_1 , fraction aromatique F_2 , hydrocarbures totaux HCT (F_1+F_2) et fraction acides gras (A.G) en mg.kg^{-1} de sédiment sec, pour les différentes stations de prélèvement.

Tableau I :
Données gravimétriques (mg.Kg^{-1} de sédiment sec)

Stations	M.O.E	F_1	F_2	HCT ($F_1 + F_2$)	A.G
St ₁ (20.04.96)	398	106	32	138	79
St ₁ (20.06.96)	323	102	65	167	64
St ₁ (10.01.98)	394	73	51	124	79
St ₂ (20.04.96)	198	66	17	103	40
St ₂ (20.06.96)	210	62	38	100	43
St ₂ (10.01.98)	201	60	30	90	41

On constate, pour les *dew* stations, que **les** sédiments **prélevés à différentes** dates, contiennent des taux de **M.O.E** voisins à l'erreur **expérimentale près** (estimée a environ $\pm 70 \text{ mg kg}^{-1}$ de sédiment sec).

Pour **les sédiments** de la station **St₁**, les teneurs en hydrocarbures **totaux** sont **supérieurs à 100 mg kg⁻¹ de sédiment sec**, ce qui pourrait caractriser un environnement **contaminé** [12].

L'examen des teneurs en hydrocarbures **contenus** dans les sédiments des différentes stations montre une diminution **du** taux d'hydrocarbures en fonction de **l'éloignement** par rapport **au** lieu du **rejet**.

Fraction hydrocarbures saturés

Les **profils** chromatographiques des **fractions F₁** (hydrocarbures **saturés**) **extraites** des sédiments des **différentes** stations **St₁** et **St₂** sont semblables. Le **chromatogramme** de la **fraction saturée** de la station **St₁ (20 / 04/ 96)**, représenté sur la figure **1**, est **caractérisé** par la présence **très** nette de **n-alcane**s (compris entre **n-C₁₆** et **n-C₃₂**) émergent d'un massif complexe non **résolu, généralement dénommé U.C.M** (unresolved complex mixture) et **centré autour** de **n-C₂₇₋₂₈**. La **présence** d'un massif U.C.M. est **généralement** attribue a la dégradation d'hydrocarbures **pétroliers** [13,14] **mais peut** également **avoir comme** origine les **produits de dégradation d'algues** ou de micro-organismes [15,16]. Ce profil **est** celui qui est **trouvé** pour les **résidus pétroliers** enfouis dans des sédiments **marins superficiels** [17]. Le massif U.C.M. est **généralement décalé** vers les **composés** lourds lorsque le **degré** d'altération **augmente** [18,19]. Cette **tendance** est nette pour **les différentes** stations **étudiées**. La **valeur** des CPI (Carbon Predominance Index) voisine de **1** pour toutes les stations est **caractéristique** d'hydrocarbures **pétroliers** [20].

Des **alcane**s ramifiés sont également présents **notamment le pristane** et le **phytane**. Les rapports **n-C₁₇/Pr** et **n-C₁₈/Phy**, supérieurs à l'unité pour **tous les prélèvements**, indiquent un apport **biogène** des hydrocarbures [17]. La présence de **n-héptadecane (n-C₁₇)** et du **nonacosane (n-C₂₉)**, **confirme** la **présence** d'hydrocarbures

biogènes. Le $n\text{-C}_{17}$ est prédominant dans les algues [21] et dans certaines bactéries marines [22] alors que le $n\text{-C}_{29}$ est plus abondant dans les plantes terrestres [23]. Le rapport $n\text{-C}_{17}/n\text{-C}_{29} < 1$ pour tous les échantillons, indique une contribution plutôt terrigène à la matière organique sédimentaire.

Le chromatogramme de la figure 1 montre la présence de composés non identifiés que nous avons nommés A, B et X. En spectrométrie de masse, les fragments caractéristiques de ces composés sont les suivants : A : $m/z = 41, 55, 69, 95, 109$; B : $m/z = 41, 53, 69, 95$ et X : $m/z = 41, 57, 97, 250, 322$.

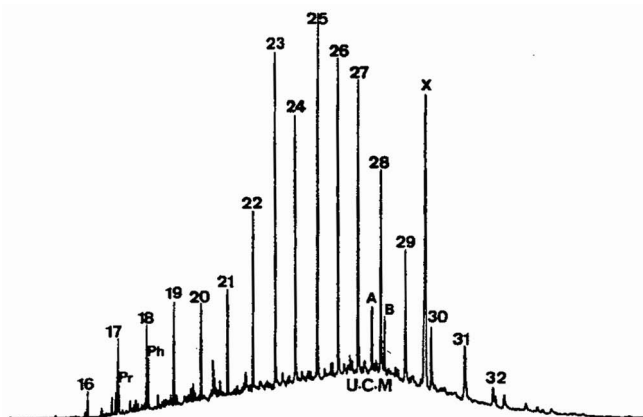


Figure 1 :

Chromatogramme de la fraction d'hydrocarbures saturés (F₁) pour la station St₁ (du 20.04.96). Les nombres 16 à 33 indiquent le nombre d'atomes de carbone des n-alcane. Pr : Pristane, Ph : Phytane. U.C.M - Unresolved Complex Mixture. Pics A, B et X correspondent à des produits non identifiés

Fraction hydrocarbures aromatiques

Les composés aromatiques sont relativement stables dans le milieu marin et la majeure partie d'entre eux présentent une toxicité assez grande [24]. Ils peuvent avoir une origine diagénétique, pyrolytique ou pétrolière [25].

L'analyse en spectrométrie de fluorescence U.V. des fractions aromatiques (F_2) a révélé les mêmes profils pour les différentes stations. Ces profils correspondent à ceux habituellement trouvés pour les bruts pétroliers. On note (figure 2), la présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques à 2 noyaux (maximum à 300 nm), à 3 et 4 noyaux (330 nm) et à 5 noyaux (403 nm). Cette technique utilisée dans le cas des mélanges complexes d'hydrocarbures dont on ne connaît pas précisément la longueur d'onde d'excitation, permet de différencier les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en fonction du nombre de noyaux condensés [26,27].

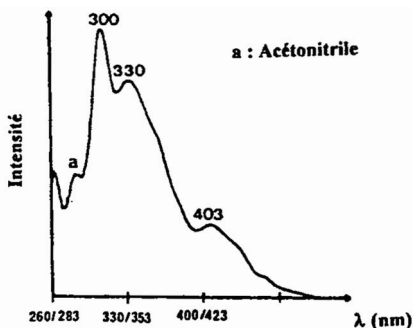


Figure 2:
Spectre de fluorescence U.V. (Excitation - Emission synchrones)
de la fraction aromatique, pour la station St_1 (20.04.96)

La figure 3 représente le profil des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui ont été identifiés et quantifiés par couplage CG/SM. On note principalement la présence des dérivés di- et triméthylés du naphthalène et des dérivés mono-, di- et triméthylés du phénanthrène. Le méthylidibenzothiophène, le fluoranthène, le chrysène et le butyl-hydroxy-toluène ont aussi été détectés. Une contribution pétrolière doit être retenue pour ces échantillons [28].

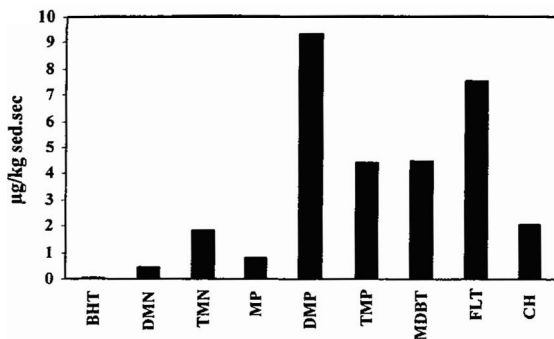


Figure 3 :

Concentrations en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), pour la station St1 du 20.04.96
 BHT : Butylhydroxytoluène, DMN : Diméthylnaphtalène, TMN : Triméthylnaphtalène.
 MP : Méthylphénanthrène, DMP : Diméthylphénanthrène, TMP : Triméthylphénanthrène,
 MDBT : Me'thildibenzothiophine. FLT : Fluoranthène, CH : Chrysène

Acides gras

La concentration des acides gras dans les **sédiments étudiés** varie entre 40 et 79 mg kg⁻¹ de **sédiment sec** (tableau I). L'**analyse** par couplage **CG/SM** permet de noter que les acides **gras** ayant **une chaîne** comprise entre 12 et 18 atomes de **carbone** sont **prédominants** dans les **sédiments**. Seules des traces d'acides gras ayant une **chaîne** comprise entre 19 et 20 atomes de **carbone** ont été observées.

Nous constatons, pour les **différentes** stations, la **présence** des acides gras saturés et ramifiés suivants : n-C₁₂:0, n-C₁₃:0, n-C₁₄:0, n-C₁₅:0, n-C₁₆:0, n-C₁₇:0, n-C₁₈:0, n-C₂₀:0 ; i-C₁₃:0, ai-C₁₃:0, i-C₁₄:0, ai-C₁₄:0, i-C₁₅:0, ai-C₁₅:0, 10-Me C₁₆:0, i-C₁₇:0 et ai-C₁₇:0. L'**acide** palmitique n-C₁₆:0 qui est le plus dominant, est un composé majeur dans tous les micro-organismes [6,29].

La présence des acides gras de C₁₂ à C₂₀ à des taux **significatifs** dans le **mélange** est en accord avec la **gamme** des acides gras **couramment rencontrés** chez les **bactéries** [28].

Par ailleurs, les acides gras ramifiés i-C₁₃:0, ai-C₁₃:0, i-C₁₄:0, ai-C₁₄:0, i-C₁₅:0, ai-C₁₅:0, i-C₁₇:0 et ai-C₁₇:0 sont typiquement d'origine **bactérienne** [5,30,31,32]. Le

composé 10-Me-C₁₆:0, considéré comme marqueur d'une activité bactérienne sulfato-réductrice [33,34,35], a également été détecté.

Les acides gras insaturés sont tous monoinsaturés (C₁₂:1, C₁₄:1, C₁₅:1, C₁₆:1, C₁₇:1 et C₁₈:1) sauf pour un composé C₁₈:2 trouvé à l'état de traces dans le mélange. Les positions des insaturations n'ont pas été déterminées dans ce travail.

De plus, l'acide cyclopropanique cy C₁₇:0 (9,10) présent dans le mélange est considéré comme argument supplémentaire en faveur d'une origine bactérienne [5,17,36,37,38,39,40,41].

Les acides gras hydroxylés 3-OH C₁₂:0, 3-OH C₁₄:0, 3-OH C₁₆:0 et 3-OH C₁₈:0, observés en faibles quantités dans le mélange, sont signalés comme caractéristiques des bactéries [6].

Ces résultats, en accord avec les données de la littérature, permettent de conclure que les acides gras présents dans les sédiments étudiés sont principalement d'origine bactérienne [42,43].

CONCLUSION

L'étude de la contamination par les hydrocarbures a été réalisée sur des sédiments superficiels prélevés à proximité du rejet industriel de la ville d'El Jadida.

Les hydrocarbures saturés d'origine pétrolière sont dominants, mais on ne peut exclure la présence d'hydrocarbures d'origine naturelle (biogène, terrigène).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques ont été détectés par spectrométrie de fluorescence U.V. Les dérivés di et triméthylés du naphthalène, les dérivés mono, di et triméthylés du phénanthrène, le méthyl-dibenzothiophène, le fluoranthène, le chrysène et le butyl-hydroxy-toluène ont été identifiés et quantifiés par le couplage CG/SM. Ceci permet de suggérer une contamination d'origine pétrolière.

Par ailleurs, les acides gras contenus dans ces échantillons ont aussi été analysés. La présence des composés, tels que le 10-Me C₁₆:0 et le cyclopropanique

cy C₁₇:0 (9,10), permet de retenir une contribution bactérienne à la matière organique des sédiments étudiés.

En perspective de ce travail, une étude sur la contamination par les hydrocarbures des sédiments marins de la zone la plus industrialisée du littoral atlantique marocain, Mohammkia-Casablanca-El Jadida, est actuellement en cours de réalisation au sein de notre laboratoire.

RÉFÉRENCES

- 1 Mille G., Gamgues P., Bertrand J.C. (1992) *Analisis Magazine*. **6**, 62-66.
- 2 Idrissi H., Tahiri L., Bernoussi A., Chafik A., Taleb H. (1994) Evaluation de la salubrité du littoral méditerranéen et atlantique nord (Saïdia-Safi) durant la période 1992-1994. *Travaux et documents ISPM*, n° 77.
- 3 Kharoubi M., Hassani L., Allali M. (1997) Communication au colloque international " Gestion des rejets industriels pour un développement durable". 10, 11 et 12 septembre 1997 à El Jadida-Maroc.
- 4 Zegouah Y., Derenn S., Largeau C., Saliot A. (1996) *Org. Geochem.* **24**, 841 - 857.
- 5 Perry G.J., Volkman J.K., Johns R.B., Bavor H.J. (1979) *Geochim.Cosmochim. Acta.* **43**,1715-1725.
- 6 Rajendran N., Suwa Y., Urushigama Y.(1992) *Marine Pollution Bulletin*. **6**, 305-309.
- 7 Lhadi E.K., El Krati M., Carrée J., Blanchard J.M. (1998) Etude physicochimique des rejets de la ville d'El Jadida. Publication soumise.
- 8 Farrington J.W., Quinn J.G. (1971) *Geochim. Cosmochim. Acta.* **35**,735-741.
- 9 Mille G., Guiliano M., Arlhac A., Chateau J. (1980) *Vie Marine*. **2**, 81 - 87.
- 10 Jacquot F., Doumenq P., Guiliano M., Dunoiz D., Guichard J. R., Mille G. (1996) *Talanta*. **43**,319 - 330
- 11 Deroux J.M., Gonzalez C., Le Cloirec P., Roumagnac A. (1997) *The Science of the total Environment*. **203**,261 - 274
- 12 Saliot A. (1981) Natural hydrocarbons in sea water. *Marine Organic Geochemistry Dursma E.K. Dawson R., Elsevier Amsterdam*, p.327-374.
- 13 Requejo A.G., Boehm P.D.(1985)*Mar. Environ. Res.* **17**,45-64.
- 14 Kennicutt M. C., Swett S. T., Frammer.W. R., Stockton W. L., Culver M. (1991) *Environ. Sci. Technol.* **25**,509 - 518.
- 15 Johnson R.W., Calder J.A. Early (1973) *Geochim Cosmochim Acta.* **37**, 1943-1955.
- 16 Munoz D. (1997) *Thèse, spécialité "chimie organique et analytique". Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III, Faculté des Sciences et Technologies de Saint Jérôme.*

- 17 Mille G., El **Jammal** T., Doumenq P., **Bertrand** J. C. (1992) *The Science of the Total Environment*. 113,209-228.
- 18 Colombo J.C., Pelletier E., Brochu C., **Khalil** M., Cattoggio J.A. (1989) *Environ Sci. Technol.* 23,888-894.
- 19 Pages S. D., Foster J. C., Fickett P. M. (1988) *Mar Pollut. Bull.* 19,103-115.
- 20 Morel G., **Samhan** O., Literathy P., Al-Hashhash H., Moulin L., **Saeed** T., Al-Matrouk K., Martin-Bouyer M., Saber A., Paturel L., **Jarosz** J., Vial M., Combet C., Fachinger C., Suptil J. (1991) *J. Anal.Chem.* 339,699-715.
- 21 **Wakeham** S.G. (1990) *Geochim Cosmochim Acta.* 54,1325-1336.
- 22 Shiea J., **Brassel** S.C., Ward D.M. (1991) *Org Geochem.* 17,309-319.
- 23 Simoneit B.R.T. (1978) *Chemical oceanography*. Riley JP, Chester R), Academic Press London, p.233-311.
- 24 I.A.R.C. (International Agency for Research on Cancer) (1983) *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. I.A.R.C. Lyon France, p.32.
- 25 **Laflamme** R.E., Hites R.A. (1978) *Geochim. Cosmochim. Acta.* 42,289-303.
- 26 Mille G., **Guiliano** M., Dou H. (1983) *Vie Marine.* 5, 57 - 62.
- 27 Mille G., **Chen** J.Y., Dou H., **Azoulay** E., Colin M., Bertrand J.C. (1985) *Mar. Environ. Res.* **17**, 65-80.
- 28 Steinhauer M.S., Boehm P.D. (1992) *Mar. Environ. Res.* 33,223-253.
- 29 **Lechevalier** M.P. (1977) Lipids in bacterial taxonomy- a taxonomist's view. *Critical Review in Microbiol.* 7, 109- 210.
- 30 **Gillan** F.T., Hogg R.W. (1984) *J. Microbiol. Methods.* 2,275-293.
- 31 White D.C. (1989) *FEMS Microbiol. Ecol.* **62**, 39-50.
- 32 **Volkman** J.K., Johns R.B. (1977) *Nature.* 267,693-694.
- 33 Parkes R.J., Taylor J. (1983) *Estuar., Coastal. Shelf Sci.* 16, 173-189.
- 34 **Edlund** A., Nichols P.D., Roffey R., White D.C. (1985) *J. Lipid.* 26,982-988.
- 35 Smith G.A., Nichols P.D., White **D.C.**(1986) *FEMS Microbiol. Ecol.* 38, 219-231.
- 36 Leo R.F., Parker P.L. (1966) *Science.* 15,649-650.
- 37 Kaneda T. (1967) *J. Bacteriol.* 93,894-903.
- 38 Oliver J.D., Colwell **R.R.**(1973) *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23,442-458.
- 39 Johns R.B., Perry G.J., Jackson **K.S.** (1977) **Estuar.** Coastal. Mar. Sci. 5,521-529.
- 40 **Volkman** J.K., **Farrington** J.W., Gagosian R.B., **Wakeham** S.G. (1983) Lipid composition of coastal marine sediments from the Peru upwelling region. **Bjory** M. et al. *Advances in Organic geochemistry, 1981.* Wiley **Heyden**, p.228-240.
- 41 Saliot A., **Lorre** A., **Marty** J.C., Scribe P., **Tronczynski** J., Meybeck M., **Dessery** S., **Marchand** M., **Caprais** J.C., Cauwet G., Etcheber H., Relaxans J.C., Ewald M., Berger P., **Belin** C., Gouleau D., **Billen** G., Somville M. (1984) *Oceanol. Acta.* 7, 191-207.
- 42 Baroux A., Scribe P., Dagaut J., Saliot A. (1988) *Org. Geochem.* 13,773 - 783.
- 43 **Sun** M. Y., **Wakeham** S. G. (1994) *Geochim. Cosmochim. Acta.* 158, 3395 - 3406.