

N. LE DIRECTEUR  
215

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PECHES MARITIMES  
THEME PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT  
LABORATOIRE EFFETS BIOLOGIQUES DES NUISANCES  
LABORATOIRE MICROPOLLUANTS ORGANIQUES

---

TOXICITE DES HYDROCARBURES SOLUBLES DU "GINO"

*par*

P. LASSUS, P. MICHEL et P. MAGGI

*avec la collaboration technique de : P. MASSELIN, M. BARDOUIL, L. LE DEAN,  
P. TRUQUET et G. BOCQIENE*

CONTRAT C.N.E.X.O. 81/6624 Y

NANTES, le 1er avril 1982

*Dactylographie : A.M. MAGGI*

188

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PECHES MARITIMES  
THEME PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT  
LABORATOIRE EFFETS BIOLOGIQUES DES NUISANCES  
LABORATOIRE MICROPOLLUANTS ORGANIQUES

---

TOXICITE DES HYDROCARBURES SOLUBLES DU "GINO"

*par*

P. LASSUS, P. MICHEL et P. MAGGI

*avec la collaboration technique de : P. MASSELIN, M. BARDOUIL, L. LE DEAN,  
P. TRUQUET et G. BOCQUENE*

CONTRAT C.N.E.X.O. 81/6624 Y

NANTES, le 1er avril 1982

*Dactylographie : A.M. MAGGI*



Photo n° 1 : Détail de la valve supérieure d'une coquille Saint-Jacques : on remarque les inclusions de résidus pétroliers dans le dépôt de nacre.

24 Janvier 1976, "Olympic Bravery" : 1 000 tonnes de fuel n° 2

14 Octobre 1976, "Bohlen" : 10 000 tonnes de pétrole lourd vénézuélien

16 Mars 1978, "Amoco-Cadiz" : 223 000 tonnes de pétrole brut léger.

Le 28 avril à 4 h 15, le pétrolier norvégien "Team castor" abordait le navire libérien "Gino", à environ 30 milles dans le SW de l'île d'Ouessant.

Le "Gino", pétro-vraquier de 49 000 tonnes de port en lourd, était chargé de 41 000 tonnes de "carbon black oil" ; il venait du Texas et gagnait Le Havre.

Le "Team castor", pétrolier de 33 000 tonnes, était vide et dégazé ; il venait d'Adsterdam et se rendait au Portugal.

Après être resté longtemps la proue émergée et la poupe posée sur le fond, le "Gino" a sombré à 10 h 20 par 120 mètres de fond, en laissant échapper en surface un millier de tonnes de fuel de propulsion des machines.

La cargaison, plus dense que l'eau, s'est répandue en partie sur le fond.

7 Mars 1980, "Tanio" : 6 000 tonnes de fuel n° 2.

...

## I - GENERALITES

— Le "carbon black oil" transporté par le "Gino" au moment de son naufrage est caractérisé par une densité supérieure à celle de l'eau de mer et une forte viscosité (tableau 1). Il en résulte donc un comportement fort différent de celui des pétroles bruts : écoulement en nappe sur le fond, avec une lente évolution sous l'effet des courants, sans mise en émulsion dans l'eau. —

Par ailleurs, la composition chimique de ce résidu pétrolier (cf. tableau 1), diffère considérablement des pétroles bruts dont on sait que la toxicité immédiate est liée en grande partie aux fractions les plus légères.

Densité à 20° C	1,07 à 1,12
Viscosité à 20° C	1515 centistokes
Viscosité à 50° C	86 centistokes
% distillation à 210° C	0
Point d'écoulement	30°
Hydrocarbures aromatiques	60,9%
Hydrocarbures saturés	11,5%
Résines	15,8%
Asphaltènes	11,8%

Tableau 1 : caractéristiques physico-chimiques du "carbon black oil".

Dans le cas de la cargaison du "Gino" on pouvait par contre attendre des effets toxiques à plus long terme ; l'expérimentation décrite ci-après a pour but de prendre en compte à la fois les essais à court et moyen terme.

Afin que le problème soit abordé de la manière la plus précise possible, nous avons traité seulement de la toxicité des fractions solubles qui ont quelque chance d'avoir une action à plus longue distance. La toxicité des éléments particuliers n'a pas été abordée car les résultats en seraient trop aléatoires.

## II - EXPERIMENTATION

### 1 - Préparation des extraits d'hydrocarbures

L'échantillon de pétrole utilisé pour nos essais provient de l'Institut Français du Pétrole : il a sensiblement la même composition chimique que celui transporté par le "Gino".

En pratique, 10 ml de l'échantillon sont injectés dans 1 litre d'eau de mer filtrée (sous sa surface donc sans contact avec l'air) et l'émulsion, créée par agitation magnétique, est entretenue pendant 24 heures à la température d'expérience (16 ou 20° C). Après ce délai les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est passée sur filtre en cellulose afin de retenir les gouttelettes en suspension.

Chaque expérience utilisait généralement 8 à 10 litres d'émulsion sur lesquels environ 6 litres de la phase aqueuse étaient utilisés pour les essais.

La concentration en hydrocarbures pour les tests était déterminée par dilution de la phase aqueuse en fonction des résultats de l'analyse effectuée sur la solution mère.

### 2 - Méthode analytique

Les analyses d'hydrocarbures aromatiques ont été effectuées par couplage chromatographie liquide/spectrofluorescence en prenant comme standard le chrysène.

Pour les échantillons d'eau, l'extraction préalable a été effectuée sur 500 ml de solution mère pour 50 ml de chloroforme et la mesure est faite directement sans purification préalable de l'extrait.

Les échantillons de chair de moules ont été lyophilisés puis ont subi une extraction au soxhlet, par le pentane, avec purification simultanée sur florisol.

### 3 - Animaux d'expérience

#### a) Toxicité aigüe

Nous avons utilisé des lots de 10 animaux placés dans des cristallisoirs aérés par bullage et contenant 3 litres de solution à tester.

Les animaux morts étaient enlevés journallement puis comptabilisés après 96 heures d'expérience.

Nous avons expérimenté sur la civelle (post-larve d'Anguilla anguilla), la crevette grise (Crangon crangon) et la moule (Mytilus edulis).

#### b) Test d'accumulation

Nous avons utilisé, avec les conditions expérimentales précédentes, un mollusque filtreur : la moule.

Nous avons cherché à mesurer l'accumulation des hydrocarbures après 7 jours d'exposition en milieu contaminé. Des analyses d'hydrocarbures ont donc été effectuées en début et en fin d'expérience dans l'eau et dans la matière vivante.

#### c) Tests à moyen terme

Nous avons cherché à mettre en évidence l'influence du polluant sur le rythme de mue des larves de la crevette rose et sur la multiplication d'un copépode.

##### - Larves de crevette rose (Palaemon serratus)

Les larves âgées de 24 heures sont isolées dans des cristallisoirs contenant 10 ml de solution à tester ainsi que des nauplii d'Artemia salina qui constituent la nourriture des larves de crevettes.

Les survies et les mues sont observées journallement pendant la durée nécessaire pour obtenir 3 exuviations ; le milieu et la nourriture sont renouvelés tous les deux jours. Cette technique, déjà uti-

lisées pour d'autres polluants, a été décrite par ailleurs en détail (1).

- Copéode (Tigriopus brevicornis)

Des lots de 100 femelles ovigères sont exposés à des concentrations croissantes de la phase aqueuse contaminée, pendant toute la durée d'un cycle biologique, c'est-à-dire jusqu'à l'obtention de nouveaux adultes. Une culture du Flagellé Tetraselmis suecica est diluée dans le milieu de façon à obtenir une concentration de 100 000 à 300 000 cellules par ml. Cette densité algale est ajustée et contrôlée à chaque sous-échantillonnage des populations opéré tous les 3 jours.

Les concentrations en nauplii, copépodites et adultes sont estimées globalement sans distinction du stade, à chaque niveau de développement.

### III - RESULTATS EXPERIMENTAUX

#### 1 - Toxicité aigüe

##### a) Civelle

Les essais ont eu lieu à 16° C ; les résultats sont exprimés dans le tableau 2.

Concentrations en µg/l:	0	110,5	145,5	221	291	2400	12000
% de mortalité	0	0	0	0	10	10	15

Tableau 2 : Pourcentages de mortalité en 96 heures, aux différentes teneurs en hydrocarbures, pour Anguilla anguilla.

(1) - LASSUS (P.) et MAGGI (P.), 1980 - Utilisation des larves de crevette rose (Palaeomon serratus Pennant) pour le contrôle de l'impact biologique des nuisances sur le milieu marin. Journal Français d'Hydrologie, 1980, 11, fasc. 3, n° 33, 203-224.

Cet animal n'est pas sensible à la fraction soluble du "carbon black oil" puisque même pour 12 mg/l la mortalité observée demeure faible.

b) Crevette grise

Les essais ont également eu lieu à 16° C ; les résultats sont donnés dans le tableau 3.

Concentrations en µg/l:	0	175	350	750	1 500	3 500
	0	10	20	10	90	100

Tableau 3 : Pourcentage de mortalité en 96 heures, aux différentes teneurs en hydrocarbures, pour Crangon crangon.

La crevette grise est plus sensible que la civelle puisque la mortalité est pratiquement totale à 1 500 µg/l.

c) Moule

Les conditions expérimentales restent inchangées. Nous ne constatons pas de mortalité pour toutes les concentrations testées : 606, 2 400, 3 030 et 12 000 µg/l.

2 - Test d'accumulation

Les essais ont été conduits, à deux concentrations en hydrocarbures, pendant 7 jours et à 16° C. Des analyses d'hydrocarbures ont été effectuées, dans le milieu et dans la matière sèche de la chair de moule, en début et en fin d'expérience. Les résultats sont donnés dans le tableau 4.

	TEMOIN	ESSAIS 1	ESSAIS 2
TENEURS EN HYDROCARBURES à $t_0$	0	606	3 030
DANS L'EAU ( $\mu\text{g/l}$ ) à $t_7$	0	1,9	6,3
% HYDROCARBURES RESIDUELS DANS L'EAU à $t_7$	0	0,3	0,2
TENEURS EN HYDROCARBURES DANS LES MOULES ( $\mu\text{g/g}$ )	4,4	22	113,4
% ACCUMULATION DANS LES MOULES à $t_7$	0	9,4	5,7

Tableau 4 : Bilan de l'expérience d'accumulation par les moules.

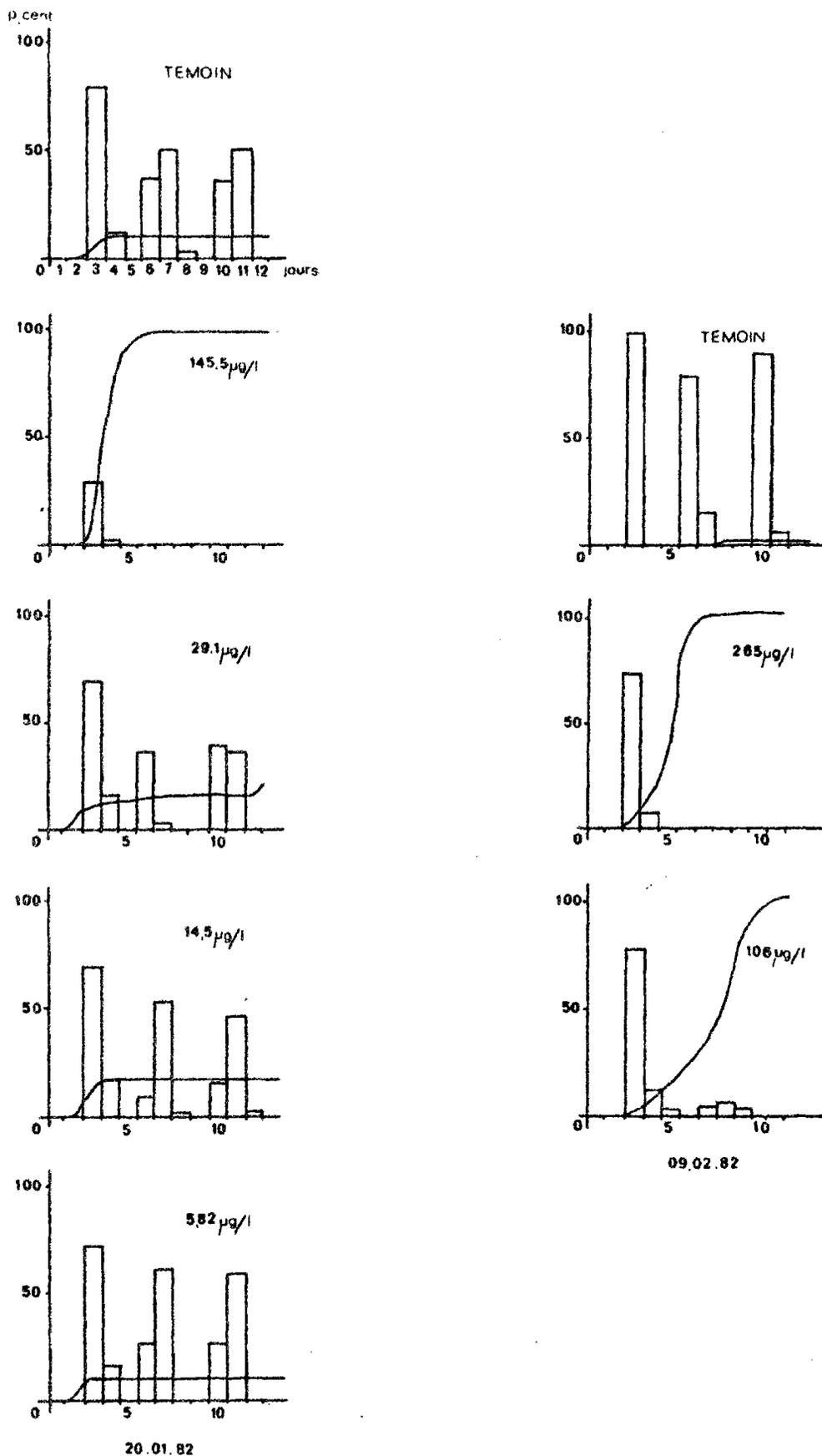
Le très faible pourcentage d'hydrocarbures résiduels, dans l'eau à la fin des essais, démontre l'instabilité des "solutions" servant aux essais de toxicité. En effet, l'adsorption sur les parois des récipients joue un rôle plus important que l'accumulation dans la disparition de ces hydrocarbures.

Cependant le taux élevé d'hydrocarbures accumulés par les moules et l'absence de mortalité concomitante démontrent une fois encore la résistance des moules aux pollutions.

### 3 - Toxicité à moyen terme

#### a) Larves de crevette rose

Les résultats de deux expériences conduites sur des larves au stade 1 de Palaemon serratus sont représentés sur la figure 1.



**FIGURE 1** : Diagrammes des pourcentages journaliers de mue et courbes des pourcentages cumulés de mortalité des larves au stade 1 de *Palaemon serratus* soumises à différentes concentrations en hydrocarbures au cours de deux expérimentations.

Au cours de ces deux expérimentations nous avons testé les 6 concentrations suivantes :

5,82 µg/l  
 14,5 µg/l  
 29,1 µg/l  
 106,0 µg/l  
 145,5 µg/l  
 et 265,0 µg/l

Nous constatons que les mortalités sont quasi totales dès la mue au stade 2 pour 106 µg/l d'hydrocarbures et les concentrations supérieures.

Les pourcentages de mues ne sont pas modifiés significativement jusqu'à 29,1 µg/l. On peut donc situer la DL 50 entre 30 et 100 µg/l.

b) Reproduction d'un copépode

Nous avons suivi la production de nauplii par des femelles ovigères de Tigriopus brevicornis soumises continuellement à la solution contaminée. Les résultats de ces expérimentations après 5 jours d'exposition à 20° C sont consignés dans le tableau 5.

CONCENTRATIONS en µg/l	0	22,1	60,6	110,5	151,5	303	750	1 515
% Nauplii	100	131	82	100	123	100	2	4

Tableau 5 : Pourcentages, par rapport au témoin, de nauplii produits dans 100 ml après 5 jours d'exposition à des concentrations variables d'hydrocarbures.

Bien que le stock initial soit de 100 femelles ovigères dans 3 litres de solution contaminée, on note une quasi disparition des nauplii à

750 µg/l. Cependant, afin de mieux quantifier l'impact des hydrocarbures sur la production de nauplii, puis de copépodites (soit la part "active" de la population) nous avons prolongé les dernières expériences pendant 15 jours.

L'analyse de la figure 2 permet de constater un effet immédiat d'une concentration en hydrocarbure : 1 515 µg/l sur la production de nauplii, sans récupération pendant 17 jours. Par contre, des concentrations inférieures ou égales à 303 µg/l sembleraient ne pas affecter le développement des copépodes.

Notons cependant que, la densité phytoplanctonique ayant chuté en fin d'expérience pour tous les essais nous n'avons pu obtenir des nombres de copépodites aussi élevés que dans les conditions habituelles.

#### IV - DISCUSSION DES RESULTATS

L'analyse globale des résultats montre que les DL 50 96 heures sont comprises dans les intervalles de concentration suivants:

Civelles	: > 12 000 µg/l
Crevettes grises	: entre 750 et 1 500 µg/l
Moules	: > 12 000 µg/l

Dans ce dernier cas, la toxicité immédiate est donc faible malgré une accumulation importante d'hydrocarbures par les coquillages.

Enfin des expériences à plus long terme sur le zooplancton ont donné les résultats les plus sensibles, à savoir, une DL 50 comprise entre environ 30 et 100 µg/l pour les larves de crevette rose et une production quasi nulle en nauplii pour les femelles ovigères de Tigriopus brevicornis exposées à 750 µg/l. Notons cependant, dans ce dernier cas, qu'à 300 µg/l, la production de nauplii n'est pas inhibée, ce qui tendrait à situer le seuil létal entre 300 et 750 µg/l, soit, une sensibilité moins élevée que les larves de crevette.

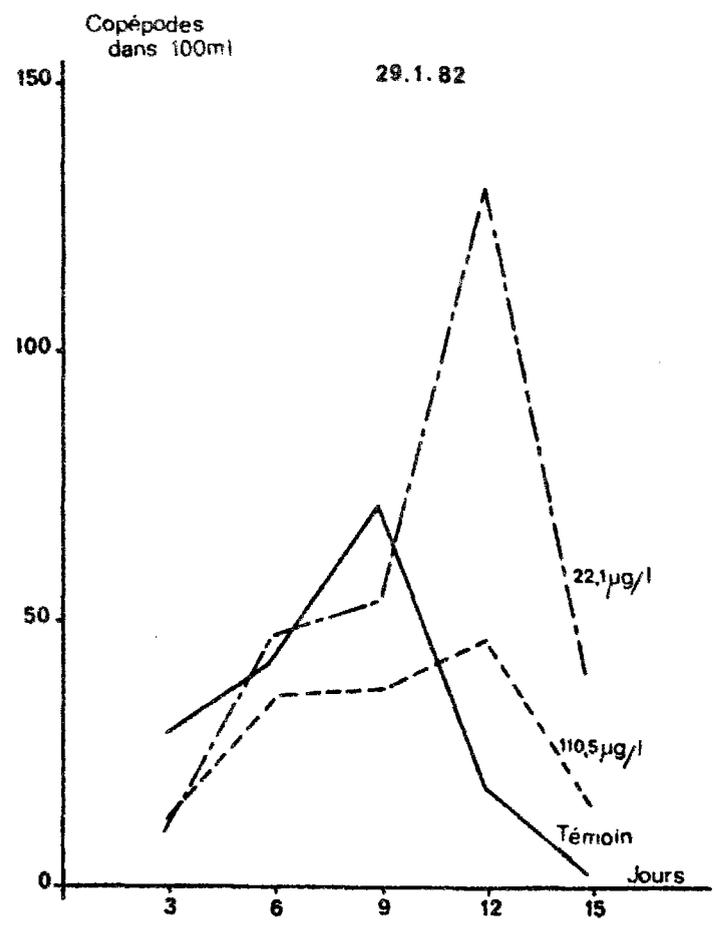
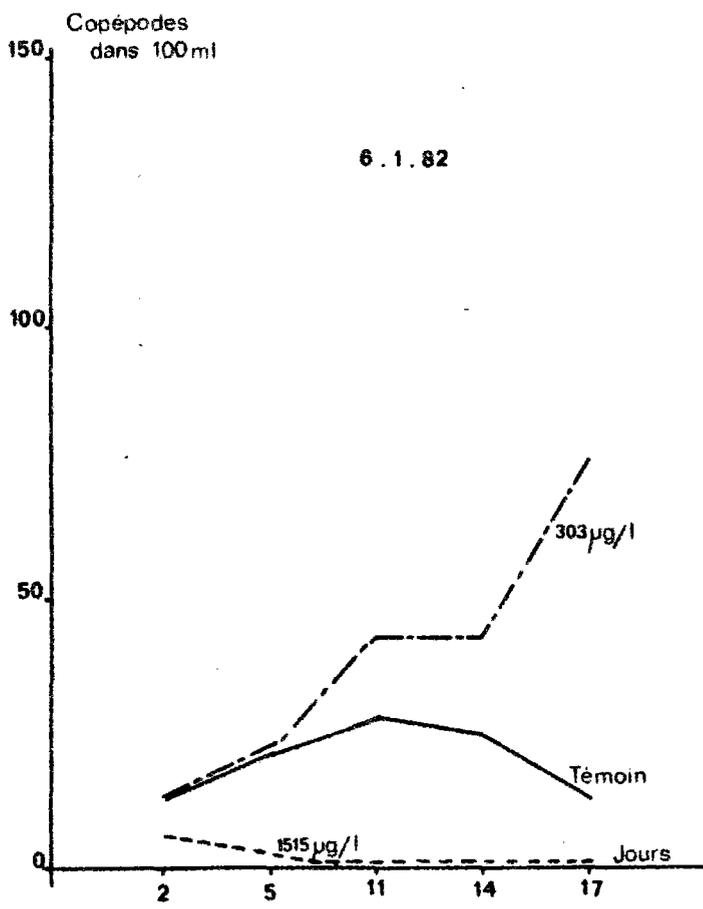


FIGURE 2 : Développement de *T. brevicornis* (nauplii et copépodites), au cours de deux expériences, pour différentes teneurs en hydrocarbures solubles.

Si l'on compare ces seuils de concentrations toxiques aux résultats des mesures, effectuées "in situ" par les équipes de l'I.F.P. et du C.O.B., on note que ces dernières - de l'ordre de 3 µg/l au voisinage immédiat de la nappe - se situent largement en deçà des concentrations toxiques pour les espèces considérées.

Cependant, il n'en reste pas moins que des effets létaux ont malgré tout été constatés à la périphérie de l'épave : dans un rayon de 5 nautiques toutes les coquilles Saint-Jacques sont mortes (1). De plus, certaines présentent des inclusions d'hydrocarbures dans le réseau de calcification des coquilles (photo 1). Il y a donc lieu de penser que, si les mortalités massives ne peuvent être imputées à la fraction soluble d'hydrocarbures, il faille rechercher leur cause dans une intoxication, par ingestion de gouttelettes d'hydrocarbures qui ont été arrachées à la nappe par les courants.

(1) - MICHEL P. et ABARNOU A., 1981 - Etude d'impact du "Gino". Résultats de la campagne Gino II. Rapport I.S.T.P.M.