

## Actualités de la recherche

# « Origines, devenir et effets des hydrocarbures dans les sédiments marins »

### Présentation des travaux du GDR Hycar

Pierre Doumenq<sup>a</sup>, Michel Guiliano<sup>a</sup>, Jacques-Louis de Beaulieu<sup>b</sup>, Jean-Claude Bertrand<sup>c</sup>

<sup>a</sup> LCAE, Europôle de l'Arbois, BP 80, 13545 Aix-en-Provence cedex 4, France

<sup>b</sup> IMEP, Europôle de l'Arbois, BP 80, 13545 Aix-en-Provence cedex 4, France

<sup>c</sup> LOB, Faculté de Luminy, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille cedex 9, France

### Introduction

Pas une année sans que ne s'allonge la litanie des catastrophes environnementales associées aux naufrages de pétroliers hors d'âge. En attendant qu'une réglementation sérieuse du transport maritime ne fasse cesser ces dégradations, il convenait de s'interroger sur les conséquences à long terme de ces naufrages et, d'une manière plus générale, sur le devenir des hydrocarbures de toutes origines rencontrés en milieux marins et littoraux. Il y a un an, le groupement de recherche Hycar (pour « hydrocarbures »), créé en 1994, rendait ses conclusions. Il est peut-être utile de revenir sur ce travail pluridisciplinaire de longue haleine et d'en évoquer les prolongements, en une période où s'estompent les chocs produits par les naufrages successifs de l'*Erika* et du *Prestige*<sup>1</sup>.

Le GDR, qui était piloté par Jean-Claude Bertrand, du Centre océanologique de Marseille, associait des équipes de biologistes marins<sup>2</sup>, de microbiologistes<sup>3</sup>, de chimistes

analystes<sup>4</sup> et d'écotoxicologues<sup>5</sup>. Une originalité de ce GDR était la présence d'un partenaire industriel avec un fort soutien de la direction Développement durable et Environnement de la société Total/Fina/Elf.

La répartition géographique des équipes impliquées dans le projet laisse attendre une variété d'ateliers de recherche, en Méditerranée et en Atlantique. En effet, l'intérêt des résultats du GDR tient sans doute à l'équilibre trouvé entre une approche *in vitro* et une approche *in situ* très exigeante en termes de suivi expérimental. Les études sur le devenir des hydrocarbures et leurs effets sur les communautés meio- et macrobenthiques, ainsi que sur le compartiment microbien, ont pu être conduites en parallèle en laboratoire et sur le terrain. Dans ce domaine, le centre de gravité du projet a été provençal, avec la comparaison entre un site expérimental soumis à différentes doses de contaminations artificielles (Carteau-golfe de Fos), un site naguère fortement contaminé (calanque de Lavéra) et un site témoin peu contaminé (Port-Cros). Certaines expérimentations nécessitant l'intervention régulière de plongeurs expérimentés se sont étalées sur trente-six mois.

### Synthèse des résultats

L'approche chimique de la dégradation des hydrocarbures s'est concentrée, pour partie, sur la

Auteur correspondant : P. Doumenq,  
pierre.doumenq@univ.u-3mrs.fr

<sup>1</sup> Ce compte rendu s'appuie sur le bilan présenté par le groupement de recherche (GDR 1123) lors de son évaluation par le CNRS, ainsi que sur le rapport d'évaluation coordonné par J.-L. de Beaulieu, J.-C. Dauvin et P. Montfort.

<sup>2</sup> Laboratoire d'océanographie et de biogéochimie, UMR 6535, de Marseille; Laboratoire Arago, UMR 7621, de Banyuls-sur-Mer; Laboratoire Environnements et paléoenvironnements océaniques, UMR 5805, de Bordeaux-Arcachon.

<sup>3</sup> COM et IMEP, UMR 6116, de Marseille.

<sup>4</sup> Laboratoire de chimie analytique de l'environnement, UMR 6171, d'Aix-Marseille.

<sup>5</sup> Laboratoire de physico- et toxicochimie des systèmes naturels, UMR 6472, de Bordeaux 1.

photo-oxydation qui précède ou accompagne le dépôt sur les fonds marins. Il a été démontré que la fraction malténique (plus de 70 % du brut) est dégradée très rapidement (l'essentiel des dégradations se produit à l'échelle du mois); cependant, certains marqueurs géochimiques demeurent stables et peuvent ainsi servir de référentiel pour qualifier et quantifier ces dégradations. Par ailleurs, les chimistes ont collaboré avec les microbiologistes pour la caractérisation des produits de dégradation bactérienne dans les sédiments marins.

Dans le domaine de la microbiologie, les activités du GDR ont apporté des connaissances nouvelles sur les processus microbiens qui expliquent la dégradation et le devenir des hydrocarbures. En ce qui concerne les acquis sur la biodégradation des hydrocarbures et de leurs dérivés oxydés, les études ont permis d'isoler et d'identifier plusieurs souches hydrocarbonoclastes. Elles ont également mis en évidence des voies métaboliques de biodégradation de différentes familles d'hydrocarbures, soit en biodégradation aérobie (par des souches marines ou des communautés bactériennes), soit en biodégradation anaérobie (isolement d'une nouvelle espèce sulfato-réductrice capable de dégrader les hydrocarbures aliphatiques, mise en évidence de la dégradation du squalène par des bactéries dénitrifiantes). Elles ont aussi permis d'évaluer les effets de quelques facteurs environnementaux – et notamment le rôle de l'oxygène – sur les conditions de biodégradation. Elles ont été l'occasion d'utiliser, tout en l'améliorant, la technique d'analyse des acides gras des souches bactériennes. Cette technique permet de suivre l'effet d'un apport pétrolier sur la structure de consortiums bactériens. Ces résultats originaux concernant la biodégradation des hydrocarbures dans les sédiments marins ont été acquis grâce à la démarche interdisciplinaire liant des microbiologistes et des chimistes.

La macrofaune benthique intervient aussi dans la biodégradation. Dans le cas des Néréis, les effets du transit dans le tractus digestif ont été mesurés : il occasionne une dissolution partielle facilitatrice de la biodégradation.

Cette macrofaune joue aussi un rôle « mécanique » grâce aux processus importants de remaniement sédimentaire (bioturbation) qui, d'une part, entraînent l'enfouissement des sédiments contaminés, qui permettent, d'autre part, un apport d'oxygène dans des zones normalement anaérobies et qui aboutissent enfin à la remise en suspension dans la colonne d'eau du sédiment contaminé. Ces données éclairent le rôle, peu connu auparavant, du vivant comme « acteur » de décontamination des sédiments superficiels. À partir de la description des processus de bioturbation engendrés par cinq groupes fonctionnels d'organismes, a été construit un modèle global de bioturbation permettant de simuler numériquement la distribution en deux dimensions des hydrocarbures dans un sédiment soumis au processus de mélange.

Les résultats concernant les effets des hydrocarbures sur la faune (macrofaune et méiofaune benthiques) ne sont pas indépendants de la composition spécifique de départ des communautés benthiques contaminées artificiellement par les hydrocarbures. En effet, les concentrations très élevées utilisées, qui correspondaient à celles de contaminations majeures lors des marées noires, ont été appliquées à des sédiments qui étaient dominés par des organismes peu sensibles aux hydrocarbures, en particulier les annélides polychètes. Fonction des concentrations utilisées, les résultats le sont donc aussi des espèces pouvant vivre dans de tels types de communautés (sables vaseux de mode calme peu profonds), à de telles concentrations en hydrocarbures; leur généralisation doit donc être mesurée. Mais le GDR est loin d'avoir bouclé les recherches sur les effets des hydrocarbures sur la faune (en particulier des espèces sensibles aux hydrocarbures, comme les crustacés amphipodes); celles-ci nécessiteraient le suivi d'une plus grande variété d'organismes et d'écosystèmes, ainsi qu'une approche dans la durée, si l'on veut évaluer les risques de dérives populationnelles ou génétiques.

### **Un exemple de stratégie expérimentale in situ : le chantier de Carteau**

Une des originalités du GDR a été l'implantation de chantiers expérimentaux sur le littoral méditerranéen. À titre d'exemple, nous développerons ici la stratégie expérimentale transverse et multiéchelle conduite dans le cadre du chantier de l'anse de Carteau.

Ce chantier a été implanté dans le golfe de Fos (Fig. 1) – site conchylicole, sensible et protégé – en 1995-1996, à 5 m de profondeur (anse de Carteau).

Pour ce chantier, des galettes de sédiment de 1 cm d'épaisseur, contaminées par une quantité connue de pétrole de type « arabe léger », ont été déposées à l'interface eau-sédiment (Fig. 2). Des luminophores minéraux, fluorescents à 254 nm, ont été déposés à la surface de chaque galette afin de pouvoir estimer la bioturbation (remaniement sédimentaire biologique) grâce à un comptage effectué au niveau de chaque tranche après prélèvement. Pour avoir un échantillonnage statistiquement significatif, 96 carottiers circulaires en PVC ont été implantés, répartis dans trois champs expérimentaux; chaque carottier délimitant une portion de biotope et de peuplement bactérien et macrobenthique (algues, organismes). Dans chaque champ, quatre lots de carottiers correspondant à des « exploitations disciplinaires » différentes ont été implantés. Selon des périodes de temps régulières (6, 12, 18, 24, 30 et 36 mois), les carottiers ont été prélevés et découpés en tranches sur lesquelles ont eu lieu les différentes analyses chimiques, physiques et biologiques...

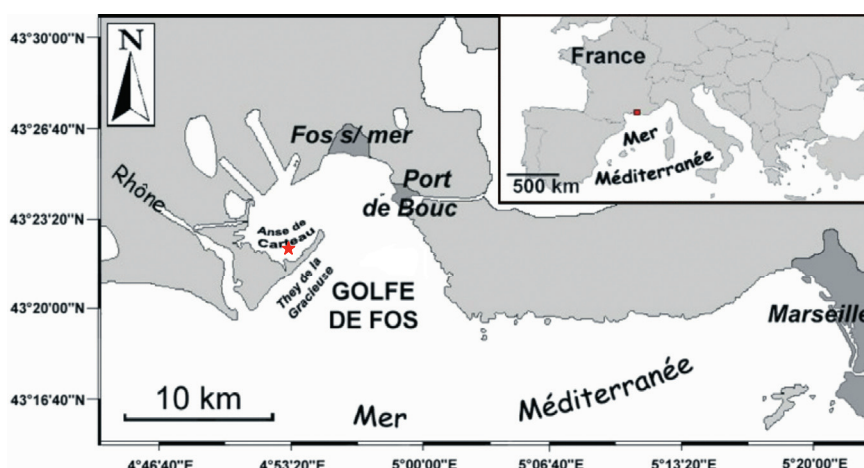


Fig. 1. Chantier expérimental de Carreau-golfe de Fos mis en œuvre dans le cadre du GDR Hycar.

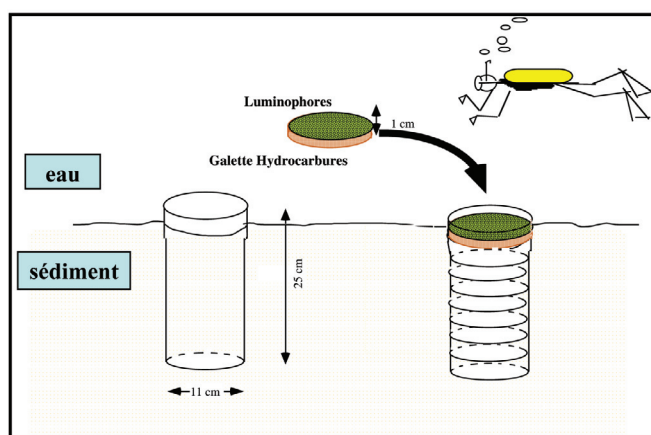


Fig. 2. Implantation des carottiers expérimentaux dans le sédiment.

L'étude gravimétrique (Fig. 3) a mis en évidence un processus de « redistribution » du pétrole contaminant : « relargage » dans la colonne d'eau et enfouissement par la macrofaune sédimentaire (bioturbation), aboutissant à une disparition rapide du pétrole contaminant des carottiers expérimentaux : près de 78 % dès 6 mois à près de 100 % au bout de 3 ans dans le champ I. Il faut tout de même remarquer que la majeure partie de la redistribution du contaminant a été effectuée par relargage dans la colonne d'eau.

L'enfouissement du contaminant, autrement dit le résultat de la bioturbation, bien qu'ayant débuté très tôt (au bout de 6 mois, la couche 2-4 cm est déjà atteinte) reste limité. En effet, si, au bout de deux ans, le pétrole atteint une profondeur de 6 cm, au temps 3 ans la couche 8-10 cm n'est que très peu contaminée par le BAL 150. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse de marqueurs biogéochimiques récalcitrants à la dégradation (hopanes, norhopanes et drimanes).

L'analyse des hydrocarbures saturés a permis de mettre en évidence, en moyenne, une bonne décontamination du site au bout de trois ans pour les couches de surface. On constate en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) la présence de massifs de composés non résolus (UCM) d'intensités variables, décroissant de la surface vers la profondeur, mettant en évidence une biodégradation des n-alcanes et des isoprénoïdes parfois quasi totale. La présence d'hydrocarbures dégradés, détectés à la fois dans les sédiments de surface et dans la zone 2-6 cm (zone théoriquement anaérobie), peut avoir plusieurs explications : le pétrole biodégradé en surface (en condition aérobie) est ensuite enfoui dans la zone inférieure où règnent des conditions réductrices ; le remaniement sédimentaire induit par la macrofaune entraîne une oxydation dans la zone 2-4 cm, permettant une biodégradation aérobie dans cette zone.

On constate qu'au-delà de 6 cm de profondeur, on retrouve des profils à dominance pétrolière correspondant à un mélange de sources distinctes :

- pétrole expérimental enfoui relativement peu dégradé (quantités faibles) ;
- hydrocarbures biogènes ;
- hydrocarbures pétroliers correspondant à des contaminations anciennes déjà présentes dans le sédiment (présence de hopanes déméthylés en C<sub>25</sub> indiquant selon toute vraisemblance une altération des hopanes).

Cette persistance en profondeur, au niveau d'un site chroniquement contaminé pendant des décennies, montre qu'au-delà d'une certaine profondeur d'enfouissement, les phénomènes d'altération deviennent beaucoup plus lents, ce qui tend à favoriser les processus de préservation de la matière organique.

Dans les conditions de cette expérimentation, les rapports  $nC_{17}$ /Pristane et  $nC_{18}$ /Phytane, classiquement utilisés pour mettre en évidence une biodégradation, ne sont plus utilisables au-delà de 6 mois pour évaluer

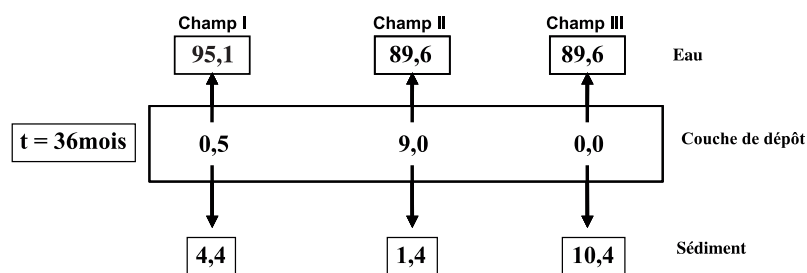


Fig. 3. Bilan des phénomènes de transfert au temps 3 ans dans la colonne d'eau et dans les sédiments des différents champs du chantier Carteau (exprimés en % par rapport à la galette contaminante).

l'altération du pétrole en général et des alcanes linéaires en particulier (les composés isopréniques étant eux-mêmes altérés). L'étude des marqueurs biogéochimiques du pétrole contaminant a montré la grande stabilité des composés de la famille des terpanes pendant toute la durée d'expérimentation. L'utilisation d'indices mettant en jeu ces marqueurs a permis de vérifier qu'après 36 mois d'expérimentation, ces marqueurs, et particulièrement les composés de la famille des hopanes, n'ont pas subi d'altération sélective. Le  $17\alpha 21\beta$  C<sub>30</sub> hopane a pu ainsi être utilisé comme « étalon endogène ». Il a permis d'évaluer l'altération des *n*-alcanes et celle des isoprénoides au-delà de 6 mois.

Enfin, a été mise en évidence l'utilité de certaines molécules contenues dans le sédiment initial (hopènes) comme marqueurs d'enfouissement, particulièrement utiles dans le cas de sédiments contaminés en profondeur par des pollutions anciennes.

Cette expérimentation *in situ* a permis de suivre à moyen terme le comportement des hydrocarbures dans un sédiment marin et de valider le début de l'échelle de dégradation de Peters et Moldowan (1993). En effet, lorsque ce type d'expérimentation est mené *in vitro*, comme c'est généralement le cas, il ne permet pas de réellement apprécier le devenir d'une pollution. Ainsi, grâce à cette étude, la modélisation du devenir du BAL 150 en cas d'accident pétrolier sur le site aiderait, d'une part, à prévoir le temps de réhabilitation du site et, d'autre part, à mettre en place des systèmes efficaces de lutte contre la pollution marine. On constate enfin que, bien que la plus grande partie du pétrole déposé ait disparu, beaucoup de familles d'hydrocarbures n'ont pas été altérées mais simplement libérées du sédiment. Ceci confirme l'importance du rôle joué par la bioturbation dans le processus naturel de biorémédiation. Si on se réfère à l'échelle d'altération établie par Volkman<sup>6</sup> ou à celle proposée par Peters et Moldowan<sup>7</sup>, le stade de dégradation atteint correspond au niveau « dégradation modérée », bien que,

pondéralement, près de 95 % du pétrole aient disparu du sédiment.

## Perspectives

Le bilan scientifique du GDR se traduit par onze thèses soutenues, la publication d'une centaine d'articles dans des revues internationales et près de 150 communications. Il s'agit d'une recherche fondamentale ayant contribué en particulier à une meilleure définition du compartiment procaryote des sédiments marins (dont beaucoup de souches nouvelles utilisées dans l'expérimentation sont conservées en banque). Il apporte un message encourageant, montrant une dégradation naturelle assez rapide de la plupart des constituants du pétrole, illustrée sur le terrain par le fait que le site de Lavéra, massivement pollué pendant quarante ans, a été en grande partie réhabilité dix ans après l'arrêt des rejets. Mais, comme cela a été souligné plus haut, on est loin de pouvoir identifier les risques à long terme sur les populations polluées. Cette recherche fondamentale débouche évidemment sur des applications, en ayant établi un arsenal de moyens analytiques permettant de caractériser l'origine d'hydrocarbures polluants, même dégradés après un long séjour en mer, et en fournissant tous les éléments pour le développement de biotechnologies de lutte contre les pollutions par des hydrocarbures.

Le GDR est arrivé à son terme, mais les travaux continuent, toujours sous-tendus par une interdisciplinarité forte existant entre les différents laboratoires impliqués dans les domaines de la biologie, de la chimie organique et de la microbiologie, interdisciplinarité initiée dans le cadre du projet. Trois grands types d'approches expérimentales interdisciplinaires de chimie, de microbiologie, de biologie et de biologie moléculaire sont actuellement mis en œuvre :

- des expérimentations *in situ* sur un site atelier, qui permettront de simuler un apport massif de pétrole et d'étudier, dans des conditions réelles, les capacités de biorémédiation de sédiments marins côtiers ;

<sup>6</sup> Volkman, J.K., Johns, R.B., 1977. The geochemical significance of positional isomers of unsaturated acids from an intertidal zone sediment, *Nature*, 267, 693-694.

<sup>7</sup> Peters K.E., Moldowan, J.M., 1993. *The Biomarker Guide*, Prentice Hall, Englewood Cliffs.

- des expériences en mésocosmes (bassins d'expérimentation de 400-1000 l), qui seront destinées à étudier, dans des conditions contrôlées proches des conditions naturelles : 1) le rôle des communautés macrobenthiques lors de la réhabilitation d'un sédiment contaminé, 2) la réponse biologique et physico-chimique d'un écosystème benthique à un apport massif d'hydrocarbures ;
- des expérimentations in vitro, qui auront comme but de permettre de comprendre et d'interpréter les observations faites dans le milieu naturel (ex. : potentialités de certaines bactéries à dégrader les hydrocarbures).

La vocation de ces travaux est de rendre prévisible le devenir d'un pétrole dans des sédiments côtiers à la suite d'une marée noire et de déterminer le temps nécessaire pour la réhabilitation du site. Elle est aussi de se donner les moyens d'une évaluation des conséquences de cette pollution accidentelle sur le fonctionnement des écosystèmes sédimentaires. Il s'agit en fin de compte de fournir des informations objectives utilisables lors d'une expertise et susceptibles de mieux définir les technologies de réhabilitation (*i.e.* lutte antipollution).

## Références

- Aries, E., Doumenq, P., Artaud, J., Acquaviva, M., Bertrand, J.-C., 2001. Effects of petroleum hydrocarbons on the phospholipidic fatty acid compositions of a consortium composed of marine hydrocarbonoclastic bacterial strains, *Org. Geochem.*, 32, 891-903.
- Budzinski, H., Raymond, N., Nadalig, T., Gilewicz, M., Garrigues, P., Bertrand, J.-C., Caumette, P., 1998. Aerobic biodegradation of alkylated aromatic hydrocarbons by a bacterial community, *Org. Geochem.*, 28, 337-348.
- Doumenq, P., Acquaviva, M., Asia, L., Durbec, J.-P., Le Dréau, Y., Mille, G., Bertrand, J.-C., 1999. Changes in fatty acids of *Pseudomonas nautica*, a marine denitrifying bacterium, in response to n-eicosane as carbon source and various culture conditions, *FEMS Microbiology Ecology*, 28, 519-528.
- Gilbert, F., Stora, G., Desrosiers, G., Deflandre, B., Bertrand, J.-C., Poggiale, J.-C., Gagné, J.-P., 2001. Alteration and release of aliphatic compounds by the polychaete *Nereis virens* (Sars) experimentally fed with hydrocarbons, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 256, 199-213.
- Guiliano, M., El Anba-Lurot, F., Doumenq, P., Mille, G., Rontani, J.-F., 1997. Photo-oxidation of n-alkanes in simulated marine environmental conditions, *J. Photochem. Photobiol. A Chemistry*, 102, 127-132.