



HAL
open science

Traçage spatial et temporel des eaux souterraines dans les hydrosystèmes karstiques par les matières organiques dissoutes : expérimentation et application sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d’Apt et de Fontaine de Vaucluse

Thibaut Blondel

► **To cite this version:**

Thibaut Blondel. Traçage spatial et temporel des eaux souterraines dans les hydrosystèmes karstiques par les matières organiques dissoutes : expérimentation et application sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d’Apt et de Fontaine de Vaucluse. Sciences de la Terre. Université d’Avignon, 2008. Français. NNT : 2008AVIG0044 . tel-00684295

HAL Id: tel-00684295

<https://theses.hal.science/tel-00684295>

Submitted on 1 Apr 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L’archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d’enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**ACADÉMIE D'AIX-MARSEILLE
UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE**

THÈSE

présentée à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse
pour obtenir le diplôme de DOCTORAT

SPÉCIALITÉ : Hydrogéologie

Ecole doctorale 477 « Systèmes intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosiences et
Environnement »

UMR 1114 « Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes »

**TRAÇAGE SPATIAL ET TEMPOREL DES EAUX
SOUTERRAINES DANS LES HYDROSYSTÈMES
KARSTIQUES PAR LES MATIÈRES ORGANIQUES
DISSOUTES**

**Expérimentation et application sur les sites du Laboratoire Souterrain à
Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d'Apt et de Fontaine de Vaucluse**

par

Thibaut BLONDEL

Soutenue le 10 décembre 2008, devant le jury composé de

B. ANDREO-NAVARRO	Profesor Titular, Universidad de Málaga	Rapporteur
E. PARLANTI	CR1-HDR, CNRS, Université de Bordeaux I	Rapporteur
B. PEPIN-DONAT	DR2, CEA, Grenoble	Examineur
Y. TRAVI	Professeur, UMR EMMAH, Université d'Avignon	Directeur de thèse
Y. DUDAL	CR1-HDR, UMR BSR, INRA de Montpellier	Codirecteur de thèse
C. EMBLANCH	MCF, UMR EMMAH, Université d'Avignon	Encadrant

*Je dédie ce manuscrit à ma famille
et à celui qui m'a fait découvrir et aimer l'hydrogéologie,
Michel Lepiller, tragiquement décédé le 30 octobre 2006*

Avant-propos

Après un peu plus de trois ans à parcourir la surface et les entrailles du Plateau d'Albion, me voici à l'aboutissement tant attendu d'un travail haletant et non moins enrichissant. Maintenant que je suis assis là devant mon écran, je me remémore les petites tracasseries loufoques et inhérentes à toute thèse, comme la panne inopinée de la vieille et très vaillante AX du Laboratoire d'Hydrogéologie d'Avignon au niveau d'un secteur non couvert par un réseau téléphonique, ou encore mes aller-retours en Fenwick dans la sombre galerie du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel-Pays d'Apt (surtout quand, au beau milieu de celle-ci, le seul projecteur, que j'ai pris dans la précipitation, arrive en fin de vie), ainsi que mes longues marches dans la garrigue à porter mes litres d'eau pour faire pleuvoir artificiellement sur des plaques lysimétriques que certains promeneurs s'amusaient à enlever.

En parlant de pluie, il me vient à l'esprit cet écriteau, sur le chemin de la Fontaine de Vaucluse, racontant la légende du ménétrier Basile de Frédéric Mistral :

[...], le vieux ménétrier Basile s'endormit à l'ombre, un chaud jour, sur le chemin de Vaucluse. Apparut une nymphe, qui, [...] le conduisit au bord de la vasque où s'épanouit la Sorgue. [...] Après une longue course souterraine, la nymphe, au milieu d'une souriante prairie, semée de fleurs surnaturelles, arrêta le ménétrier devant sept gros diamants. Soulevant l'un d'eux, elle fit jaillir un puissant jet d'eau : « Voilà, dit-elle, le secret de la source dont je suis gardienne ; pour la gonfler je retire les diamants : au septième l'eau atteint le figuier qui ne boit qu'une fois l'an ! »

Si j'avais su que mes travaux se dérouleraient au cours des années les plus sèches jamais enregistrées de la source (2.7 m³/s en novembre 2007), je me serais décidé à plonger dans la vasque pour, cette fois-ci, négocier avec la nymphe, qui, en ces temps économiques et environnementaux difficiles, s'était sûrement portée gréviste.

Il n'empêche que cette insertion dans le monde de la Recherche a été pour moi une formidable expérience scientifique et humaine. C'est pourquoi, avant d'en exposer les résultats, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères reconnaissances aux différents acteurs ayant pris part directement ou non à l'élaboration de ce travail.

Je tiens, tout d'abord, à remercier Yves Travi, directeur du laboratoire d'hydrogéologie d'Avignon (LHA) et, pour ma part, directeur de thèse, de m'avoir accueilli dans son laboratoire. Par la confiance dont il a fait preuve à mon égard, il m'a laissé une grande liberté dans mes investigations. Je remercie également André Chanzy et Pierre Renault, directeurs de recherche à l'Institut Nationale de Recherche Agronomique (INRA) d'Avignon, d'avoir accepté d'être mes co-directeurs de thèse en attendant que Yves Dudal passe brillamment son HDR, et ainsi de m'avoir permis d'intégrer les équipes de recherche du bâtiment SOL. Je tenais à dire aussi que je suis heureux que cette co-direction

ait également participé modestement au renforcement des liens entre les équipes du LHA et celles de l'INRA, qui se sont regroupées dans une UMR Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes (EMMAH), à qui je souhaite tous mes vœux de réussite.

Je remercie particulièrement Bartolomé Andréo-Navarro, professeur titulaire de l'Université de Málaga, et Edith Parlanti, chargé de recherche CNRS de l'UMR Institut des Sciences Moléculaires (IMS) à Bordeaux, d'avoir accepté de juger ces travaux dans des délais très brefs et d'avoir assisté à la soutenance malgré l'éloignement. J'ai essayé d'intégrer leurs différentes remarques constructives et espère qu'ils seront satisfaits de cette version finale du manuscrit.

Ce travail a été mené à bien sous les regards instructifs et critiques de Yves Dudal, chargé de recherche INRA de l'UMR Biogéochimie du Sol et de la Rhizosphère de Montpellier, et de Christophe Emblanch, maître de conférence de l'Université d'Avignon. Leur rigueur scientifique et leur esprit d'analyse ont été pour moi d'une grande valeur lors de l'acquisition, l'exploitation des données et de la rédaction de ce manuscrit. Je suis également reconnaissant de la disponibilité qu'ils ont eue à mon égard, malgré leurs charges de travail respectives.

Ils ont ainsi permis la constitution d'un comité de pilotage qui a assuré le bon déroulement de la thèse par un encadrement et une participation à la réflexion de très grande qualité. Je remercie donc les personnes qui ont acceptées d'en être membre et qui ont ainsi été d'une très grande aide à l'élaboration de ce travail : Stéphane Mounier, maître de conférence de l'Université de Toulon, pour son regard extérieur ; Yves Perrette, chargé de recherche CNRS de l'UMR EDYTEM, pour son aide notamment à la programmation @MatLab ; Jérôme Poulénard, maître de conférence de l'Université de Savoie, pour ses apports en pédologie ; Brigitte Pépin-Donat (examineur de ce travail) et Christian Lombard, respectivement directeur de recherche et ingénieur du CEA Grenoble, ces deux derniers m'ayant ouvert les portes de leur laboratoire SPRAM, dans lequel j'ai pu utiliser le spectromètre à Résonance Paramagnétique Electronique (RPE).

Je remercie aussi Stéphane Gaffet, chargé de recherche CNRS de l'UMR Géosciences Azur à Sofia-Antipolis et directeur du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. J'adresse un vif remerciement à Daniel Boyer, Alain Cavaillou, Michel Auguste et Christophe Sudre, membres de ce laboratoire, pour leur disponibilité et leur bonne humeur.

Je remercie encore Brigitte Bouquet du CIRAME de Carpentras qui m'a permis d'accéder aux chroniques climatiques des stations météorologiques de St Saturnin-lès-Apt et de Sault.

Enfin, je tiens à adresser toute ma gratitude aux membres du LHA qui ont su par leur bonne humeur faciliter mon intégration dans le laboratoire. Merci à Roland Simler, Michel Daniel et Milanka Babic pour leurs aides aux analyses hydrochimiques et isotopiques. Merci aussi à Richard Barachia pour son aide précieuse dans les démarches administratives. Un grand merci à l'équipe du département de Géologie (Olivier Banton, Vincent Vallès, Jean-Claude Bellion, Jean-Michel Puig, Dominique

Pawlowski, Claude Galzi, Anne-Laure Cognard-Plancq, Vincent Marc) pour m'avoir fait découvrir les joies de l'enseignement. Merci également aux « camarades thésards » ou pour certains jeunes docteurs, avec qui j'ai fait ce bout de chemin : Alexandre Cras, Rémi De La Vaissière, Frédéric Lalbat, Jean Ndembo, Benjamin Garry, Cécile Doukouré, Véronique De Montety, Jean-Christophe Comte, Sylvain Gignoux (petite dédicace pour les parties de pétanque avec Alex et les petits problèmes de programmation), Emilie Garel. Une mention toute particulière pour Benjamin avec qui j'ai fait pas mal de promenades sous terre en Fenwick, durant lesquelles une anecdote faisant intervenir des papillons de nuit me revient souvent à l'esprit...

Pour finir, je n'oublierai pas de remercier ma famille proche pour leur soutien non seulement au cours de la thèse mais aussi tout au long de ma vie d'étudiant qui s'achève de la plus belle des manières en grande partie grâce à eux.

Table des matières

Avant-propos	5
Table des matières	9
Introduction.....	15
CHAPITRE I : Le Karst et les matières organiques du sol.....	19
I.1 Le karst, un aquifère atypique.....	21
I.1.1 Définition	21
I.1.2 La place du karst dans le monde et en France	22
I.1.3 Propriétés structurales des roches carbonatées.....	23
I.1.4 La karstification	24
I.1.4.1 <i>Description thermodynamique du phénomène.....</i>	<i>24</i>
I.1.4.2 <i>Principe général.....</i>	<i>25</i>
I.1.5 Structure et fonctionnement d'un système karstique.....	26
I.1.6 Vulnérabilité de la ressource	31
I.2 Le sol et ses constituants organiques	32
I.2.1 La place du sol dans le cycle global du carbone organique.....	32
I.2.2 Le sol, un milieu triphasique	33
I.2.3 Nature des constituants organiques moléculaires ou supramoléculaires du sol	34
I.2.3.1 <i>Définitions</i>	<i>34</i>
I.2.3.2 <i>Les substances non humiques.....</i>	<i>35</i>
I.2.3.3 <i>Les substances humiques.....</i>	<i>38</i>
I.3 Le carbone organique dissous dans l'hydrosystème karstique	41
I.3.1 Définitions et répartition des matières organiques dans les eaux naturelles.....	41
I.3.1.1 <i>Fractions granulométriques du Carbone Organique Total (COT).....</i>	<i>41</i>
I.3.1.2 <i>Concentrations des différentes fractions du COT dans les eaux naturelles.....</i>	<i>41</i>
I.3.2 Devenir du carbone organique dissous dans les systèmes karstiques.....	43
I.3.2.1 <i>Solubilité et polymérisation des matières organiques du sol.....</i>	<i>43</i>
I.3.2.2 <i>Phénomènes d'adsorption-désorption.....</i>	<i>43</i>
I.3.2.3 <i>Biodégradabilité des matières organiques dissoutes.....</i>	<i>44</i>
I.3.3 Nature des constituants de la matière organique dissoute des eaux naturelles	44
CHAPITRE II : Présentation du site d'étude et caractérisation des écoulements .	47
II.1 L'hydrosystème de Fontaine de Vaucluse	49
II.1.1 Localisation géographique	49
II.1.2 Contexte géologique.....	49
II.1.2.1 <i>Géologie structurale.....</i>	<i>49</i>
II.1.2.2 <i>Unités lithologiques.....</i>	<i>51</i>
II.1.3 L'aquifère du système de Fontaine de Vaucluse	55
II.1.3.1 <i>Contexte hydrogéologique.....</i>	<i>55</i>
II.1.3.2 <i>Synthèse des études scientifiques.....</i>	<i>56</i>
II.1.4 Contexte pédologique simplifié	58
II.1.5 Contexte climatique	62
II.1.5.1 <i>Stations de mesure et méthode de calcul de l'évapotranspiration</i>	<i>62</i>
II.1.5.2 <i>Bilan climatique de la région entre 1998 et 2007</i>	<i>63</i>

II.2	Le LSBB, un accès privilégié sur la zone non saturée	65
II.2.1	Description de la galerie.....	65
II.2.1.1	<i>Historique et morphologie.....</i>	<i>65</i>
II.2.1.2	<i>Intérêt scientifique du site</i>	<i>67</i>
II.2.2	Contexte hydrogéologique et pédologique.....	67
II.2.3	Matériels et périodicité d'échantillonnage	69
II.3	Caractérisation hydrogéochimique des écoulements du LSBB.....	71
II.3.1	Méthodes d'analyses hydrogéochimiques.....	71
II.3.1.1	<i>Paramètres physico-chimiques.....</i>	<i>71</i>
II.3.1.2	<i>Anions.....</i>	<i>71</i>
II.3.1.3	<i>Cations</i>	<i>72</i>
II.3.1.4	<i>Carbone Organique Total (COT).....</i>	<i>73</i>
II.3.2	Synthèse de l'étude des écoulements de la zone non saturée	73
II.3.2.1	<i>Description et caractérisation des différents écoulements du LSBB.....</i>	<i>73</i>
II.3.2.2	<i>Estimations des temps de séjour par l'évolution du COT</i>	<i>77</i>
CHAPITRE III : Le Potentiel des matières organiques dissoutes pour le traçage		
hydrogéologique		79
III.1	Les MOD : un traceur naturel potentiel et ses principales techniques analytiques.....	81
III.1.1	Des caractéristiques adéquates d'un bon traceur hydrogéologique.....	81
III.1.1.1	<i>Les propriétés indispensables d'un traceur hydrogéologique naturel.....</i>	<i>81</i>
III.1.1.2	<i>Caractéristiques des MOD pour le traçage hydrogéologique</i>	<i>81</i>
III.1.2	Les principales méthodes de caractérisation des MOD.....	82
III.1.2.1	<i>Les méthodes destructives</i>	<i>82</i>
III.1.2.2	<i>Les méthodes physiques non destructives</i>	<i>83</i>
III.1.3	Choix des méthodes analytiques des MOD pour notre problématique	84
III.2	Présentation des techniques analytiques utilisées	86
III.2.1	La spectrofluorimétrie : principes et méthodes	86
III.2.1.1	<i>Théorie de la fluorescence moléculaire</i>	<i>86</i>
III.2.1.2	<i>Choix du modes d'analyses spectrofluorimétriques.....</i>	<i>87</i>
III.2.1.3	<i>Méthodes analytiques.....</i>	<i>89</i>
III.2.2	La Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) : principes et méthodes.....	94
III.2.2.1	<i>Théorie de la résonance de spin électronique : exemple de l'électron libre.....</i>	<i>94</i>
III.2.2.2	<i>Appareillage et calibration</i>	<i>97</i>
III.2.2.3	<i>Méthodes analytiques des spectres RPE.....</i>	<i>98</i>
III.3	Caractérisation du potentiel traceur « MOD ».....	102
III.3.1	Traitement et premières interprétations de la spectrofluorimétrie.....	102
III.3.1.1	<i>Variations saisonnières de la nature des MOD du sol : mesures de terrain.....</i>	<i>102</i>
III.3.1.2	<i>Caractérisation des massifs de fluorescence des MEE.....</i>	<i>103</i>
III.3.1.3	<i>Variations des spectres de fluorescence 3D.....</i>	<i>104</i>
III.3.2	Examen qualitatifs des spectres RPE	107
III.3.2.1	<i>Une méthode de différenciation fine des types de sol.....</i>	<i>107</i>
III.3.2.2	<i>Variations temporelles du signal RPE des sols.....</i>	<i>108</i>

CHAPITRE IV : Applications et apports hydrogéologiques des Matières	
Organiques Dissoutes au traçage spatial et temporel	111
IV.1 Un traçage spatial.....	113
IV.1.1 Utilisation des Matrices d'Excitation-Emission.....	113
IV.1.1.1 <i>Une technique de traçage déjà validée par de nombreuses études.....</i>	<i>113</i>
IV.1.1.2 <i>Une méthode pas assez sensible pour notre secteur d'étude.....</i>	<i>113</i>
IV.1.2 Utilisation des spectres RPE	115
IV.1.2.1 <i>Une nouvelle technique de traçage des MOD non-fossiles.....</i>	<i>115</i>
IV.1.2.2 <i>Application au secteur du LSBB.....</i>	<i>116</i>
IV.1.3 Bilan des méthodes de traçage spatial par la MOD.....	119
IV.2 Un traçage temporel.....	122
IV.2.1 Traçage ponctuel des temps de séjour à l'échelle saisonnière.....	122
IV.2.1.1 <i>Définition des signaux fluorescents d'entrée et de sortie.....</i>	<i>122</i>
IV.2.1.2 <i>Traçage ponctuel par les indices de flux de fluorescence.....</i>	<i>123</i>
IV.2.1.3 <i>Utilisation de la RPE.....</i>	<i>127</i>
IV.2.1.4 <i>Bilan de la technique de quantification ponctuelle des temps de transit.....</i>	<i>129</i>
IV.2.2 Traçage continu des temps de transit	129
IV.2.2.1 <i>Définition des indices utilisés.....</i>	<i>129</i>
IV.2.2.2 <i>Etablissement de la relation $HIX = f(TdT)$, précision et limites de validité.....</i>	<i>130</i>
IV.2.3 Validation et application de la relation au calcul du temps de transit	134
IV.2.3.1 <i>Confrontation des résultats obtenus par le traçage ponctuel et continu.....</i>	<i>134</i>
IV.2.3.2 <i>Application sur les systèmes de Fontaine de Vaucluse et St Trinit.....</i>	<i>135</i>
IV.3 Apport à la dynamique de la MOD dans les hydrosystèmes karstiques.....	136
IV.3.1 Signal d'entrée : comparaison des MOD lixiviées et extraites.....	136
IV.3.1.1 <i>Protocole d'extraction des matières organiques du sol.....</i>	<i>136</i>
IV.3.1.2 <i>La lixiviation, un premier tri des MOD du sol.....</i>	<i>137</i>
IV.3.2 Evolution de la MOD dans l'hydrosystème	139
IV.3.2.1 <i>Caractéristiques du réacteur « mini-karst ».....</i>	<i>139</i>
IV.3.2.2 <i>Dynamique évolutive de la MOD globale.....</i>	<i>140</i>
IV.3.2.3 <i>Dynamique évolutive des traceurs organiques fluorescents.....</i>	<i>142</i>
IV.4 Contributions des traceurs organiques aux traçages naturels habituellement utilisés	
dans les hydrosystèmes karstiques	145
IV.4.1 Rappels sur les modes d'utilisation de $l^{18}O$	145
IV.4.1.1 <i>La méthode d'analyse isotopique.....</i>	<i>145</i>
IV.4.1.2 <i>Principaux effets causant les variations du signal $\delta^{18}O$.....</i>	<i>146</i>
IV.4.2 Applications du traçage isotopique à un écoulement du LSBB	146
IV.4.2.1 <i>Difficile estimation du temps de séjour de l'écoulement B par $l^{18}O$.....</i>	<i>146</i>
IV.4.2.2 <i>Les causes de l'irrégularité des variations en ^{18}O.....</i>	<i>147</i>
IV.4.3 Complémentarité du traceur organique et du traceur isotopique.....	148
Conclusion générale.....	151
Références bibliographiques.....	159
Liste des figures et tableaux.....	173
Annexes.....	181

Introduction

Dans les hydrosystèmes anisotropes, l'estimation des temps de transit au sein de l'aquifère et la détermination de son bassin d'alimentation constituent les principales étapes de l'évaluation de la vulnérabilité et de la protection de la ressource en eau souterraine. Afin d'atteindre cet objectif, les hydrogéologues disposent de plusieurs outils parmi lesquels on trouve le traçage.

Il en existe deux types :

- ◇ le traçage artificiel pour lequel des substances facilement détectables sont injectées artificiellement dans le système,
- ◇ le traçage naturel où des substances naturellement présentes dans les eaux souterraines sont suivies.

Alors que le premier permet de déterminer avec précision les principales propriétés de circulation des eaux souterraines entre un point d'injection et l'exutoire mais uniquement dans les conditions hydrologiques de l'opération, le second offre une information plus globale sur le comportement hydrodynamique des aquifères.

Le Carbone Organique Total (COT) est généralement étudié, dans les eaux naturelles, afin de mettre en évidence les pollutions anthropiques et l'infiltration d'eaux de surface dans les systèmes karstiques [Albéric & Lepiller (1998)]. Il est devenu, depuis une dizaine d'année, un traceur naturel intéressant dans le marquage de l'infiltration rapide au sein d'écoulements karstiques, ainsi que dans la détermination des comportements hydrodynamiques de ces mêmes écoulements [Emblanch *et al.* (1998) ; Batiot (2002) ; Garry (2007)].

Le système « sol » se trouve être au centre des échanges organiques entre l'atmosphère, la biosphère, l'hydrosphère et la lithosphère, ce qui en fait la principale source des différents types de matières organiques présentes dans les eaux souterraines et un réservoir diversifié de composés carbonés, variant d'un type de sol à l'autre. L'utilisation de cette diversité et l'étude du devenir de ces molécules dans un hydrosystème karstique peut nous offrir un marquage temporel et spatial des eaux d'infiltration.

C'est pourquoi, l'un des objectifs majeurs de ce travail s'inscrit dans une démarche d'approfondissement des connaissances de la composition et la dynamique des matières organiques depuis leur entrée dans l'hydrosystème karstique jusqu'à l'exutoire dans le but de développer un nouveau traceur hydrogéologique. Pour cela, nous travaillerons autour de trois axes, à savoir :

- Un inventaire des connaissances sur la nature et les méthodes de caractérisation des matières organiques dissoutes
- La démonstration du potentiel de la matière organique dissoute comme traceur hydrogéologique et le choix des méthodes de détection, adaptées à notre problématique
- L'application de ce traceur à plusieurs types d'écoulement karstique de la zone non saturée.

Notre étude s'est appuyée sur des données acquises au Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d'Apt, qui apparaît comme un observatoire privilégié en accès direct vers divers écoulements karstiques de la zone non saturée du système de Fontaine de Vaucluse. En effet, l'intérêt du LSBB réside sur son tracé qui est fonction d'une problématique de sûreté nationale, et non de considérations hydrogéologiques. De ce fait, cet accès « aléatoire » au réseau karstique a donné l'opportunité à Garry (2007) de caractériser différents comportements hydrodynamiques d'écoulements karstiques de la zone non saturée.

Chaque écoulement a fait l'objet d'un suivi hydrodynamique et hydrochimique (pH, température, conductivité électrique, chimie des majeurs : HCO_3^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+). Des paramètres supplémentaires relatifs aux matières organiques ont été également analysés aussi bien à la base des sols qu'aux exutoires : le carbone organique dissout (COD), les matrices d'excitation-émission et les spectres de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE), sur deux cycles hydrologiques.

Nous avons choisi de présenter ce mémoire en quatre parties, correspondant chacune à un thème précis. Dans la première, nous ferons le point sur l'état des connaissances concernant les différentes familles de composés organiques des sols et leur mécanisme de transfert vers les eaux souterraines karstiques. Nous aborderons, tout d'abord, quelques généralités relatives aux aquifères karstiques et à la nature des composés organiques des sols. Puis, nous décrirons le devenir de ces molécules en présentant les principaux mécanismes de transfert de celles-ci vers les eaux souterraines, ainsi que la nature des composés organiques dissous.

La deuxième partie est consacrée à la présentation du site d'étude et à la caractérisation des écoulements suivis. Nous décrirons les différents contextes géologique, pédologique, climatique et enfin, hydrogéologique du secteur d'étude. Puis un état des lieux des connaissances géophysiques et l'étude des suivis hydrochimiques et hydrodynamiques du LSBB nous permettront d'approcher le mode de fonctionnement des écoulements de ce site.

Dans une troisième partie, nous montrerons le potentiel de la matière organique dissoute pour le traçage hydrogéologique et nous déterminerons les méthodes de détection les plus adaptées aux suivis du ou des traceurs.

Dans la quatrième partie, nous appliquerons les différents traceurs, que nous aurons développés précédemment, aux problématiques de la quantification des temps de séjour et de la détermination des bassins d'alimentation des systèmes karstiques. Puis, nous étudierons les mécanismes d'évolution de la matière organique dissoute dans les aquifères karstiques et nous démontrerons l'apport spécifique de ces traceurs organiques et leur complémentarité avec les traceurs naturels habituellement utilisés.

Nous terminerons par une conclusion générale, synthétisant l'ensemble des résultats obtenus et proposant des développements futurs.

CHAPITRE I : Le Karst et les matières organiques du sol

I.1 Le karst, un aquifère atypique

I.1.1 *Définition*

Le mot karst vient de la traduction du mot slovène « Kras » qui désigne une région du Nord-Est de l'Adriatique comprise entre le golf de Trieste, la vallée de la Vipava, la vallée de la Rasa et le secteur de Rečka. Cette région, composée d'un plateau calcaire, présente une morphologie particulière de vallées sèches, dépressions fermées et de manifestations spectaculaires telles que des grottes, gouffres et rivières souterraines (Figure I-1). Terme tout d'abord géomorphologique, le karst répond parfaitement à la définition classique d'un aquifère. En effet, il est constitué d'une zone d'infiltration et d'une zone noyée. Cependant, contrairement aux aquifères poreux ou fissurés classiques, l'aquifère karstique est soumis à une évolution morphologique, transformant le paysage de surface et souterrain, par des phénomènes de dissolution de l'encaissant.

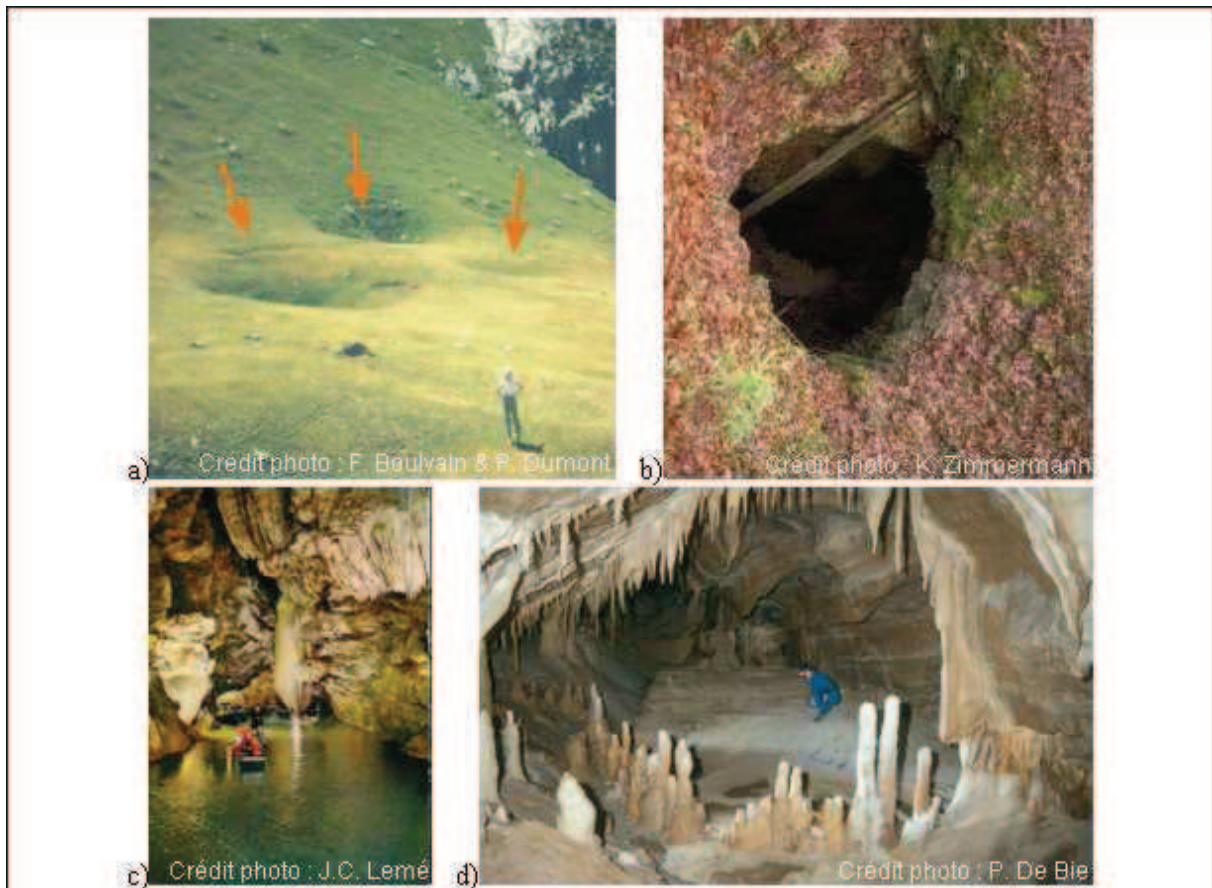


Figure I-1 : Photographies de dolines (a), d'un aven (b), d'une rivière souterraine (c) et d'une grotte (d)

I.1.2 *La place du karst dans le monde et en France*

Les eaux souterraines karstiques constituent la ressource principale pour l'alimentation en eau potable de la population mondiale [Goldscheider (2002)]. Les roches carbonatées karstifiées couvrent de 7 à 12 % de la surface des continents (Figure I-2). Environ 25 % de la population est alimentée entièrement ou en partie par les eaux souterraines karstiques [Ford & Williams (1989) ; Drew & Hotlz (1999)].

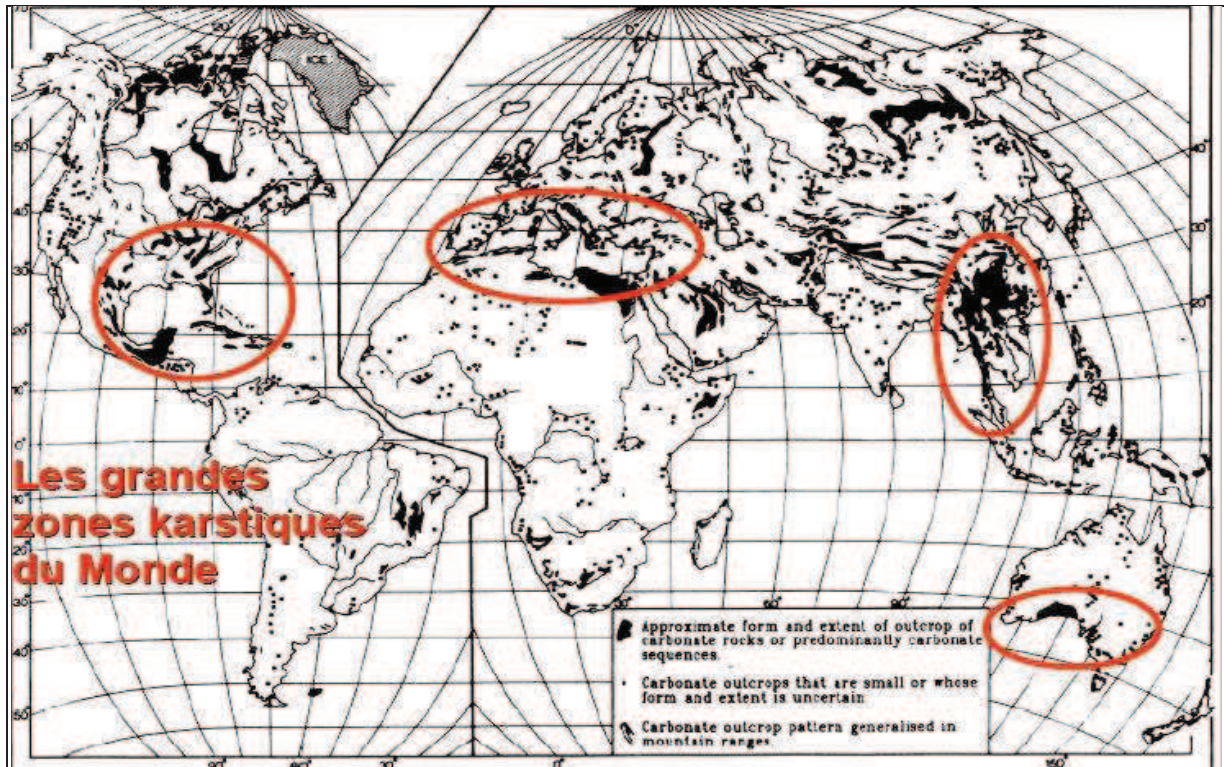


Figure I-2 : Répartition des formations karstiques dans le monde

En France, le karst représente 35 % du territoire (soit 180 000 km²). Ce type d'aquifère fournit plus de 55 % de l'eau souterraine destinée à l'eau potable (AEP). En effet, de grandes villes sont alimentées soit en partie par un aquifère karstique (c'est le cas de Paris et Rouen), soit en totalité (par exemple Montpellier, Besançon et Poitiers). De plus, le modelé karstique regroupe des sites d'exception tels que les gorges du Tarn, celles du Verdon ou encore de L'Ardèche, les Chaos de Montpellier-le-Vieux, le gouffre de Padirac, etc. ; mais aussi les principaux gisements de plomb, aluminium, zinc et baryum (surtout pour les paléokarsts). Enfin, le karst donne naissance aux plus importantes sources en terme de débits : la source du Loiret (10 m³/s) et la Fontaine de Vaucluse (23m³/s).

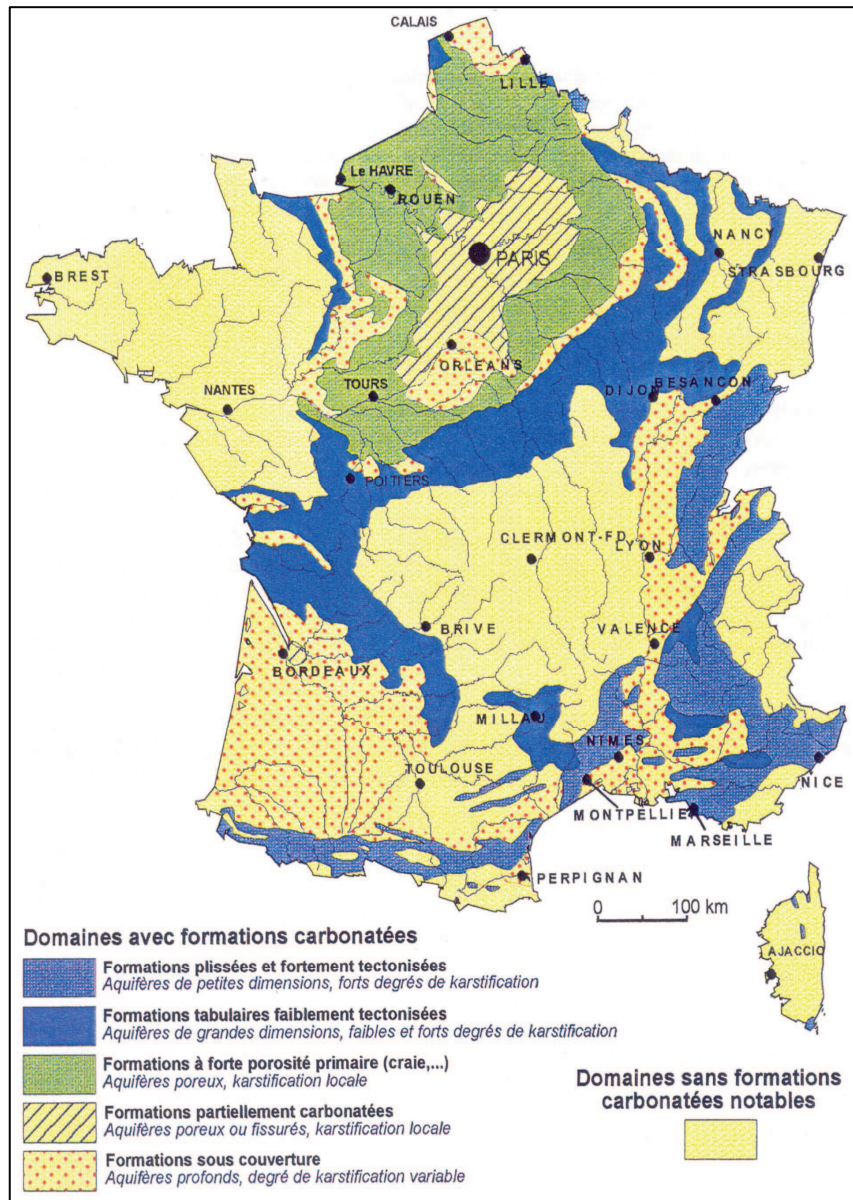


Figure I-3 : Répartition des domaines karstiques en France

I.1.3 *Propriétés structurales des roches carbonatées*

Les eaux souterraines proviennent de l'infiltration des précipitations et des eaux de surface (rivières, lacs, etc.). Leur circulation et leur stockage sont conditionnés par l'agencement géologique de l'aquifère. Ses caractères lithostratigraphiques déterminent sa géométrie, sa structure ainsi que ses propriétés hydrauliques et géochimiques.

L'aquifère remplit trois types de fonctions [Bakalowicz (1995)] :

- **Fonction capacitive ou réservoir**, par l'intermédiaire de la porosité matricielle ou de fracture selon l'aquifère, qui caractérise à la fois le stockage et la libération de l'eau souterraine ;

- **Fonction transmissive**, par l'intermédiaire de la perméabilité, qui caractérise l'écoulement de l'eau souterraine de la zone d'infiltration jusqu'à l'exutoire ;
- **Fonction d'échanges**, qui caractérise les processus physico-chimiques d'interaction entre l'eau souterraine et la roche réservoir.

La porosité et la perméabilité du réservoir, organisant la circulation des eaux souterraines, déterminent la morphologie et l'interconnexion des vides. Toutefois dans les aquifères karstiques, ces deux paramètres peuvent évoluer de par les propriétés physico-chimiques des roches carbonatées constituant le karst.

En effet, les propriétés physico-chimiques des roches carbonatées se caractérisent par :

- Une très faible solubilité à la pression partielle de CO₂ (pCO₂) atmosphérique, voisine de 15 mg/L pour le carbonate de calcium,
- Un comportement cassant (roches compétentes) caractérisant leur tendance à se fracturer plutôt qu'à se déformer de manière plastique comme les argiles (sous des conditions de températures et de pressions assez faibles),
- Deux types de porosité :
 - ◇ Une porosité primaire qui d'après Burger (1983) est assez faible (de l'ordre de 1 % dans les micrites à 15 % dans les faciès bréchiqes). La perméabilité qui lui est associée est de l'ordre de 10⁻¹⁴ m.s⁻¹ [Kiryaly (1975) ; Simeoni (1976) ; Burger (1983)].
 - ◇ Une porosité secondaire, représentée par les fractures (fissures, diaclases, failles, etc.) ne caractérise que 2 % du massif. La perméabilité qui en résulte varie de 10⁻⁶ à 10⁻⁸ m.s⁻¹ [Mangin (1998)].

Cependant, les propriétés physico-chimiques des roches carbonatées ne sont pas suffisantes pour la mise en place de vides de grande taille. Ceux-ci sont dus aux processus d'érosion physico-chimique (karstification) que subissent ces formations. Ils peuvent atteindre près de 15 % du volume du massif en question. La perméabilité tertiaire qui lui est associée varie de 10⁻¹ à 10⁻⁶ m.s⁻¹ [Kiryaly (1975)] conférant aux roches carbonatées de fortes potentialités en tant que réservoir.

I.1.4 La karstification

I.1.4.1 **Description thermodynamique du phénomène**

La karstification correspond à « l'ensemble des processus de genèse et d'évolution des formes superficielles et souterraines d'une région karstique » [Gèze (1973)]. Elle est principalement liée à la dissolution des carbonates et à une érosion mécanique. De plus, c'est un processus qui dépend essentiellement de deux paramètres : le potentiel de karstification (lié aux conditions climatiques

régissant principalement les précipitations et la végétation donc le signal d'entrée de la $p\text{CO}_2$ dans le système, à la géométrie du réservoir et à l'existence d'un gradient hydraulique) et la structure interne du massif (lithologie, fracturation et porosité).

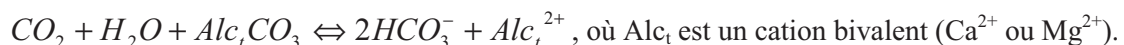
Le système karstique provient donc d'une structuration spatiale et temporelle d'un ensemble de vides creusés au détriment de discontinuités dans une masse rocheuse grâce à une dissipation d'énergie [Quinif (1998)]. Cette dernière résulte de la transformation de 3 types d'énergie primaire au niveau du système : l'énergie chimique, l'énergie potentielle et l'énergie mécanique.

- **La transformation de l'énergie chimique** est la dissolution de l'encaissant avec production de solutés (Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^- , etc.) et de matières solides (argiles, grains de dolomie, etc.). L'intensité de cette transformation dépend du potentiel chimique à l'entrée du système (concentration de CO_2 et d'autres acides).
- **La transformation de l'énergie potentielle** comprend l'évacuation des produits de l'attaque chimique (solutés et matières solides) ainsi qu'une production de chaleur par la viscosité du liquide. Deux paramètres interviennent : la différence d'altitude entre l'entrée et la sortie du système (c'est-à-dire la charge hydraulique par rapport au niveau de base) et le débit d'eau qui transite dans le système.
- **L'énergie mécanique** est la cause de la fracturation du massif, de la détente mécanique de certaines familles de fractures et la surrection du massif qui accroît l'énergie potentielle.

1.1.4.2 Principe général

Le phénomène clef de la karstification est donc la dissolution de la roche rendu possible, d'une part, par une concentration suffisante de CO_2 dissous dans l'eau au contact du calcaire. Ce dernier peut avoir différentes origines : il provient principalement de la respiration racinaire et de la dégradation de la matière organique par le biotope du sol, mais peut, dans certains cas, venir d'une circulation d'air dans le sous-sol ou d'un dégazage profond et/ou volcanique. D'autre part, la cinétique de la dissolution dépend de facteurs physiques, tels que la fracturation originelle de la roche (qui permet un transport plus rapide en profondeur d'une $p\text{CO}_2$ importante), la lithologie du calcaire (plus la roche sera riche en dolomite, plus la mise en solution sera longue [Drever (1988)]) et la structure interne de ce dernier (certaines craies peuvent posséder une forte perméabilité interstitielle, augmentant la surface de contact).

Une fois chargée en CO_2 , les eaux dites « agressives vis-à-vis du calcaire » vont être capables de dissoudre les roches carbonatées suivant une réaction triphasique, chacune de ces phases étant le siège d'une chaîne d'équilibre (Figure I-4), dont l'équation générale, représentant l'équation-bilan du système calco-carbonique [Roques (1962)], est :



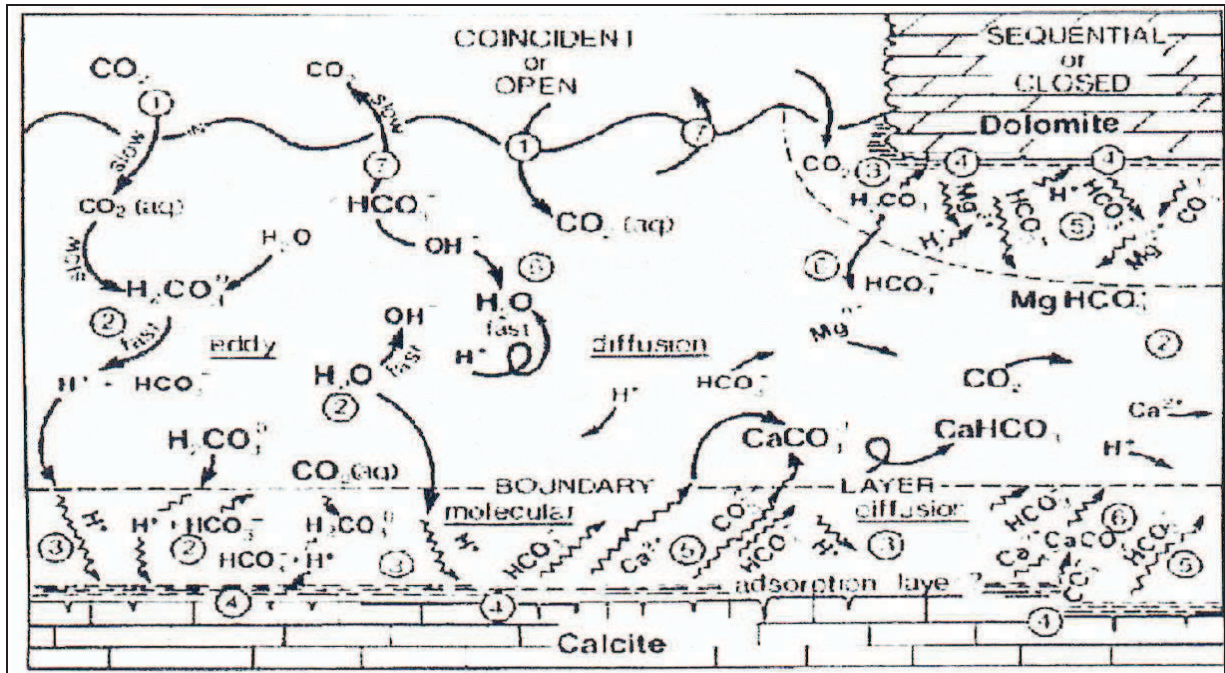


Figure I-4 : Espèces et réactions impliquées dans la dissolution de la calcite et de la dolomite [Ford & Williams (1989)]

De façon classique, la dissolution d'un solide dans un fluide se décompose en cinq étapes :

- le transport des réactifs vers la surface du solide
- l'adsorption des réactifs au niveau de la surface du solide
- les chaînes de réactions chimiques
- la désorption des produits de réaction
- le transport des produits de réaction loin de la surface du solide.

Ainsi, la circulation de l'eau au sein de l'aquifère, par l'intermédiaire d'un gradient, est définie comme une condition nécessaire et suffisante, déterminant l'existence ou non d'une karstification. Cette compétition entre la vitesse de dissolution et la dynamique des écoulements soulignent une autre particularité de la karstification : le phénomène d'auto-organisation des vides, permettant une hiérarchisation de ces derniers et l'élaboration de tout un réseau de drainage souterrain [Bakalowicz (1976)].

I.1.5 *Structure et fonctionnement d'un système karstique*

Il existe une grande variabilité des systèmes karstiques, en raison de leurs diverses structures et fonctionnements. Ainsi, la configuration des aquifères karstiques dépend principalement de la nature de l'impluvium et de l'état de karstification du massif [Marsaud (1996)]. L'organisation de ce type de systèmes se définit en trois grandes parties représentées par la zone d'alimentation, la zone d'infiltration et la zone saturée. La Figure I-5 ci-après schématise l'organisation générale d'un karst.

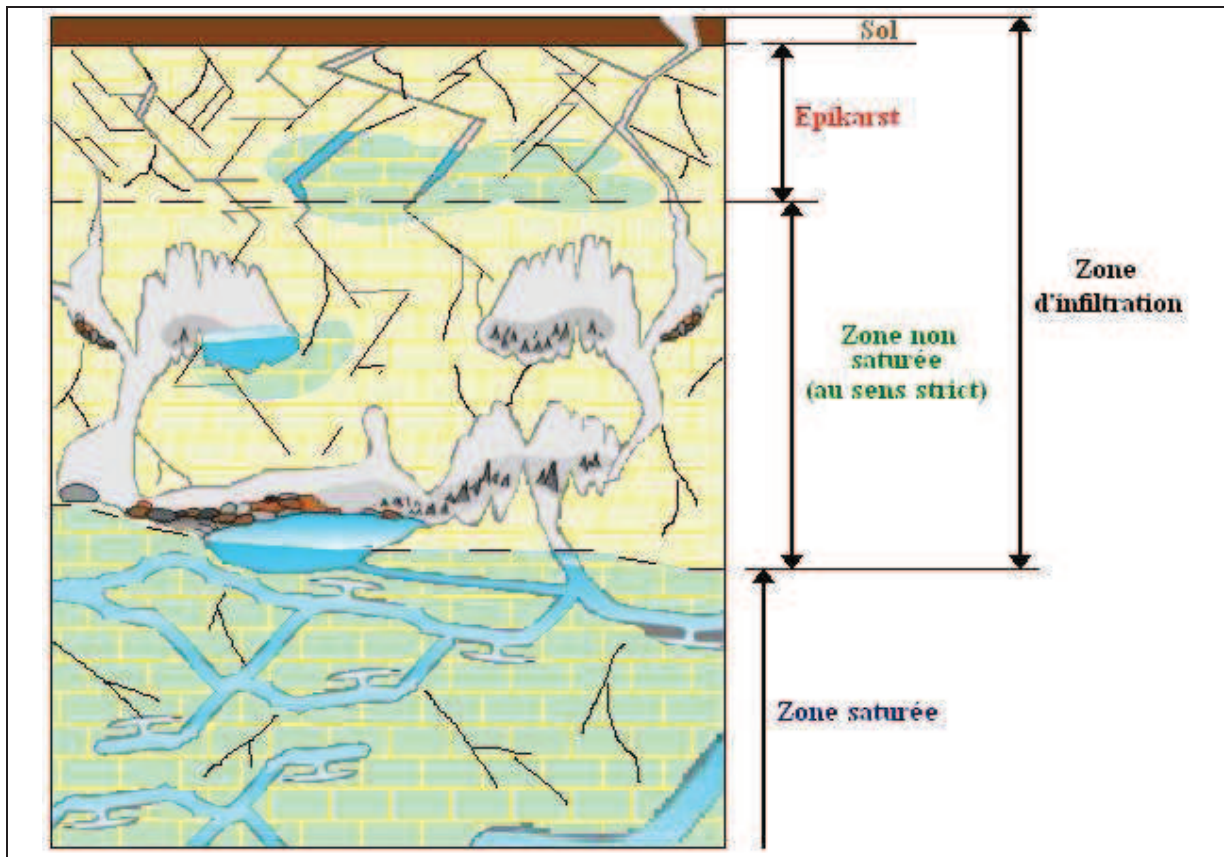


Figure I-5 : Schéma général d'un karst

- **La zone d'alimentation (impluvium):**

Selon la nature de l'impluvium, on distingue deux grands types de karst, à savoir d'une part les karsts unaires pour lesquels l'impluvium est constitué de terrains karstiques (Figure I-6a) et d'autre part les karsts binaires pour lesquels l'impluvium comprend des terrains non karstiques et imperméables qui sont le siège d'un ruissellement (Figure I-6b) ou bien de grandes structures endomorphiques telles que les poljés. Dans ce cas, les eaux de surface s'infiltrent au contact des calcaires par l'intermédiaire de pertes. L'infiltration de l'eau dans le cas d'un karst unaire est diffuse à l'échelle du massif et peut être lente ou rapide [Bakalowicz (1995)] contrairement au karst binaire dont l'impluvium non karstique entraîne la concentration des eaux d'infiltration, accélérant et augmentant le développement de la structure drainante.

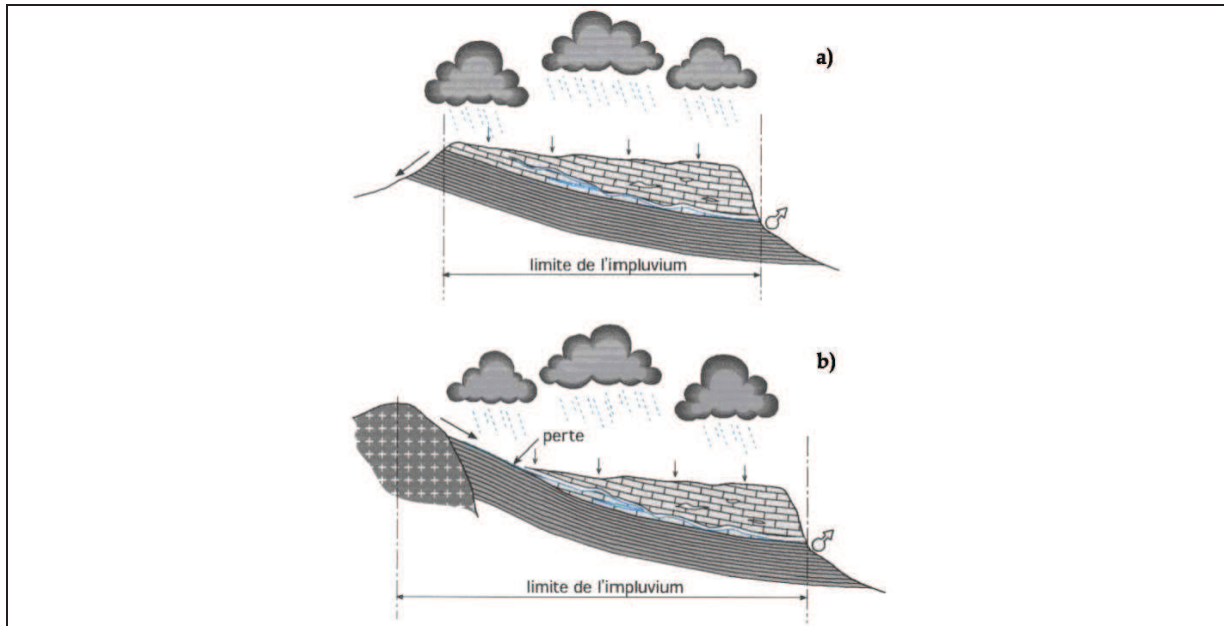


Figure I-6 : Représentation d'un système karstique unaire (a) et binaire (b) [Marsaud (1996)]

• **La zone d'infiltration :**

De nombreux modèles de zone d'infiltration d'un système karstique existent dans la littérature [Gunn (1983) ; Williams (1983) ; Kiraly *et al.* (1995) ; Klimchouk (1995) ; Trček (2007) ; Garry *et al.* (2008)]. Tous reprennent la même organisation pour décrire les écoulements :

◇ *Le sol* est considéré comme un milieu où les lois de circulation de l'eau relèvent de l'hydrodynamique des milieux poreux. Cette dernière est décrite par plusieurs équations, qui reposent sur des hypothèses simplificatrices, mais néanmoins suffisantes pour décrire avec une bonne approximation la circulation de l'eau :

1. l'équation de Hagen-Poiseuille qui relie la vitesse d'un fluide aux dimensions des pores où se produisent les écoulements,
2. l'équation de Darcy qui relie le flux de liquide qui traverse un milieu poreux saturé en eau au gradient de pression hydrostatique appliqué au milieu,
3. l'équation de Darcy-Buckingham qui est la généralisation de la précédente aux milieux non saturés en eau,
4. l'équation de Richards qui donne une description générale du transport de l'eau dans les milieux poreux non saturés en eau.

Cependant, il ne faut pas oublier l'aspect anisotropique des sols. Ainsi, quand l'espace poral est constitué de pores dont la taille est inférieure à 100 μm , l'écoulement de l'eau est laminaire et les lois de Darcy et de Darcy-Buckingham s'appliquent. En présence de macropores, d'autres descriptions doivent être utilisées [Chen & Wagenet (1992)]. D'autre part, la présence de strates, ayant chacune des propriétés hydrauliques différentes, complique la description de l'infiltration [Baver *et al.* (1972)].

De façon simplifiée, l'eau apportée sur le sol peut s'accumuler à la surface, ruisseler ou s'infiltrer. Elle peut ensuite, soit s'écouler vers les eaux souterraines ou les eaux de surface, soit passer dans l'atmosphère par évaporation et évapotranspiration (Figure I-7). Bien que souvent peu épais, cet horizon joue un rôle crucial dans le transfert des solutés (adsorption-désorption), l'enrichissement en CO₂ dissous et la composition minérale (dans une moindre mesure) et surtout organique de l'eau dans le système (cf. I.3).

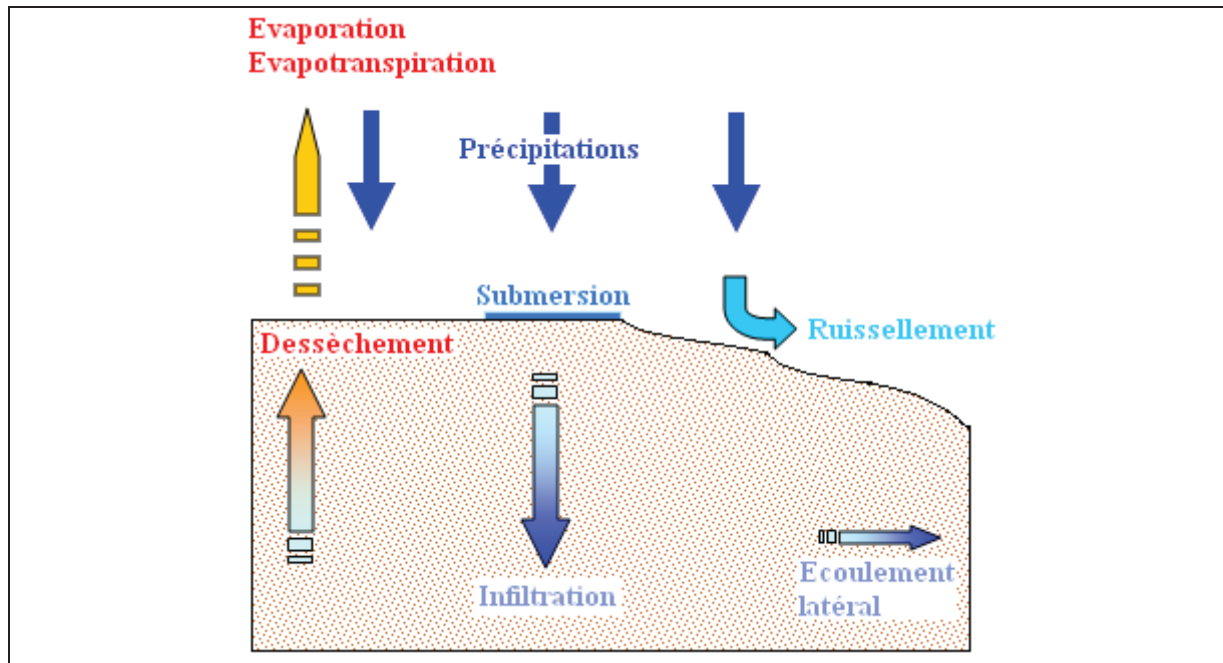


Figure I-7 : Les transferts de l'eau dans le sol

◇ *L'épikarst* correspond à la zone superficielle très perméable du massif karstique (5 à 20 m maximum). Cette zone est caractérisée par une pression lithostatique négligeable facilitant ainsi l'ouverture de diaclases qui par la suite s'élargissent du fait d'une dissolution très intense au niveau des racines entraînant un contraste de perméabilité entre cette zone et la Zone Non Saturée au sens strict. De ce fait, cette zone, caractérisant l'interface sol-calcaire, peut constituer une zone de réserves importantes des eaux d'infiltration et joue ainsi le rôle d'un aquifère plus ou moins temporaire : le réservoir épikarstique.

Du fait de la proximité du sol, l'épikarst subit les influences des processus biogéochimiques [Bakalowicz (1995) ; Blavoux & Mudry (1986)]. Cet aquifère va donc jouer un rôle très important sur le chimisme de l'eau par l'intermédiaire de trois mécanismes :

1. Mise en solution du CO₂ présent dans la pédosphère
2. Evapotranspiration entraînant une reconcentration des éléments plus ou moins importante (notamment en ions chlorure et sodium) selon les temps de séjour
3. Mise en solution des matières organiques solubles du sol

L'une des particularités du réservoir épikarstique est de jouer un rôle tampon puisqu'il participe au stockage des premières pluies, après une saison sèche. La répartition des vitesses de transit et d'infiltration de l'eau dans cette zone va conditionner l'organisation des écoulements dans le massif.

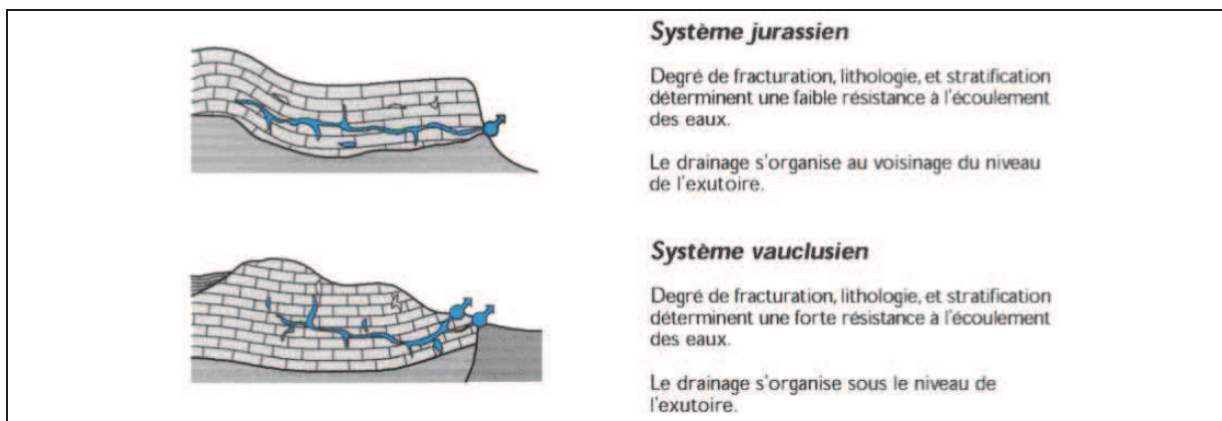
◇ *La Zone Non Saturée* sous-jacente au réservoir épikarstique et caractérisant la zone d'infiltration proprement dite, se distingue par une bimodalité des infiltrations :

1. Infiltration lente et diffuse qui s'effectue dans des vides de petite taille avec de fortes pertes de charge. Des études isotopiques ont été menées afin d'estimer des vitesses de circulation d'eau dans ces conditions, et Bakalowicz (1982) montre dans un cas précis une distance parcourue de 10 mètres en plusieurs mois. Toutefois, ces vitesses peuvent être plus rapides comme plus lentes chaque système étant unique.
2. Infiltration rapide qui s'effectue dans les grandes discontinuités verticales ou sub-verticales ouvertes. Cet écoulement est assimilable à un ruissellement souterrain vertical permettant ainsi aux eaux de garder leur pouvoir de dissolution car elles transitent jusqu'à la Zone Noyée rapidement.

Cette zone peut atteindre une épaisseur considérable et jouer un rôle important dans la dynamique et le soutien à l'étiage de certains karsts [Puig (1987) ; Lastennet (1994) ; Emblanch *et al.* (2003) ; Batiot (2002) ; Garry (2007)].

- **La Zone Noyée :**

Le karst noyé constitue la principale réserve en eau de l'aquifère karstique et assure la fonction de stockage de l'eau. Il est constitué d'un réseau de drains ou axes de drainages (composant l'ossature du système) organisés et interdépendants qui assure la fonction transmissive de l'aquifère, autour duquel s'organisent des réserves où l'écoulement est lent et assure la fonction capacitive. Ces drains peuvent se développer soit dans la partie supérieure du karst noyé (karst jurassien) soit dans sa partie inférieure, sous le niveau de l'exutoire (karst vaclusien).



Organisation du drainage en système vaclusien et jurassien [Marsaud (1996)]

I.1.6 Vulnérabilité de la ressource

La circulation des eaux souterraines peut être très rapide entre la zone de recharge et l'exutoire. En cas d'une utilisation de la ressource pour l'Approvisionnement en Eau Potable (AEP), la plupart des expériences de traçages artificiels depuis une perte d'un cours d'eau ou une cavité indiquent des temps moyens de séjour inférieurs aux 40 jours de référence de la réglementation pour l'établissement des périmètres de protection [Collectif (2006)]. La forte perméabilité en grand des terrains karstiques se traduit souvent par des pertes partielles ou totales des cours d'eau qui les traversent, ce qui rend les aquifères karstiques extrêmement vulnérables à une pollution chronique ou accidentelle en surface. En cas d'exploitation AEP, cette forte vulnérabilité justifie l'installation de système d'alerte de pollution en amont des zones de pertes de rivière, à l'image du captage AEP de la ville d'Orléans entre les pertes de la Loire et les résurgences du Loiret où un dispositif permettant l'arrêt des pompages a été mis en place. Le réseau d'adduction doit, dans ce cas, avoir assez d'autonomie pour subvenir aux besoins AEP tant que le critère de qualité définit pour l'eau de rivière n'est pas atteint. D'autres solutions peuvent être envisagées, comme les dispositifs réversibles de limitation des pertes du Doubs (Franche Comté) qui devraient permettre de réduire l'effet de "court-circuit" résultant des circulations karstiques entre le cours d'eau et la source de la Loue [Bakalowicz (1999)].

La vulnérabilité vis-à-vis d'une pollution accidentelle peut cependant être relativisée compte tenu de l'élimination rapide du polluant dès qu'il atteint le réseau de conduits, ou bien de sa forte dilution/dispersion si la pollution se produit loin du réseau [Collectif (2006)]. Il est néanmoins indispensable pour ce genre de système d'utiliser, voire même de créer, des méthodes de traçage simples, nous permettant d'approcher de courts temps de résidence, lorsque le traçage artificiel est inefficace ou interdit.

I.2 Le sol et ses constituants organiques

I.2.1 *La place du sol dans le cycle global du carbone organique*

Le cycle du carbone organique est illustré par la Figure I-8. Dans ce cycle, le carbone organique du sol représente le plus grand réservoir en interaction avec l'atmosphère et est estimé entre 1500 et 2000 Gt pour les horizons compris entre 0 et 1 m de profondeur et 2500 gigatonnes (Gt) à 2 m de profondeur [Robert (2002)]. Comparativement, la végétation (600 Gt) et l'atmosphère (760 Gt) emmagasinent considérablement moins que les sols. Les flux entre le carbone organique des sols et l'atmosphère sont importants et peuvent être positifs (séquestration) ou négatifs (émission de CO₂). Les principaux facteurs jouant sur l'évolution de la matière organique, et donc sur sa concentration, concernent la végétation (apport de résidus, composition des plantes), puis les facteurs climatiques (température/conditions d'humidité) et les propriétés des sols (texture, teneur en argile, minéralogie, acidité).

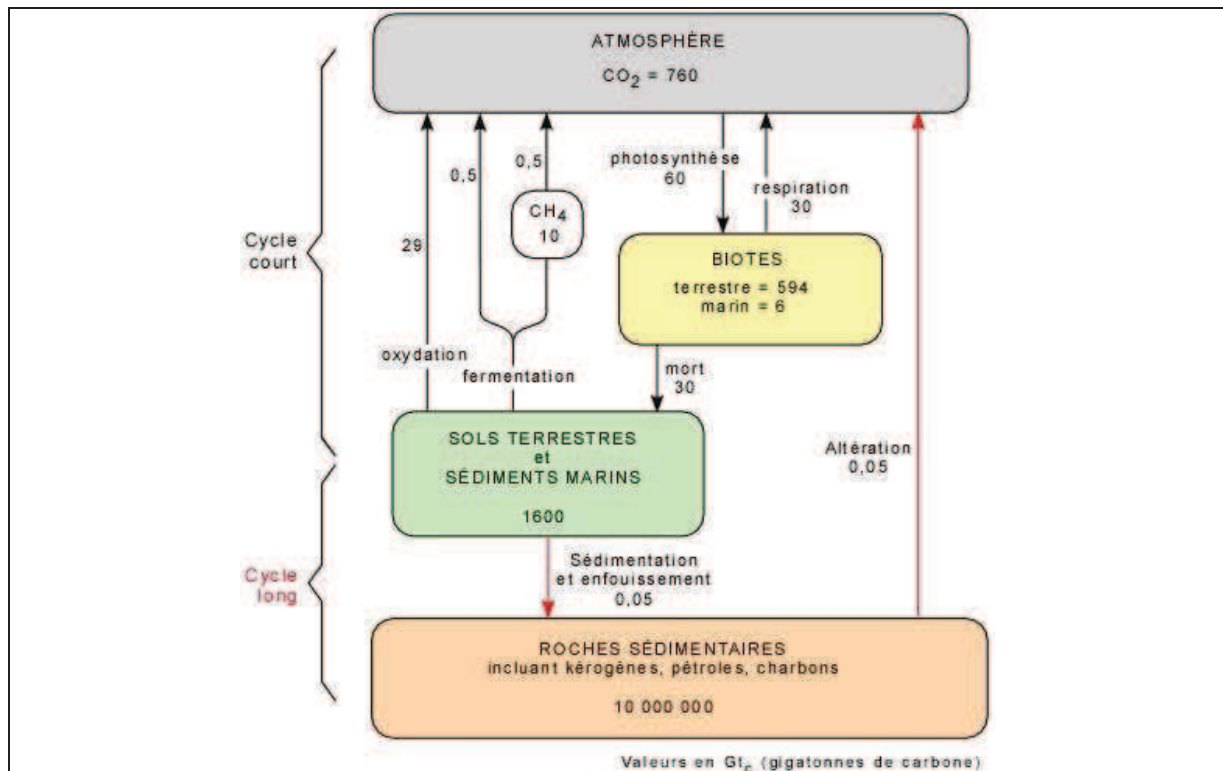


Figure I-8 : Le cycle du carbone organique [Kump *et al.* (1999)]

Ainsi, il existe une grande variabilité de concentration en carbone organique selon le type de sol et la profondeur [Batjes (1996)]. Les valeurs vont de 2 kg/m² pour les Xerosols ou les Arenosols à plus de 10 kg/m² pour les Podzols, les Andosols ou les Rendzines (Tableau I-1).

Unité de sols		Teneur moyenne en C: kg/m ²		
FAO-UNESCO	WRB	0 – 30 cm	0 – 100 cm	0 – 200 cm
Podzols	Podzols	13,6	24,2	59,1
Rendzinas	Leptosols	13,3	-	-
Lithosols		3,6	-	-
Chernozems	Chernozems	6,0	12,5	19,6
Nitosols	Nitosols	4,1	8,4	11,3
Xerosols	Calcisols/Cambisols	2,0	4,8	8,7
Yermosols	Calcisols/Gypsisols	1,3	3,0	6,6
Ferralsols	Ferralsols	5,7	10,7	16,9
Vertisols	Vertisols	4,5	11,1	19,1
Andosols	Andosols	11,4	25,4	31,0

Tableau I-1 : Teneur moyenne en carbone organique pour quelques types de sol [Batjes (1996)]

Le stock de carbone organique présent dans les sols naturels présente un équilibre dynamique entre les apports de débris végétaux et la perte due à leur décomposition (minéralisation). Dans les conditions normales d'aérobic des sols, la majorité du carbone apporté est labile et seulement une petite fraction de ce qui entre dans le sol (55 Gt/an) s'accumule dans la fraction stable (0.4 Gt/an) [Balesdent *et al.* (2000)].

1.2.2 *Le sol, un milieu triphasique*

Les sols sont des milieux poreux. Ils sont constitués de trois phases, solide, liquide et gazeuse, dont les proportions varient en fonction, notamment, de l'état hydrique des sols et des contraintes mécaniques qu'ils subissent.

- **La phase solide** est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. La phase solide est le principal réservoir de carbone organique. Ces matières organiques proviennent principalement des résidus végétaux qui subissent diverses transformations physiques et chimiques, leur abondance dépendant du climat, de la végétation et des modalités de leur utilisation.
- **La phase liquide** est une solution dont la composition est complexe et très variable. Elle contient de très nombreuses substances dissoutes organiques et inorganiques, ionisées et non ionisées, dont la concentration et la nature dépendent de plusieurs phénomènes. Certains entraînent une augmentation des concentrations et sont appelés des phénomènes sources, tels que la dissolution et la désorption ; d'autres, au contraire, entraînent une diminution des concentrations et sont appelés phénomènes puits, tels que la précipitation et l'adsorption.
- **La phase gazeuse** possède une composition souvent voisine de celle de l'air mais elle peut être très variable dans l'espace et le temps. Elle dépend principalement de deux facteurs, la proximité de l'atmosphère (c'est-à-dire la profondeur dans le sol) et l'activité biologique [Sposito (1989)]. Ainsi, la quantité de CO₂ dans l'atmosphère du sol peut varier de 3 à 30 mL/L_{sol}, et même atteindre près de 100

mL/L_{sol} en profondeur, au voisinage des racines et en milieu saturé en eau (type tourbière). L'air du sol contient également des substances telles que NO, N₂O, NH₃, CH₄, H₂S et parfois des composés organiques volatils, dont les concentrations dépendent beaucoup de facteurs environnementaux et anthropiques.

Ces trois phases sont en interaction permanente par des échanges de matière et d'énergie dus à plusieurs phénomènes physiques, chimiques et biologiques.

I.2.3 Nature des constituants organiques moléculaires ou supramoléculaires du sol

I.2.3.1 Définitions

Il existe plusieurs catégories de constituants organiques [Oades (1988) ; MacCarthy *et al.* (1990) ; Stevenson (1994) ; Baldock & Nelson (2000)] ; elles sont indiquées dans la Figure I-9. Leur distinction repose, tout d'abord, sur le caractère vivant ou non des constituants.

- **Les constituants vivants** sont :

- ◇ *Les tissus végétaux*, principalement les tissus vivants des plantes mais certains auteurs incluent également dans cette catégorie les tissus des végétaux morts restant debout à la surface du sol (arbres morts encore dressés).
- ◇ *Les animaux du sol* comprenant la microfaune, la mésofaune et la macrofaune.
- ◇ *La biomasse microbienne* qui correspond, quant à elle, à la microflore vivante du sol, c'est-à-dire les bactéries, les champignons, les actinomycètes et les algues.

- **Les constituants non vivants** :

Ils se répartissent en deux catégories d'importance très inégale selon leur stabilité dans les sols. L'une, dont la masse est la plus grande, comprend des constituants susceptibles de subir des transformations et d'être dégradés plus ou moins rapidement. Dans l'autre, dont la masse est très souvent négligeable dans les sols, on trouve des constituants inertes (charbon de bois, graphite) qui n'évoluent pas.

Une deuxième distinction est faite pour la première catégorie. Elle repose sur l'existence, d'une part, de structures cellulaires reconnaissables et d'autre part, de molécules individualisées :

- ◇ *Les matières organiques particulières* se présentent sous forme de particules plus ou moins grandes et sont des fragments de tissus dans lesquels des structures cellulaires sont reconnaissables.
- ◇ *Les matières organiques moléculaires* se composent de molécules de tailles très diverses plus ou moins associées entre elles et produites par les transformations chimiques des constituants tissulaires. On distingue dans cette sous-catégorie les substances non humiques (ensemble de molécules de petite taille et appartenant à des familles chimiques identifiées, provenant soit de la dégradation de constituants cellulaires, soit de synthèses microbiennes) et les substances humiques (macromolécules acides à structures complexes).

Nous allons donc, par la suite, nous intéresser à la fraction moléculaire des constituants organiques morts, afin d'en préciser la composition chimique générale.

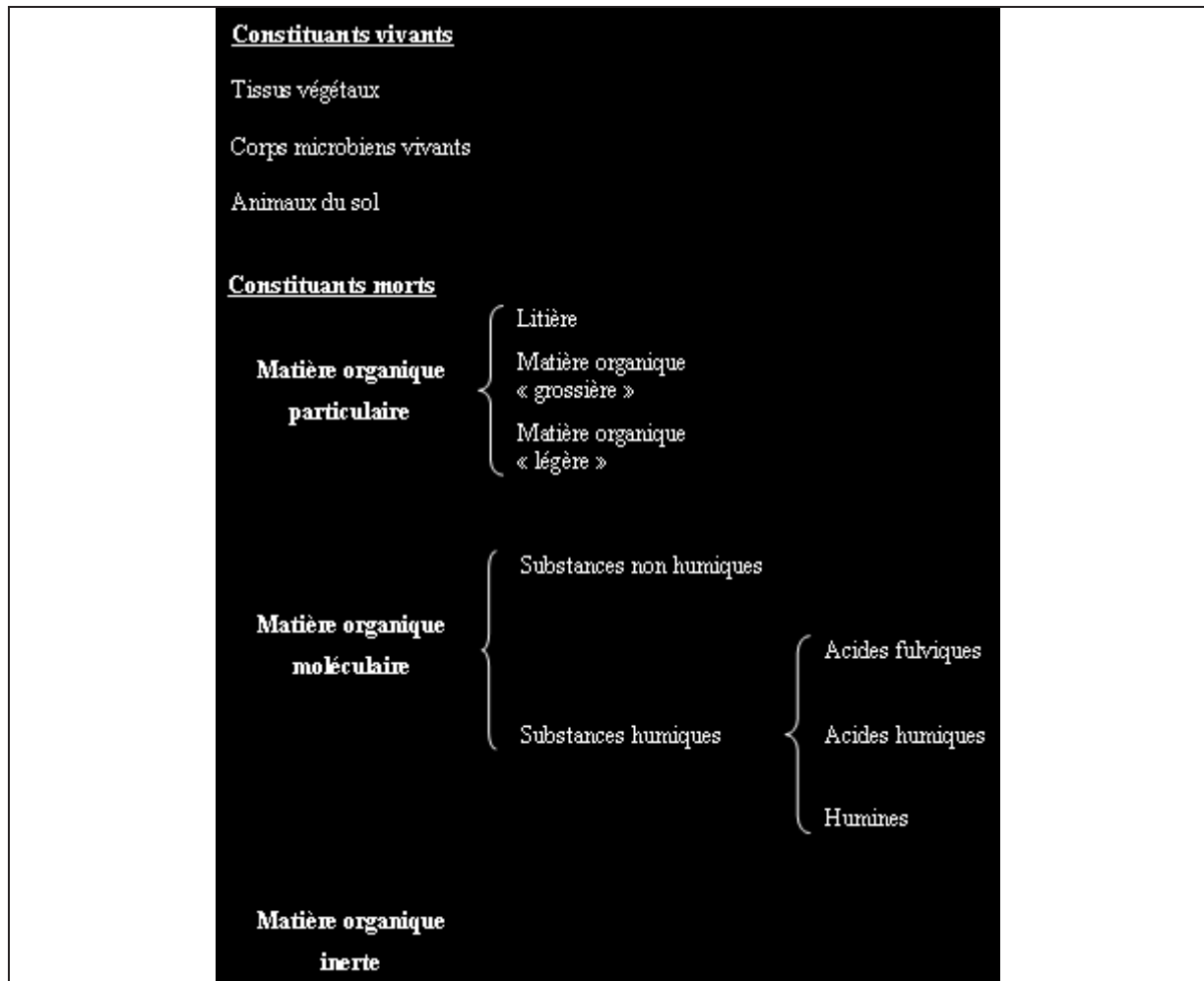


Figure I-9 : Les constituants organiques des sols [Calvet (2003)]

1.2.3.2 Les substances non humiques

Les sols contiennent une grande variété de composés organiques qui existent à l'état libre pour une petite partie et pour la plus grande partie, à l'état soit associé aux colloïdes humiques et minéraux, soit comme constituants des substances humiques. Il en existe trois groupes : les composés azotés, les hydrates de carbone et les lipides.

1.2.3.2.1 Les composés azotés

Ce sont les acides aminés, les sucres aminés, les acides nucléiques et un certain nombre de pigments et leur dégradation. Les deux premiers groupes sont quantitativement les plus importants.

- **Acides aminés**

Ce sont des molécules qui possèdent au moins une fonction carboxylique et une fonction aminée. Leurs principales formules sont données dans la Figure I-10. Les acides aminés les plus abondants dans le sol sont ceux des parois cellulaires des micro-organismes, notamment la glycine,

l'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique. Les substances humiques contiennent les mêmes acides aminés. Plusieurs facteurs ont une influence sur leur quantité et leur distribution dans les sols : les réactions de synthèse et de dégradation, les organismes vivants, l'adsorption et des réactions chimiques avec les quinones et les sucres.

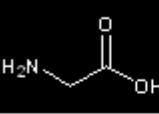
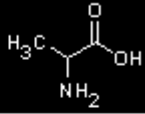
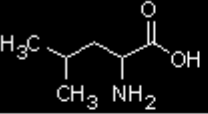
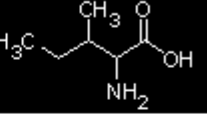
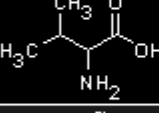
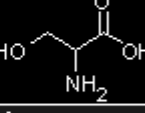
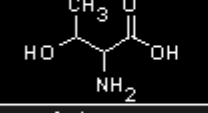
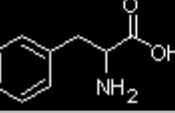
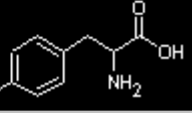
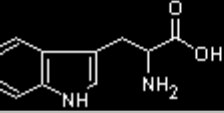
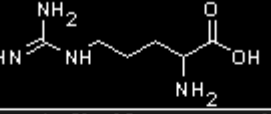
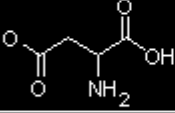
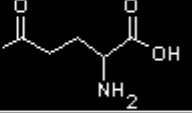
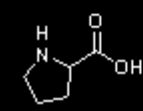
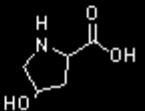
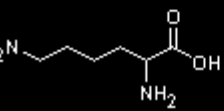
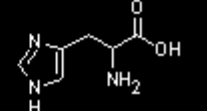
Composés monoacides monoaminés			
Glycine 	Alanine 	Leucine 	Isoleucine 
Valine 	Sérine 	Thréonine 	
Composés aromatiques monoacides monoaminés			
Phénylalanine 	Tyrosine 	Tryptophane 	
Composé monoacide diaminé			
Arginine 			
Composés diacides monoaminés			
Acide aspartique 	Acide glutamique 		
Autres composés			
Proline 	Hydroxy-proline 	Lysine 	Histidine 

Figure I-10 : Formule chimique des principaux acides aminés [Calvet (2003)]

- **Les sucres aminés :**

Ce sont des mucopolysaccharides que l'on trouve dans le sol, combinés, entre autre, avec des mucopeptides et des mucoprotéines. Certains sont des polysaccharides insolubles en milieu alcalin et sont désignés par le mot « chitines ». 5 à 10 % de l'azote des couches de surface du sol est sous forme de sucres aminés [Stevenson (1994)]. Leur structure est de type noyau pyrane où un radical hydroxyle est remplacé par une fonction amine. Les deux composés les plus abondants sont la D-glucosamine et la D-galactosamine (Figure I-11).

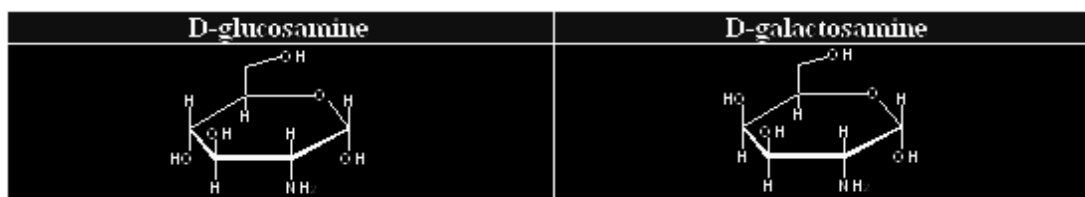


Figure I-11 : Structure des sucres aminés les plus abondants [Calvet (2003)]

I.2.3.2.2 Les hydrates de carbone

Les hydrates de carbone sont des composés très répandus dans le monde vivant où ils sont des constituants fondamentaux des structures cellulaires et où ils jouent un rôle important dans leur métabolisme. Ils représentent 5 à 25 % de la matière organique du sol et proviennent des résidus des végétaux et des synthèses microbiennes qui sont leur principale source [Stevenson (1994)]. Ils tirent leur nom de leur formule chimique générale $C_n(H_2O)_m$ et se répartissent en plusieurs catégories : les monosaccharides (hexoses, pentoses), les disaccharides (sucrose, cellobiose), les oligosaccharides (celotriose) et les polysaccharides (cellulose, hemicellulose). Les formules les plus simples sont présentées dans la Figure I-12. Les polysaccharides sont des polymères d'hydrates de carbone simples, par exemple la cellulose est un polymère du glucose. On peut ainsi imaginer le nombre d'assemblages possibles (plus de 200 ont été identifiés [Greenland & Oades (1975)]).

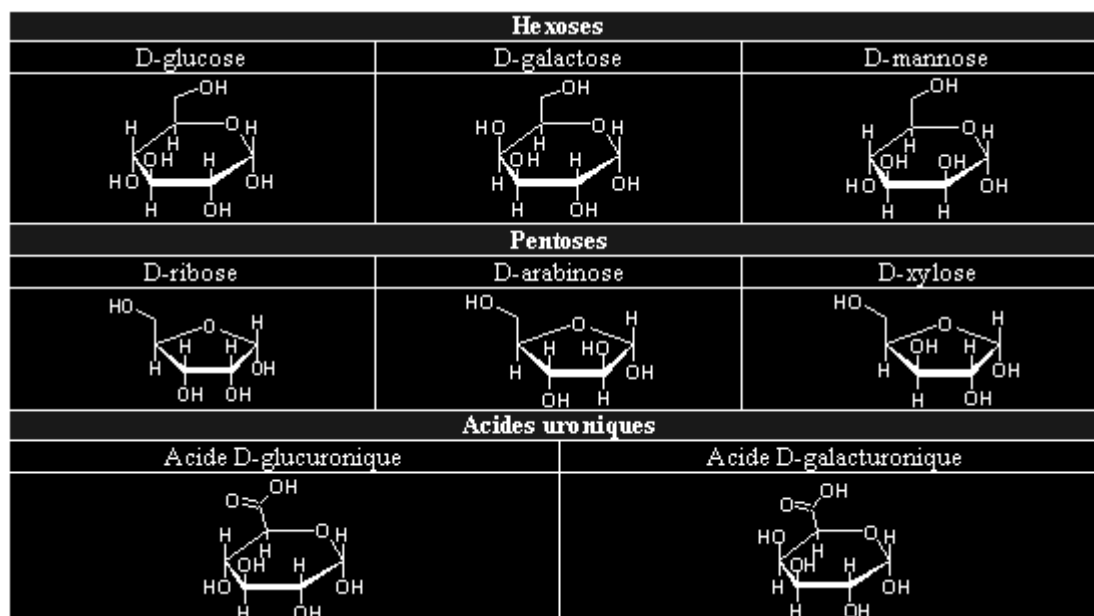


Figure I-12 : Principaux hydrates de carbone simples [Calvet (2003)]

I.2.3.2.3 Les lipides

Comparés aux composés azotés et aux hydrates de carbone, ils ne représentent pas une famille chimique particulière mais sont constitués par un ensemble de composés organiques dont le caractère commun est d'être soluble dans différents solvants organiques. Leur nature chimique est variée, simples composés comme les acides gras ou molécules complexes comme les stérols, les terpènes ou encore des substances telles que les corps gras, les cires et les résines. On les trouve dans tous les sols,

où ils représentent 2 à 6 % de la matière organique, provenant des résidus de plantes et des micro-organismes. Les principaux constituants des lipides sont :

- **Les cires** : il s'agit d'esters d'acides gras et d'alcools à longue chaîne. Ces composés sont saturés et comportent un nombre d'atomes de carbone de 12 à 34, les nombres pairs étant les plus fréquents.
- **Les acides organiques** : acides gras jusqu'à 32 atomes de carbone (Figure I-13). Ils sont souvent associés aux acides fulvico-humiques, auxquels ils seraient liés chimiquement [Schnitzer & Neyroud (1975)].
- **Les hydrocarbures** : les composés aliphatiques peuvent être d'origine microbienne ou provenir des végétaux. Les composés polycycliques aromatiques ont une origine anthropique.²
- **Autres composés** : la fraction lipidique des sols contient divers autres composés, glycérides, stéroïdes, terpénoïdes, caroténoïdes, porphyrines, alcools aliphatiques, cétones, esters, etc..

Acide triacosanoïque $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{21}\text{COOH}$	Acide pentacosanoïque $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{23}\text{COOH}$
Acide lignocérique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	Acide cérotique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$
Acide α -hydroxystéarique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CHOHCOOH}$	Acide dihydroxystéarique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CHOH-CHOH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

Figure I-13 : Exemples d'acides gras identifiés dans les sols [Stevenson (1994)]

I.2.3.3 Les substances humiques

I.2.3.3.1 Définitions

Les substances humiques sont probablement les constituants du sol les moins bien connus malgré le très grand nombre de travaux qui leur ont été et sont consacrés [Schnitzer & Khan (1975) ; Flaig *et al.* (1975) ; Stevenson (1994) ; Schnitzer (2000) ; Hayes & Clapp (2001)]. Il existe un continuum de composition entre les trois pôles des substances humiques (acides fulviques, acides humiques et humines) qui ne sont en fait distingués que par un mode d'extraction [Hatcher *et al.* (1981)]. Notamment, la différence entre les acides fulviques et humiques reste très difficile à déterminer : les premiers étant réputés plus mobiles, plus faibles en poids moléculaire et moins « polymérisés » que les seconds.

De leur côté, les humines sont des constituants encore peu connus mais importants puisqu'ils représentent souvent plus de 50 % des matières organiques du sol [Kononova (1966) ; Stevenson (1982)]. Il n'y a pas encore de consensus sur leur nature chimique et diverses conceptions ont été avancées [Rice (2001)] ; selon différents auteurs, les humines seraient :

- ◇ des acides humiques liés aux minéraux
- ◇ des polymères ligno-protéiniques de masse moléculaire élevée
- ◇ de la mélanine et des résidus fongiques à des stades variés de dégradation
- ◇ constitués par des polysaccharides complexes.

1.2.3.3.2 Composition et structures

La composition des substances humiques est donnée par les teneurs en éléments chimiques et en groupes fonctionnels. La Figure I-14 donne les groupes fonctionnels les plus importants. Leur abondance n'est connue que de manière approximative car il n'existe pas de méthodes d'extraction, de fractionnement et de purification standardisées.

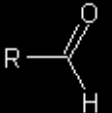

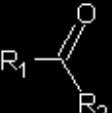
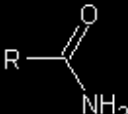
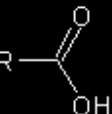
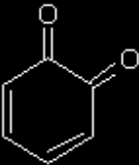


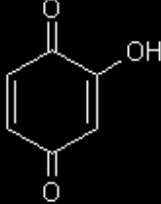
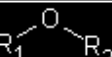
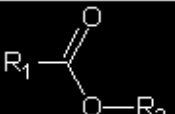
Groupes azotés		Groupes oxygénés aliphatiques		Groupes oxygénés aromatiques	
$R-NH_2$	amine primaire		aldéhydes		quinone
$R=NH$	imine		cétone		
	amide		acide		quinone
			alcool		
			énol		hydroxyquinone
			éther		
			ester		

Figure I-14 : Principaux groupes fonctionnels des substances humiques [Calvet (2003)]

Il existe deux approches pour traiter le problème de la structure des substances humiques. La première consiste à élaborer des structures moléculaires destinées à décrire les propriétés des substances humiques. De nombreux modèles de structure ont été proposés [Kononova (1966) ; Stevenson (1994) ; Leenheer (1989) ; Schulten & Schnitzer (1997)]. Ces modèles, qui diffèrent par la distribution des groupes fonctionnels et leur arrangement, permettent de rendre compte de quelques propriétés. Cependant, il n'existe pas d'argument permettant de dire que ces modèles représentent correctement les substances humiques [Burdon (2001)]. On peut tout de même améliorer la perception que l'on a de ces composés en adoptant ce que MacCarthy (2001) appelle « principes des substances humiques ». On en tire donc quatre caractéristiques fondamentales qui doivent être pris en compte pour la conception que l'on peut se faire des substances humiques : il est vraisemblablement impossible de trouver deux molécules de substance humique exactement identiques [Dubach & Mehra (1963)] ; il n'existe pas de régularité dans la structure moléculaire des substances humiques [Stevenson (1982)] ; les substances humiques sont probablement formées de manière chaotique [Swaby & Ladd (1962)] et le caractère très hétérogène des substances humiques lié à l'existence de

réseaux moléculaires complexes enchevêtrés avec de nombreuses liaisons covalentes variées explique leur résistance à la biodégradation.

La seconde approche, plus globale, a récemment été exposée et discutée par Piccolo (2001) et semble aujourd'hui la plus satisfaisante au regard de la communauté scientifique. Les substances humiques seraient des associations de polymères polydispersés, c'est-à-dire de tailles variées, formées par l'association de molécules relativement petites faisant intervenir des liaisons de Van der Waals, des liaisons $\pi - \pi$, $CH - \pi$ et des liaisons hydrogène.

I.3 Le carbone organique dissous dans l'hydrosystème karstique

I.3.1 *Définitions et répartition des matières organiques dans les eaux naturelles*

I.3.1.1 Fractions granulométriques du Carbone Organique Total (COT)

A partir de ce paragraphe et dans le reste du mémoire, nous appellerons carbone organique total (COT) la concentration de l'ensemble du carbone organique présent dans la phase aqueuse des systèmes hydrogéologiques. La séparation entre le carbone organique particulaire (COP) et le carbone organique dissous (COD) est fondée de façon arbitraire sur la taille des composés organiques (Figure I-15). En effet, on appelle COD, l'ensemble des molécules organiques, dont la taille est inférieure à $0.45 \mu\text{m}$; et COP l'ensemble des composés organiques, dont la taille est supérieure à $0.45 \mu\text{m}$. Certaines disciplines différencient le COD en deux sous-catégories : la phase colloïdale (supérieure à $0.2 \mu\text{m}$) et la phase dissoute au sens strict (inférieure à $0.2 \mu\text{m}$).

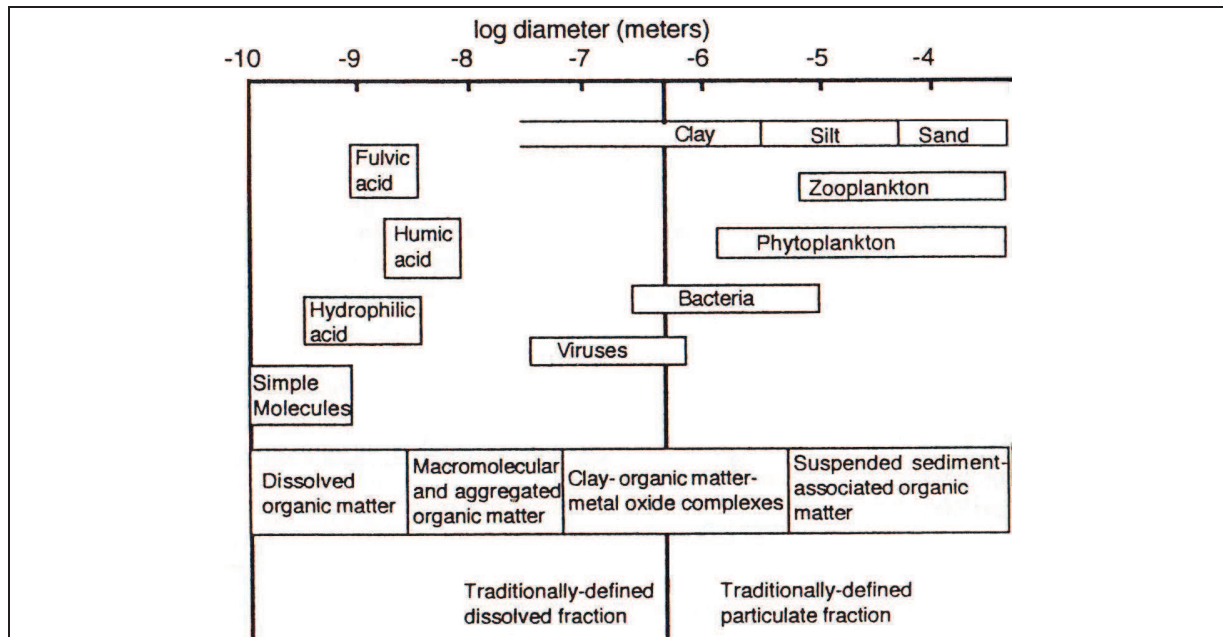


Figure I-15 : Continuité granulométrique des MO dans les eaux souterraines [Thurman (1985)]

Pour notre étude, nous avons choisi de nous intéresser aux fractions dissoutes au sens général du terme, englobant les colloïdes et le dissous au sens strict. Nous appellerons donc cet ensemble « COD ».

I.3.1.2 Concentrations des différentes fractions du COT dans les eaux naturelles

Les teneurs en COT dans l'eau de mer, les eaux souterraines et les précipitations sont très faibles (de 0.5 à 1.1 mg/L). D'autre part, le COP ne représente qu'une part négligeable du COT. On pourra donc assimiler le COT au COD pour les eaux souterraines [Thurman (1985)]. Dans les lacs, les rivières, les marais et les solutions de sols, ces concentrations sont plus élevées (de 2 à plus de 30

mg/L). Le COP représente alors une fraction non négligeable du COT (Figure I-16). Une partie du COP peut être adsorbée sur des particules en suspension dans l'eau et sa teneur varie en fonction des saisons et des conditions hydrodynamiques [Albéric & Lepiller (1998) ; Barth *et al.* (1998)].

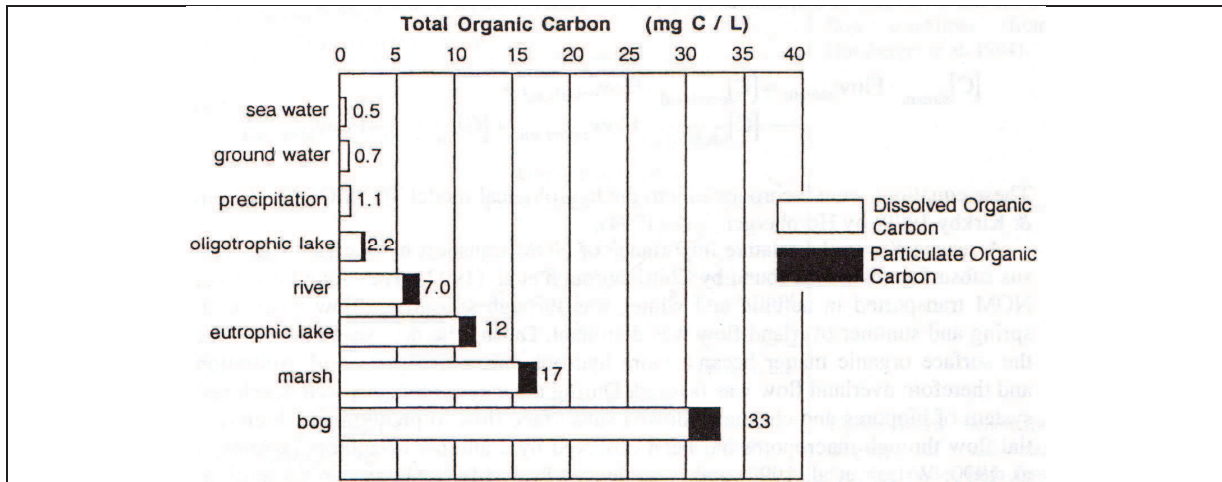


Figure I-16 : Concentrations moyennes en COD et COP dans les eaux naturelles [Thurman (1985)]

Dans les eaux interstitielles du sol, les teneurs en COD varient de 2 à 30 mg/L de façon inversement proportionnelle à la profondeur (Figure I-17). En effet, le COD diminue depuis l'horizon A0 du sol (riche en matières organiques) jusqu'à l'horizon rocheux C. Ainsi, à sa sortie des horizons de sol, les eaux ne contiennent plus qu'une quantité faible de matières organiques qui n'évolue quasiment plus jusqu'à l'exutoire, dans le cas d'un réservoir dépourvu de sédiments carbonés. Ceci démontre le rôle fondamental des sols dans le transfert des substances organiques dans les eaux souterraines. En effet, cet horizon, malgré sa faible épaisseur par rapport aux autres, concentre la plus part des réactions physico-chimiques responsables de la perte (minéralisation, adsorption, etc.) ou de l'apport (dissolution, désorption, etc.) en carbone organique dans les eaux souterraines.

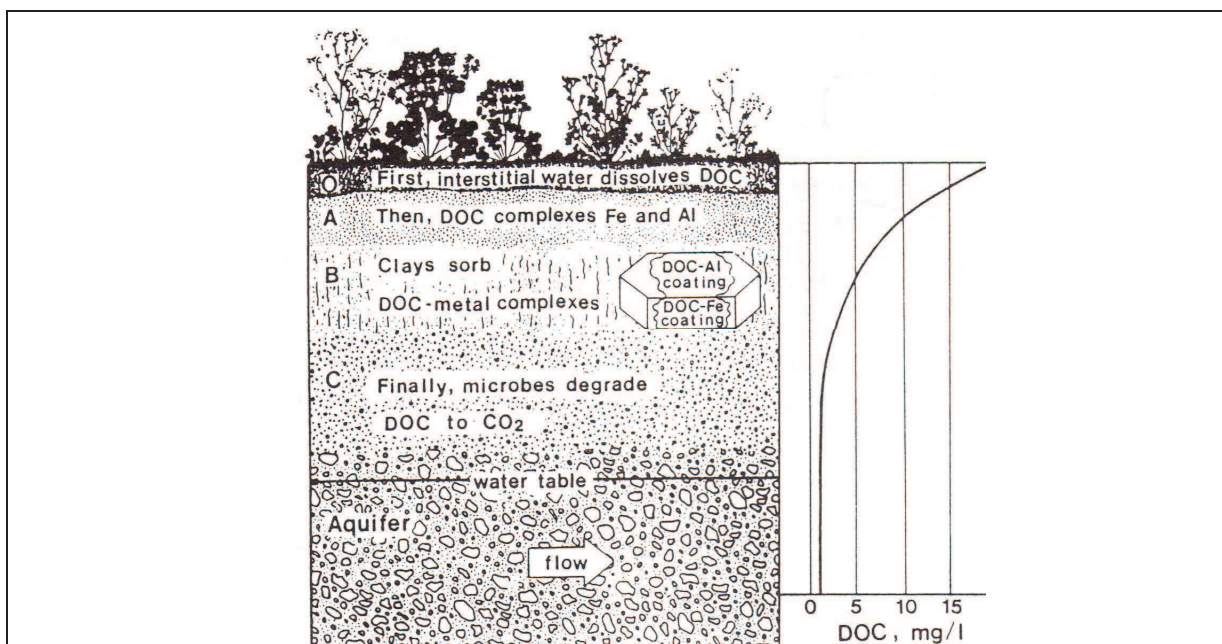


Figure I-17 : Diminution de la concentration du COD dans les eaux souterraines [Thurman (1985)]

I.3.2 Devenir du carbone organique dissous dans les systèmes karstiques

La nature et la concentration des matières organiques, présentes dans les eaux souterraines, dépendent de divers phénomènes physico-chimiques certains dits « sources » et d'autres « puits ».

I.3.2.1 Solubilité et polymérisation des matières organiques du sol

En connaissant l'énergie libre de Gibbs (ΔG_f^0) des substances humiques [Tardy *et al.* (1997)], on peut calculer l'énergie libre de la réaction de dissolution ou d'équilibre entre le solide (SH_s) et le composé aqueux (SH_{aq}) :



Schaal *et al.* (1997) ont démontré que les valeurs de ΔG_R^0 , toutes positives, sont très grandes, montrant ainsi que la plupart de ces composés organiques sont pratiquement insolubles dans l'eau. Par conséquent, la solubilité d'un composé organique dans la phase aqueuse du sol dépend surtout de sa taille. Un autre phénomène doit donc être pris en compte : la polymérisation. En effet, la solubilité et la mobilité de ces substances varient en sens contraire de leur degré de condensation moléculaire [Schaal *et al.* (1997)]. Ainsi, la migration en solution des substances organiques se produit sous forme de molécules plus simples, moins polymérisés, plutôt que sous la forme de molécules condensées plus complexes. Ces dernières sont mobiles qu'en très fines suspensions, dépendant ainsi du régime hydrologique régnant dans le milieu.

Schaal *et al.* (1997) démontrent aussi qu'un climat chaud et humide est défavorable à la polymérisation des substances humiques. On est donc en raison de croire que pour un climat méditerranéen, alternant des périodes sèches et humides, l'arrivée des précipitations sur un sol sec entraîne une modification de la condensation des matières organiques du sol, sous la forme d'un éclatement de la structure supramoléculaire, libérant ainsi des composés plus simples qui sont plus facilement lixivés vers les horizons plus profonds.

I.3.2.2 Phénomènes d'adsorption-désorption

On suppose généralement que l'absorption des matières organiques dissoutes (MOD) sur les surfaces minérales est le principal phénomène que subissent ces substances. La présence de noyaux aromatiques, de groupements carboxyliques ou contenant de l'azote ou du soufre, et d'acides aminés résiduels dans les MOD augmente leur capacité à être adsorbées [McKnight *et al.* (1992)]. Les processus de sorption dépendent en grande partie par la quantité d'oxydes ou d'hydroxydes de fer et d'aluminium, et d'argiles dans les sols [Moore *et al.* (1992)], mais aussi dans les résidus de décalcification des aquifères karstiques.

Le phénomène d'adsorption n'est pas totalement irréversible. Ainsi, les matières organiques adsorbées peuvent retourner dans la phase liquide. La désorption dépend de la composition de la

solution en contact et de la concentration des composés dans la phase aqueuse [Marschner & Kalbitz (2003)].

I.3.2.3 Biodégradabilité des matières organiques dissoutes

Dans la littérature [Labanowski (2004) ; Van Hees *et al.* (2005) ; Knoth-Zarruk (2007)], on distingue trois fractions de matières organiques dissoutes biodégradables :

- **la matière organique labile**, principalement constituée de composés simples pouvant être utilisés directement par un grand nombre de microorganismes sans le recours à des enzymes spécifiques. Généralement, on considère qu'il s'agit de sucres simples, d'acides organiques courts, d'acides aminés, de sucres aminés et de petites protéines.
- **la matière organique lentement dégradable et relativement stable**, contenant des composés qui nécessitent des enzymes spéciales de décomposition, essentiellement produites soit par quelques microorganismes moins intéressés par des substrats labiles, soit par des microorganismes en manque de substrats labiles. Des polysaccharides et d'autres dérivés de plantes et de microorganismes constituent entre autre cette fraction.
- **la matière organique récalcitrante**, qui n'est pas complètement non biodégradable, mais qui s'accumule dans le milieu. Cette fraction consiste en des structures qui ne sont pas facilement rompues par des enzymes, comme des dérivés de la lignine (phénols et polyphénols) ou des composés fortement altérés.

Les biocénoses des eaux souterraines se composent essentiellement de bactéries, d'archéobactéries, de protozoaires et d'invertébrés microscopiques. L'écosystème aquifère est caractérisé par l'absence de lumière, et très souvent par un manque de carbone organique et de nutriments, ce qui correspond à des conditions oligotrophes. Par conséquent, les organismes qui se développent dans cet habitat sont moins nombreux que dans les systèmes riches en nutriments. Ils sont souvent très petits et se trouvent dans un état d'activité partiellement réduite. Ils sont capables d'utiliser de faibles gradients d'énergie et des ressources minimales en nutriments. L'hétérogénéité géochimique de l'aquifère se reflète dans la variété des communautés microbiennes [Hunkeler *et al.* (2006)]. Quelques habitats souterrains, surtout dans les aquifères karstiques, montrent aussi une grande variabilité temporelle. Certaines de ces bactéries oligotrophes sont capables de réduire les nitrates et de dégrader les grosses molécules complexes d'hydrocarbure et phénoliques [Gounot (1997)] avec des cinétiques très lentes, leur conférant un intéressant pouvoir épurateur.

I.3.3 Nature des constituants de la matière organique dissoute des eaux naturelles

Du fait des différents phénomènes physico-chimiques décrits précédemment, la nature des constituants de la matière organique dissoute (MOD) dans la solution des sols, puis dans les écoulements souterrains, est moins diversifiée. Nous avons vu précédemment que la concentration des

MOD diminue de façon significative avec la profondeur (cf. I.3.1.2). Knoth-Zarruk (2007) a réalisé un inventaire exhaustif des grandes familles de composés organiques dans la phase dissoute.

- **Les hydrates de carbone** libres existent en très petites quantités dans la solution de sol où ils n'excèdent pas 1 % [Swincer *et al.* (1969)]. Ceci est dû au fait qu'ils sont rapidement biodégradés par la biocénose du sol, et qu'ils sont fortement adsorbés par la matrice argileuse [Calvet (2003)]. Ainsi, leur concentration et leur nature dépendent essentiellement de l'activité biologique, elle-même dépendante du climat. Cependant, certaines bactéries peuvent utiliser des sucres labiles pour former des substances hydrogène-carbonées plus réfractaires [Ogawa *et al.* (2001)]. De plus, certains hydrates de carbone peuvent se combiner avec d'autres substances organiques récalcitrantes comme les produits de dégradation de la lignine [Derrien *et al.* (2006)].
- **Les composés phénoliques** proviennent principalement de la décomposition de la lignine. Leur solubilité dépend donc de leur état de bio-oxydation [Guggenberger & Zech (1993)]. Parmi ces composés, on trouve des phénols simples, des acides phénoliques, des flavonoïdes [Gallet & Lebreton (1995)], mais aussi des composés ligneux (acide ou alcool p-coumarique, coniferylique, sinapylique [Martens (2002)] ou des tannins hydrolysables (composés d'une unité de sucre et d'un acide phénolique comme l'acide gallique ou l'acide ellagique [Kögel-Knabner (2002)]). Les composés phénoliques sont des produits de dégradation qui sont relativement récalcitrants vis-à-vis de la biocénose des sols : seuls les basidiomycètes et les lombrics peuvent les dégrader [Hättenschwiler & Vitousek (2000)].
- **Les acides aliphatiques organiques** représentent une des formes les plus réactives du carbone organique des sols. Ils sont responsables en grande partie de la formation de complexes organométalliques, notamment ceux qui contiennent plus d'une fonction carboxylique, en s'associant à des oxydes ou hydroxydes de fer et d'aluminium. Les acides organiques généralement trouvés dans la phase dissoute sont le formiate, le lactate, l'acétate, l'oxalate, le succinate, le fumarate, le malate, le citrate, l'isocitrate et l'aconitate [Jones (1998) ; Jones & Brassington (1998) ; Strobel (2001) ; Jones *et al.* (2003) ; Nardi *et al.* (2003)]. Ils ont une durée de vie très courte dans la solution du sol à cause de la dégradation bactérienne (avec une demi-vie de 12 h en profondeur [Jones *et al.* (2003)]). Cependant, les complexes organométalliques préservent certains d'entre eux de la biodégradation [Van Hees *et al.* (2003)].
- **Les acides aminés** sont utilisés comme source d'azote ou de carbone par la biocénose, mais aussi produits par les microorganismes qui en relarguent dans la phase liquide. C'est pourquoi, malgré leur courte durée de vie en tant que composés libres dans l'eau, ils peuvent tout de même être présents en profondeur [Van Hees *et al.* (2005)]. En outre, ils peuvent aussi être associés avec des composés ligneux, des tannins et des sucres [Warman & Isnor (1991) ; Yu *et al.* (2002)]. Les principaux acides aminés que l'on trouve dans la phase aqueuse sont l'acide glutamique, l'alanine, la valine, la leucine, la glycine, la thréonine, la lysine, l'acide aspartique, la sérine et l'arginine [Martens & Loeffelmann (2003)].

- **Les lipides** sont des composés mineurs des matières organiques dissoutes, principalement d'origine microbienne. Ils sont principalement composés d'acides gras en C₁₆, tel que l'acide palmitique [Melnitchouck *et al.* (2005)]. Certaines de ces grosses molécules ont un pouvoir antimicrobien, pouvant affecter l'activité biologique.

CHAPITRE II : Présentation du site d'étude et caractérisation des écoulements

II.1 L'hydrosystème de Fontaine de Vaucluse

II.1.1 *Localisation géographique*

La zone d'étude (Figure II-1) s'étend sur trois départements (Vaucluse, Alpes de Hautes Provence et Drôme). Elle correspond à la partie nord-ouest de la Provence et recouvre essentiellement le Nord du département du Vaucluse. Elle est limitée au Nord par la vallée du Toulourenc, la chaîne Ventoux – Lure, à l'Ouest par le bassin de Carpentras (plaine du Comtat Venaissin), au Sud par le bassin d'Apt et à l'Est par le bassin de Forcalquier et la plaine de la Durance [Puig (1987)]. Cette région est essentiellement caractérisée par des reliefs calcaires et présente une morphologie très contrastée. En effet, le secteur nord (Chaîne Ventoux – Lure), dont l'altitude moyenne dépasse 1000 m, présente des reliefs très accidentés et des dénivelés atteignant 1600 m entre le sommet du massif et les gorges du Toulourenc. Au Sud, les reliefs des Monts de Vaucluse et du Plateau d'Albion présente une topographie beaucoup plus douce avec une altitude comprise entre 600 et 1000 m pour les monts et oscillant entre 100 (au Sud-Ouest) et 500 m (au Sud-Est) en périphérie d'Apt.

II.1.2 *Contexte géologique*

La géologie de la région a été décrite dans de nombreux travaux géologiques et hydrogéologiques : Masse (1968,1972) ; Villeger (1984) ; Malzieu (1987) ; Puig (1987) et Couturaud (1993).

II.1.2.1 **Géologie structurale**

D'après Puig (1987), cette région peut se diviser en plusieurs zones d'allongement est / ouest suivant des contrastes topographiques qui sont eux-mêmes dus à des contrastes géologiques. Ainsi, nous distinguons du Nord au Sud : la chaîne septentrionale (Chaîne Ventoux – Montagne d'Albion – Lure), le flanc sud de la chaîne, le synclinal d'Apt et le Luberon. Les deux coupes (Figure II-2) permettent de visualiser ces structures.

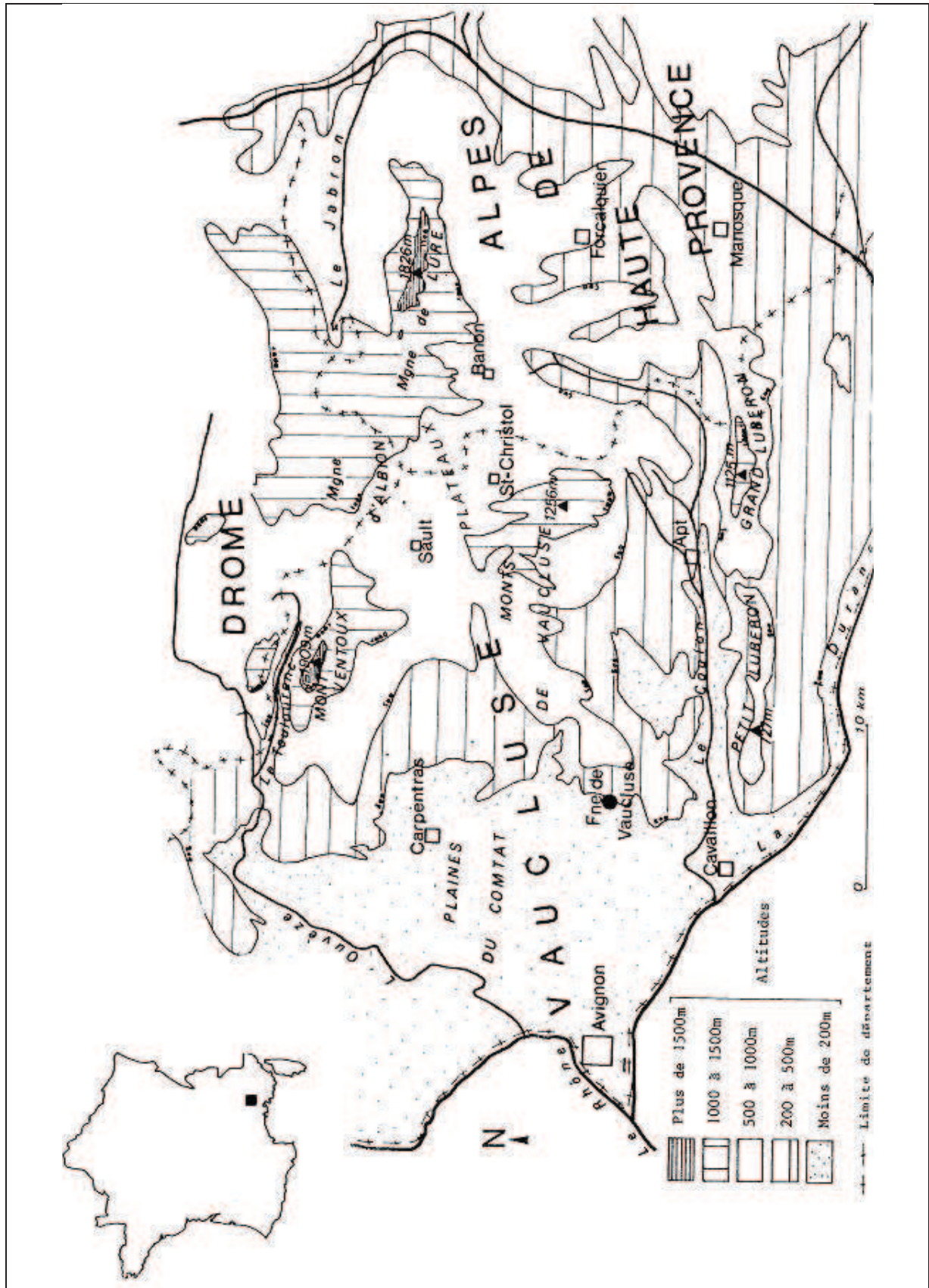


Figure II-1 : Présentation géographique de la région étudiée [Puig (1987)]

- **La chaîne septentrionale** est formée par des écaillés chevauchant vers le Nord les Baronnies. L'écaillé, constituant le flanc nord de la chaîne, amène une structure anticlinale sur une structure synclinale. Ces deux plis sont en dévers vers le Nord. C'est dans cette région qu'affleurent les terrains les plus anciens : le Jurassique Supérieur et le Néocomien.
- **Le flanc sud de la chaîne** correspond à une grande dalle pseudo-monoclinale chevauchant les écaillés du flanc nord. Ce monoclinale est constitué par les terrains du Crétacé. Plusieurs structures tectoniques affectant cette dalle sont à prendre en compte :
 - ◇ les failles de Saint-Gens et Fontaine de Vaucluse abaissent la terminaison périclinale occidentale du plateau de Vaucluse sous le bassin tertiaire de Carpentras.
 - ◇ le fossé de Sault d'orientation NNE-SSO sépare le Mont Ventoux et la Montagne d'Albion. Il s'agit d'un fossé d'effondrement.
- **Le synclinal d'Apt** est dans la continuité du monoclinale. Son cœur est rempli par les terrains de l'Albien-Cénomaniens et du Tertiaire. L'Albien-Cénomaniens est constitué par les fameux sables ocreux dont les anciennes carrières de Roussillon et de Rustrel ont été transformées aujourd'hui en d'importants sites touristiques.
- **Le Luberon** est une structure anticlinale déversée vers le Sud et qui chevauche vers le Sud les terrains tertiaires. Il est coupé en deux par la « combe » de Lourmarin qui est une zone de fractures limitée au Nord et au Sud par les accidents chevauchants.

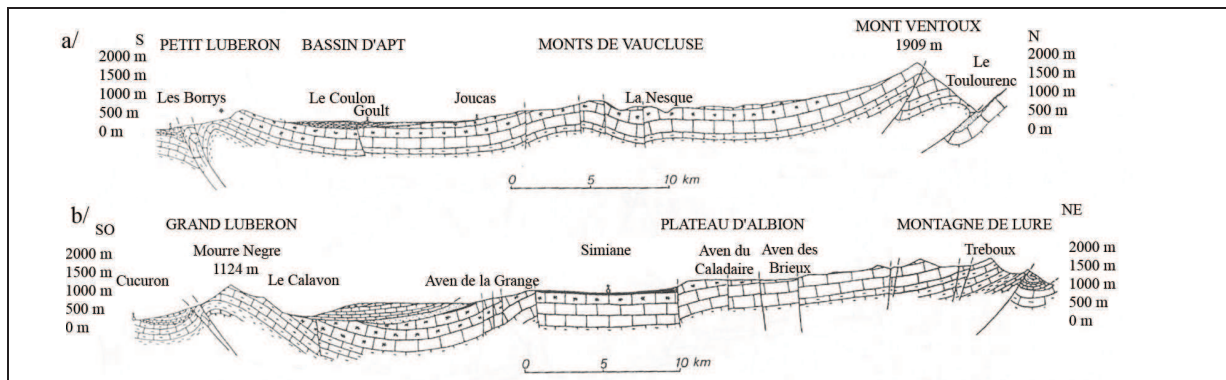


Figure II-2 : Coupes géologiques (a) du Petit Luberon au Mont Ventoux et (b) du Grand Luberon à la Montagne de Lure [Puig (1987)]

II.1.2.2 Unités lithologiques

Classiquement, trois grands ensembles sont distingués à savoir d'une part le Valanginien – Hauterivien Inférieur, d'autre part l'Hauterivien Supérieur – Barrémien – Bédoulien, et enfin le Gargasien – Crétacé Supérieur (Figure II-3 et Figure II-4).

- **Valanginien – Hauterivien Inférieur :**

Le Valanginien, dont l'épaisseur est variable (environ 200 m), est essentiellement marneux voire marno-calcaire et se caractérise par la présence de fossiles pyriteux. L'Hauterivien présente une série puissante formée à sa base par des alternances de marnes et de marno-calcaires pour finir dans la partie supérieure par des calcaires. Cette dernière série atteint une épaisseur de 670 m sur le versant nord du Ventoux [Puig (1987)].

Cette formation caractérise le mur de l'aquifère karstique de la région. Toutefois, la fracturation observée à l'intérieur de ces séries ne permet pas de localiser avec précision la limite étanche.

- **Hauterivien Supérieur – Barrémien – Bédoulien :**

Cet ensemble de séries, à forte dominante calcaire (avec de rares intercalations marneuses pouvant entraîner localement la formation de nappes perchées), constitue l'ossature de la région. Ces dépôts peuvent atteindre une épaisseur de 1500 m.

L'Urgonien, appartenant dans notre secteur à ces étages géologiques, est un des faciès caractéristique de ces calcaires et se compose de calcaires bioclastiques inférieurs (U1), de calcaires à Rudistes (U2) et de calcaires bioclastiques supérieurs à silex (U3). Ces dépôts forment un ensemble diachronique qui s'étend de l'Hauterivien Inférieur à l'Aptien Inférieur (Bédoulien).

Dès son émergence au Crétacé, cette puissante formation calcaire fera l'objet d'une intense karstification, conduisant à la formation du système karstique de la Fontaine de Vaucluse. [Puig (1987)].

- **Gargasien – Crétacé Supérieur :**

Ces formations, que l'on trouve principalement sur les pourtours des reliefs ou dans les zones effondrées, sont représentées par des marnes dont l'épaisseur varie de 50 à 200 m. Elles constituent le toit de l'aquifère et jouent un rôle très important car elles permettent notamment dans le synclinal du Toulourenc, où les marnes du Gargasien surmontent le Bédoulien, de mettre en charge une partie de l'aquifère karstique (forage artésien de Veaux).

Au Crétacé Supérieur, la sédimentation devient terrigène annonçant l'émergence de la région. Cette unité, d'une épaisseur variant de quelques mètres à 800 m, est de nature sablo-marneuse.

Dans la région d'Apt, cette formation est réduite à quelques dizaines de mètres et montre des phénomènes d'altération consécutifs à l'émergence de la région à partir du Cénomaniens Moyen [Puig (1987)] qui ont permis la formation des ocre.



Figure II-3 : Contexte géologique [Couturaud (1993)]

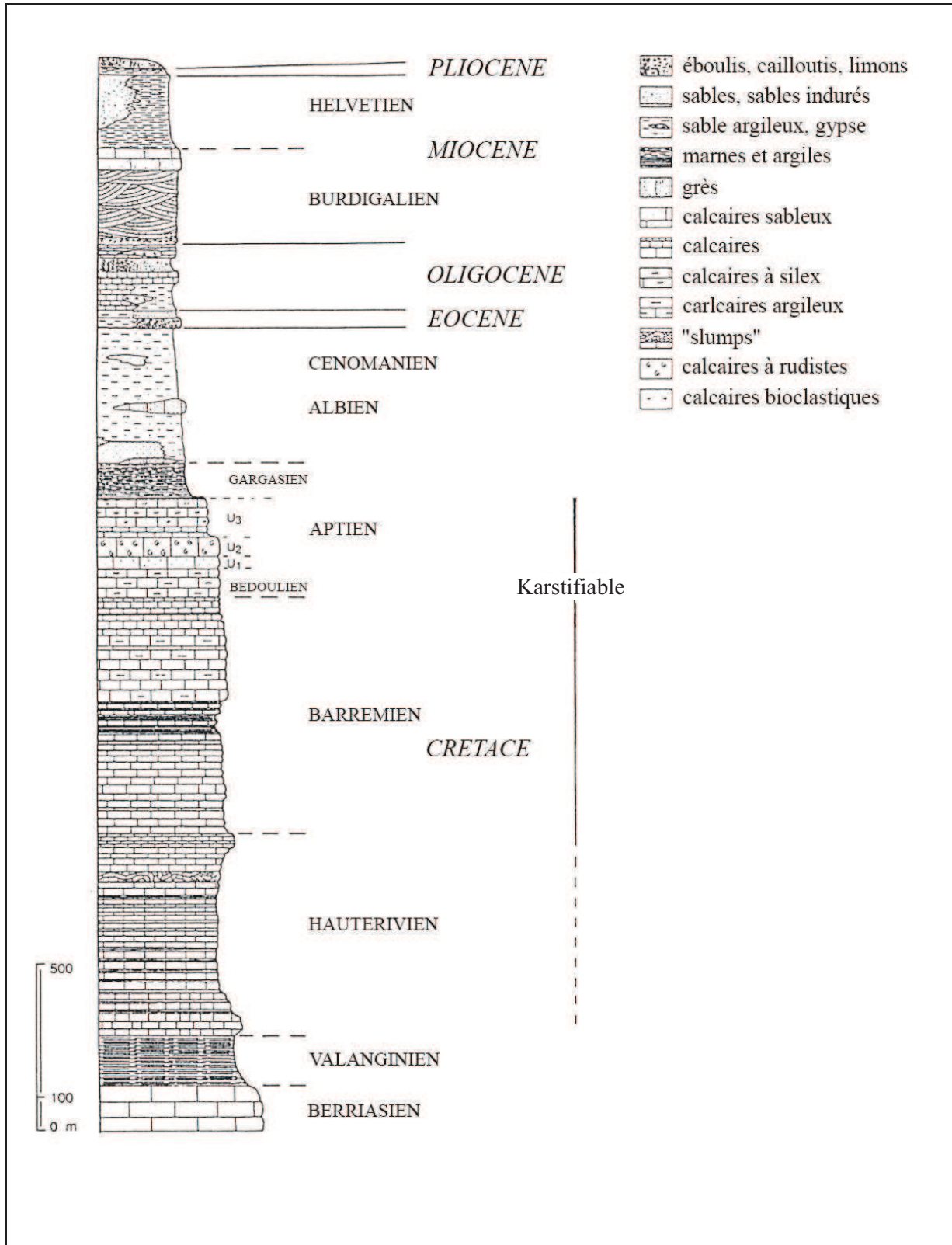


Figure II-4 : Coupe lithostratigraphique [Puig (1987)]

II.1.3 L'aquifère du système de Fontaine de Vaucluse

II.1.3.1 Contexte hydrogéologique

Situé dans le Sud-Est de la France, à 30 km à l'Est d'Avignon, l'aquifère karstique de la Fontaine de Vaucluse, exutoire principal de la grande zone karstique comprenant notamment le Plateau d'Albion, le Mont Ventoux et la Montagne de Lure, possède un bassin d'alimentation d'environ 1 115 km² [Puig (1987)]. L'altitude de son bassin d'alimentation varie de 84 m pour l'exutoire à 1 912 m pour le Mont Ventoux avec une moyenne pondérée pour la zone d'infiltration de 870 m. Les précipitations moyennes annuelles s'échelonnent de 700 mm pour Gordes (370 m) à 1 300 mm pour la crête du Ventoux et les températures moyennes annuelles de 12,6 °C pour Gordes à 6 °C au Chalet Reynard sur le Mont Ventoux (1440 m).

Du point de vue géologique, ce karst s'est développé comme nous l'avons vu précédemment dans les calcaires Hauterivien et Urgonien (Barrémo-Bédoulien) pouvant atteindre une épaisseur de 1 500 m. La zone d'infiltration de ce système présente la particularité d'être très épaisse avec une moyenne de 800 m [Puig (1987)]. La structure de cet aquifère peut être considérée comme une vaste dalle monoclinale avec un pendage de 15° vers le SW, affectée par de nombreux accidents N-S et NE-SO.

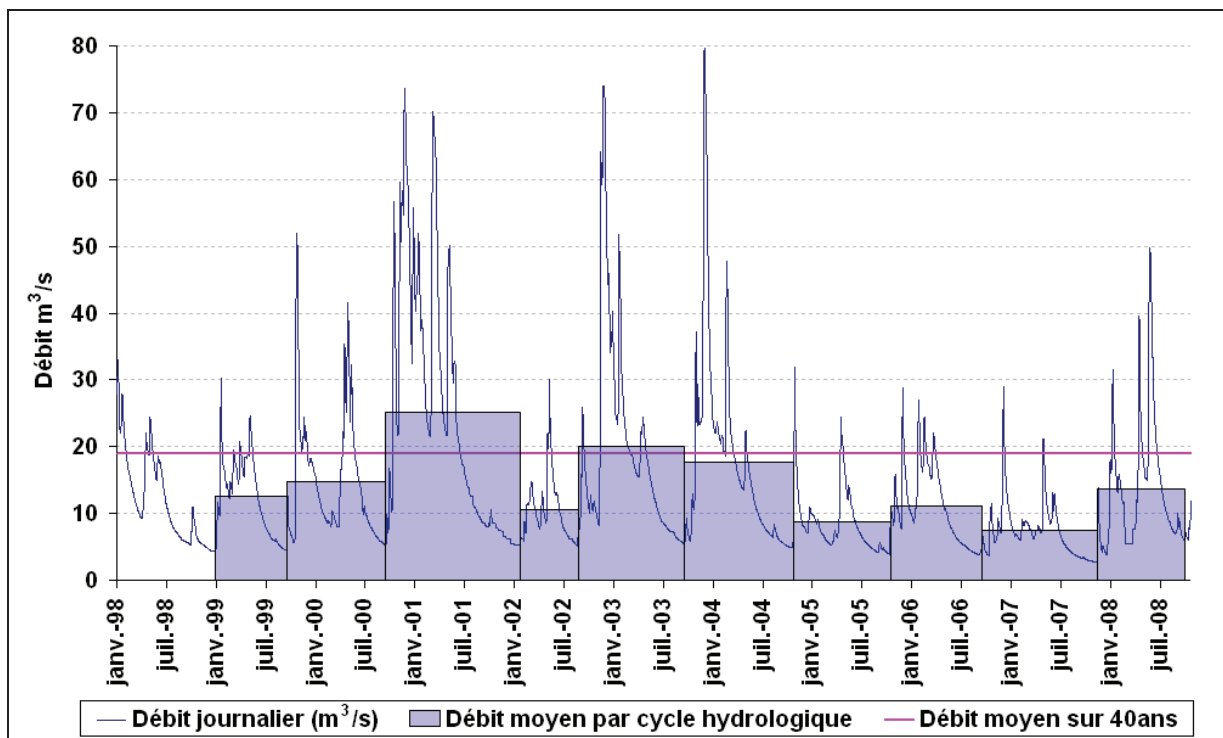


Figure II-5 : Courbe des débits moyens journaliers sur la période « janvier 2003 – juin 2008 »

Les débits de la Fontaine de Vaucluse (23 m³/s en moyenne [Cognard-Plancq *et al.* (2006)]), suivis régulièrement depuis plus de 130 ans (de janvier 1877 à aujourd'hui), et la surface de son bassin d'alimentation font de cette source karstique l'une des plus remarquables d'Europe. En valeurs journalières entre le 1^{er} janvier 2003 et le 30 juin 2008 (Figure II-5), le débit minimum moyen

journalier mesuré est de 2.74 m³/s le 18 novembre 2007 (débit minimum historique) contre 79.7 m³/s le 3 décembre 2003. Par ailleurs, sur cette même période, les débits moyens enregistrés à la Fontaine de Vaucluse sont de 12.32 m³/s. Nous sommes donc, au vu de la différence des débits moyens, dans une période très déficitaire, due elle-même à un déficit des précipitations (cf. II.1.5).

L'émergence de la Fontaine de Vaucluse (Figure II-6) se fait à la faveur de la grande faille subméridienne, séparant la terminaison ouest des Monts de Vaucluse du bassin tertiaire de Carpentras. Elle se présente au pied d'un escarpement calcaire de 200 m sous la forme d'une large vasque qui s'ouvre à l'amont d'un talweg chaotique, dans lequel des griffons s'échelonnent sur plusieurs centaines de mètres, en rive droite. Au-dessous de la cote 83 m, les émergences sont pérennes. Pour des débits supérieurs au débit minimum observé, des sorties étagées entre la cote 83 m et le seuil de débordement de la vasque, 105.5 m, entrent successivement en action. Le débordement se produit pour des débits supérieurs à 20 m³/s. En basses eaux, le plan d'eau de la vasque atteint parfois la cote de 84 m. Un certain nombre de reconnaissances par plongées humaines ou par des appareils ont permis d'explorer le conduit noyé jusqu'à une profondeur de 308 m soit environ 224 m sous le niveau de la mer [Staigne (1983)].

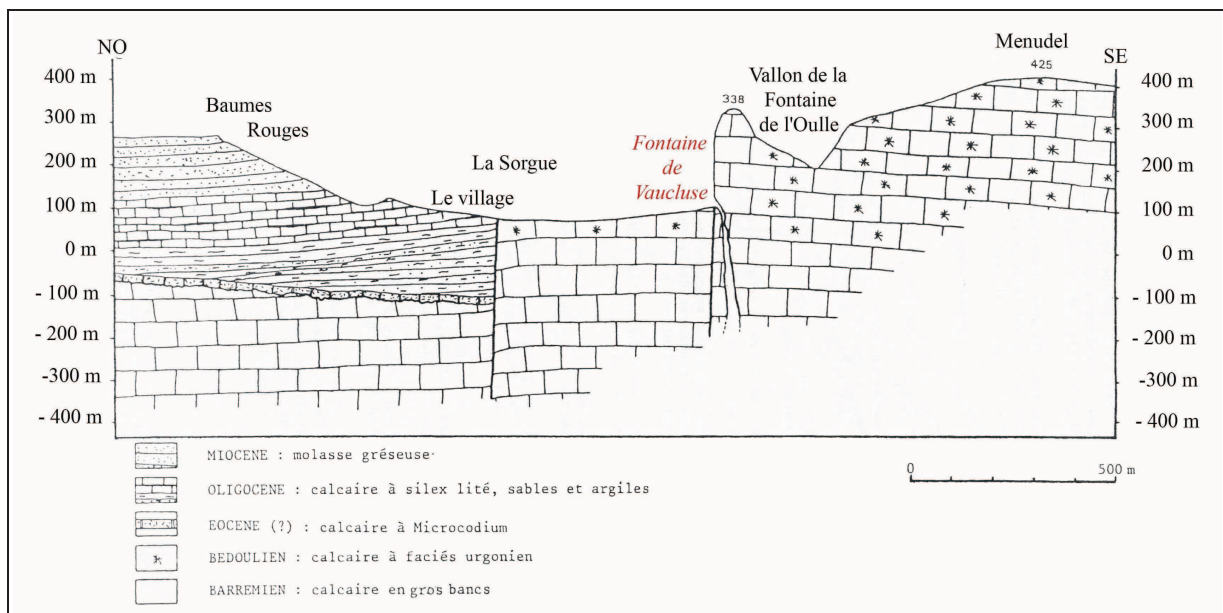


Figure II-6 : Coupe géologique passant par la Fontaine de Vaucluse [Puig (1987)]

II.1.3.2 Synthèse des études scientifiques

Les études hydrogéologiques effectuées sur Fontaine de Vaucluse ont permis de déterminer les limites de son bassin d'alimentation [Puig (1987)] et de caractériser son fonctionnement général [Blavoux *et al.* (1992a,b)] en liaison avec la fracturation [Couturaud (1993)]. Ces études ont toutes montré la difficulté de compréhension d'un aquifère karstique aussi vaste (Figure II-7).

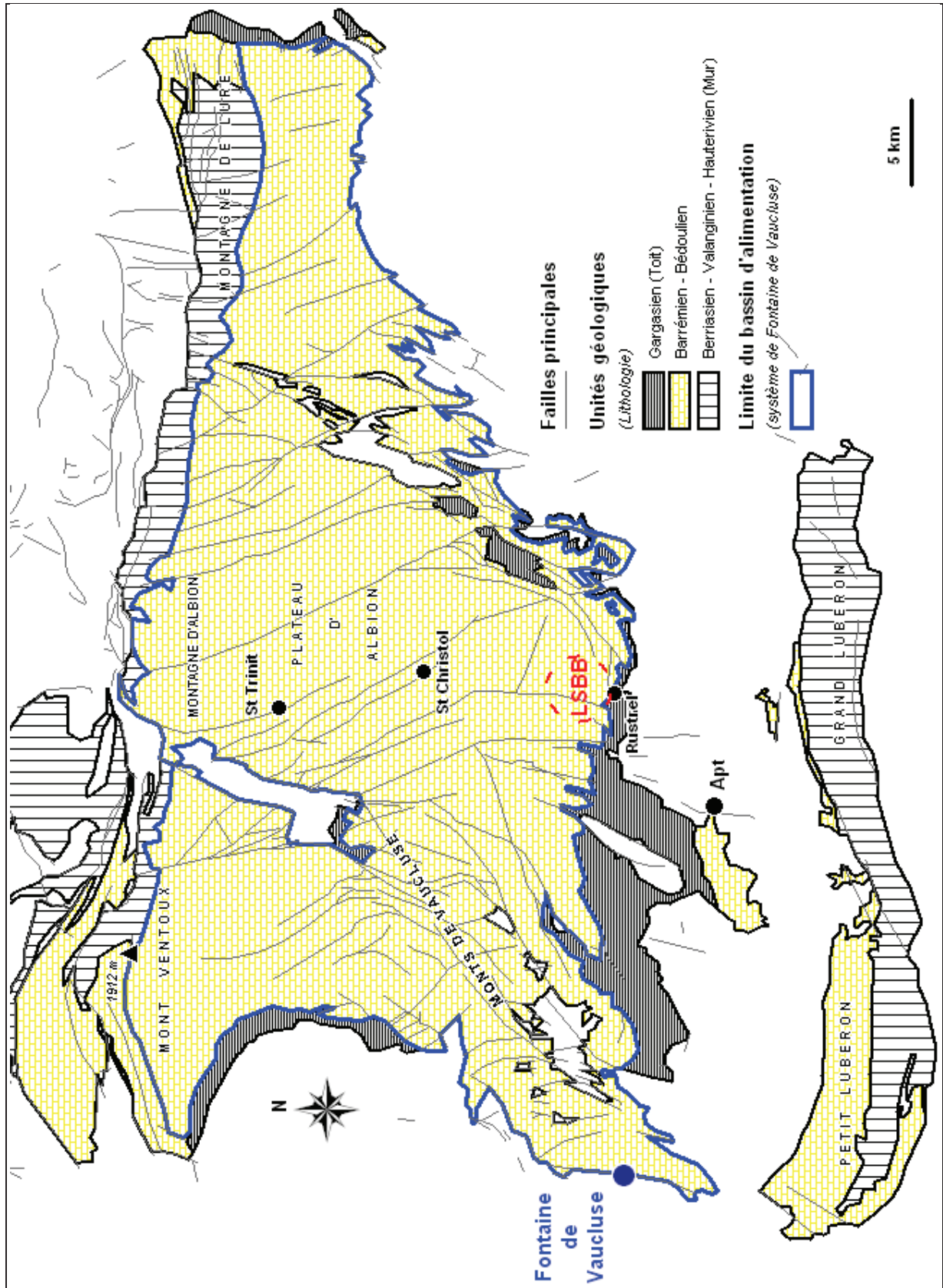


Figure II-7 : L'aquifère de Fontaine de Vaucluse et localisation du LSBB

Les approches hydrodynamiques permettent d'approcher le fonctionnement du système. Ainsi, l'étude des courbes de récession à la Fontaine de Vaucluse montre une forte variabilité des coefficients de tarissement, laissant supposer que la Fontaine de Vaucluse serait l'exutoire de plusieurs systèmes [Mangin (1975)]. Puig (1987) propose d'assimiler cette variabilité à la variation des volumes d'eau dans la zone non saturée. En effet, la présence aléatoire de lentilles marneuses imperméables, retenant de petits aquifères « suspendus » dans la zone non saturée, permet la circulation d'eau dans des drains en périodes sèches (exemple de la rivière d'Albion, rivière perchée dans la zone non saturée environ 200 m au-dessus de la zone noyée, qui coule 600 m sous la surface de la terre avec un débit à l'étiage de 100 l/s). Ces observations suggèrent donc une participation notable [Puig (1987) ; Emblanch *et al.* (2003) ; Garry (2007)] de la zone non saturée aux débits à l'exutoire même pendant les périodes de basses eaux.

D'un point de vue hydrochimique, l'étude des concentrations en magnésium réalisée par Blavoux & Mudry (1983) a débouché sur la conception d'un schéma de fonctionnement du système karstique de la Fontaine de Vaucluse. Elle se divise en quatre étapes distinctes sur une année hydrologique, qui s'expliquent par des proportions variables des écoulements de la zone noyée se mélangeant soit avec des eaux chassées par transfert de pression, soit avec des eaux ayant transité dans la zone non saturée. Ceci démontre bien le caractère inertiel du système.

II.1.4 Contexte pédologique simplifié

Les variations d'altitude observées sur cette région montagneuse et l'exposition très différente suivant les versants d'orientation est-ouest sont à l'origine d'une caractérisation par étagement de différents groupements végétaux de façon altitudinale et climatique. Quatre étages se distinguent, à savoir l'étage méditerranéen, le subméditerranéen, le montagnard et le subalpin [Barbero *et al.* (1978)].

- **L'étage méditerranéen** occupe essentiellement les versants sud des Monts de Vaucluse, et du Mont Ventoux jusqu'à 800 m et les versants nord du Grand Luberon jusqu'à 600 m. Il correspond à l'association de chênes verts, de pins d'Alep, de chênes Kermès, de romarin, de genêts Scorpion, de genévriers et de garrigues avec du thym et du sparte.
- **L'étage subméditerranéen** occupe une grande partie des plateaux de Vaucluse et d'Albion au-dessus de 500 m et le versant sud de la chaîne Ventoux – Lure jusqu'à 1300 m. Il correspond à l'association de landes (buis, lavandes et genêts cendrés), de chênes verts et de pins Sylvestre.
- **L'étage montagnard** occupe la crête du Grand Luberon et la chaîne du Ventoux – Lure au dessus de 1000 m d'altitude. Il regroupe hêtres, pins Sylvestre et essences de type buis et lavande. Les

versants nord des crêtes de la chaîne Ventoux – Lure montrent des colonies de sapins associés aux hêtres.

- *L'étage subalpin* occupe le sommet du Mont Ventoux et est constitué de l'association pins à crochet – pelouse éparpillée. Cette faible végétation est due aux conditions climatiques rudes régnant sur le massif (vent, gel, orages, ...) provoquant une érosion considérable sur les parties hautes où le sol et la végétation sont quasiment inexistantes.

La Figure II-8 et le Tableau II-1 nous montrent que les activités agricoles ne se font que sur les plateaux et les fossés d'effondrement au niveau du bassin d'alimentation du système de Fontaine de Vaucluse. On y cultive principalement de la vigne, de la lavande, des vergers, des oliviers, des céréales et des fourrages. Ces territoires agricoles représentent 14.8 % de la surface. D'autre part, cette région reste peu peuplée, les terrains anthropisés ne représentant que 1 % de la surface. Ainsi, l'occupation des sols par les forêts et les milieux semi-naturels reste majoritaire (84.2 %). Certaines parties de cette zone peuvent être le siège d'exploitations forestières et/ou d'élevage d'ovins.

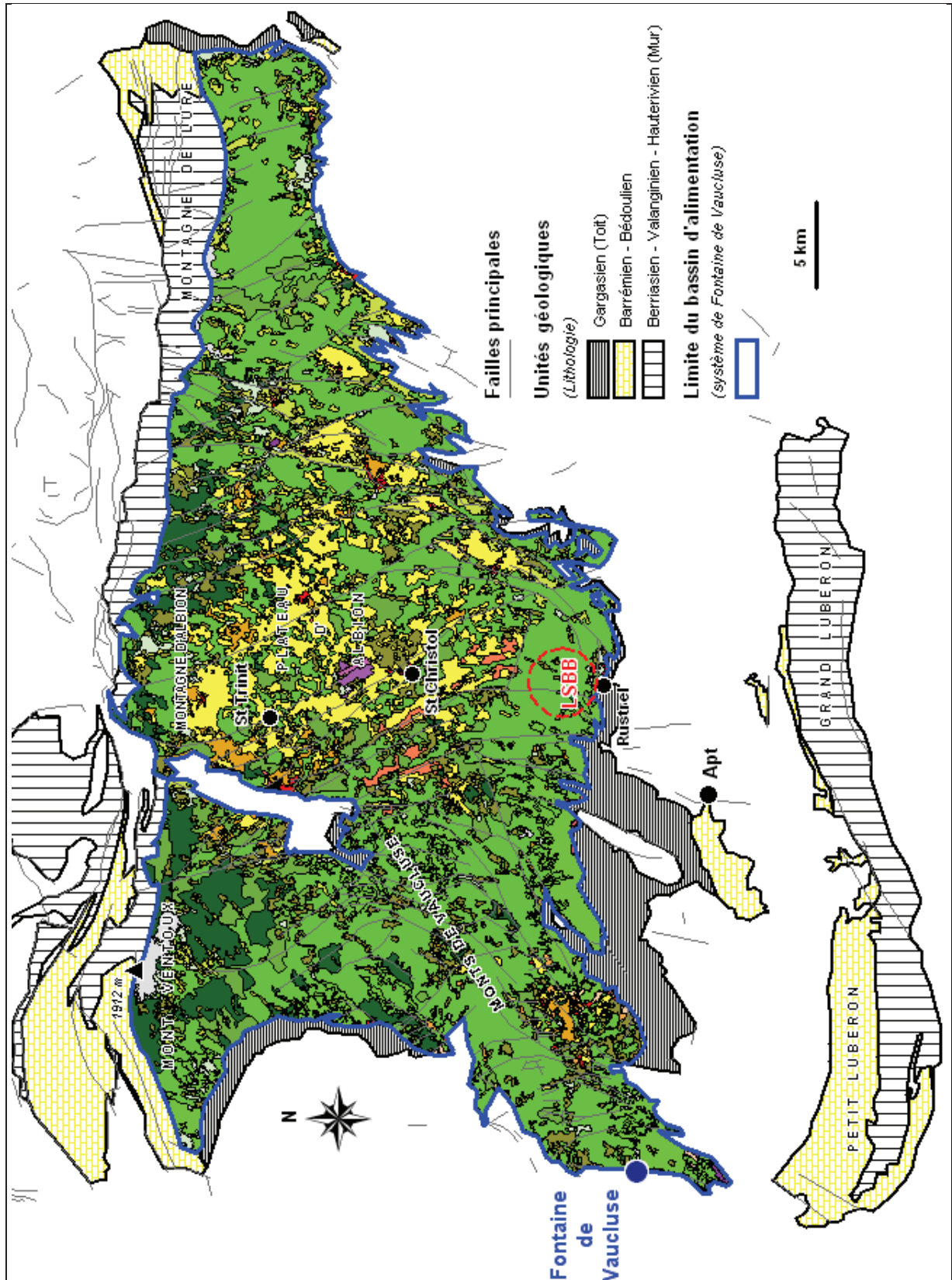


Figure II-8 : Carte d'occupation des sols sur l'aquifère de Fontaine de Vaucluse

Grands ensembles	Codes Niveau 3 (CRIGE PACA 2006)	Intitulés	Code couleur RBV	Couleurs	Surface (km ²)	Proportion de surface / Surface du BV
Territoires artificialisés	111	Tissu urbain continu	180 000 000		0.478	0.0427%
	112	Tissu urbain discontinu	255 000 000		4.222	0.3775%
	113	Bâti diffus	255 100 000		3.782	0.3382%
	121	Zones industrielles ou commerciales	204 077 242		1.612	0.1441%
	124	Aéroports	255 077 255		0.571	0.0511%
	131	Extraction de matériaux	166 000 204		0.871	0.0779%
	141	Espaces verts urbains	255 128 128		0.004	0.0004%
	142	Equipements sportifs et de loisirs	255 102 102		0.114	0.0102%
Territoires agricoles	212	Terres arables hors périmètres d'irrigation	255 255 000		130.296	11.6510%
	221	Vignobles	242 204 166		3.227	0.2886%
	222	Vergers et petits fruits	242 166 077		2.701	0.2415%
	223	Oliveraies	230 166 000		1.473	0.1317%
	224	Lavandins	255 124 080		6.286	0.5621%
	231	Prairies	205 205 102		0.670	0.0599%
	241	Cultures annuelles associées aux cultures permanentes	255 230 166		0.700	0.0626%
	243	Territoires principalement occupés par l'agriculture avec présence de végétation naturelle	230 166 000		20.077	1.7953%
Forêts et milieux semi-naturels	311	Forêts de feuillus	076 230 000		510.013	45.6051%
	312	Forêts de conifères	028 099 000		88.020	7.8707%
	313	Forêts mélangées	112 171 000		65.029	5.8149%
	321	Pelouses et pâturages naturels	204 242 077		54.407	4.8650%
	323	Maquis et garrigues	144 144 000		106.307	9.5059%
	324	Forêt et végétation arbustive en mutation	115 192 000		79.119	7.0748%
	332	Roches nues	224 224 224		8.248	0.7375%
	333	Végétation clairsemée	204 255 204		30.092	2.6908%
Surfaces en eau	512	Plans d'eau	096 202 255		0.005	0.0004%

Tableau II-1 : Légende de l'occupation des sols (chartre graphique du CRIGE PACA, 2006)

La végétation naturelles et l'occupation des sols dépendent étroitement des sols qui les portent. Ceux-ci présentent, dans notre secteur d'étude, des épaisseurs variables, généralement faibles. Ils se développent le plus souvent sur un substratum calcaire excepté dans les fossés d'effondrement où il existe une couverture quaternaire. Ainsi, les types de sol les plus communément rencontrés sont les lithosols, les rendosols et les fersialsols.

- **Les lithosols** sont des sols azonaux (caractérisés par un solum incomplet) et consistants en matériaux rocheux fraîchement et imparfaitement altérés. Ils sont limités en profondeur par le substratum calcaire à moins de 10 cm de profondeur.
- **Les rendosols (ou rendzines)** sont ici des sols intrazonaux calcimorphes constitués d'un horizon A mologique, riche en matières organiques et en carbonates, peu épais, de couleur foncée et de structure grumeleuse ; directement posé sur le substratum calcaire.
- **Les fersialsols** sont des sols caractérisés par une coloration rougeâtre, une décarbonatation en surface, une saturation en base supérieure à 65 % et une altération des minéraux primaires ayant libéré des quantités importantes d'oxydes et hydroxydes de fer. De tels sols sont couramment rencontrés dans les situations géomorphologiques stables ayant permis le développement de sols sur de longues durées en climat méditerranéen contrasté. On les trouve le plus souvent dans les dolines ou les fossés d'effondrement.

II.1.5 *Contexte climatique*

II.1.5.1 **Stations de mesure et méthode de calcul de l'évapotranspiration**

La zone du bassin d'alimentation du système de Fontaine de Vaucluse est assez bien équipée du point de vue des stations météorologiques (Figure II-9). Afin d'avoir des données météorologiques moyennes sur l'ensemble du secteur, nous avons choisi de suivre deux stations (Saint-Saturnin-lès-Apt et Sault) respectivement situées à une altitude de 354 m et 676 m. Elles sont dites de type 3, c'est-à-dire qu'elles sont automatiques et qu'elles font l'objet d'une exploitation en différé. Ainsi, ce choix nous permet d'avoir accès à 10 ans de chroniques de précipitations et de températures (1998 – 2007) horaires et quotidiennes complètes. Par la suite, nous avons utilisé la moyenne des données journalières de ces deux stations afin d'obtenir une base de données météorologiques moyennes de notre site d'étude.

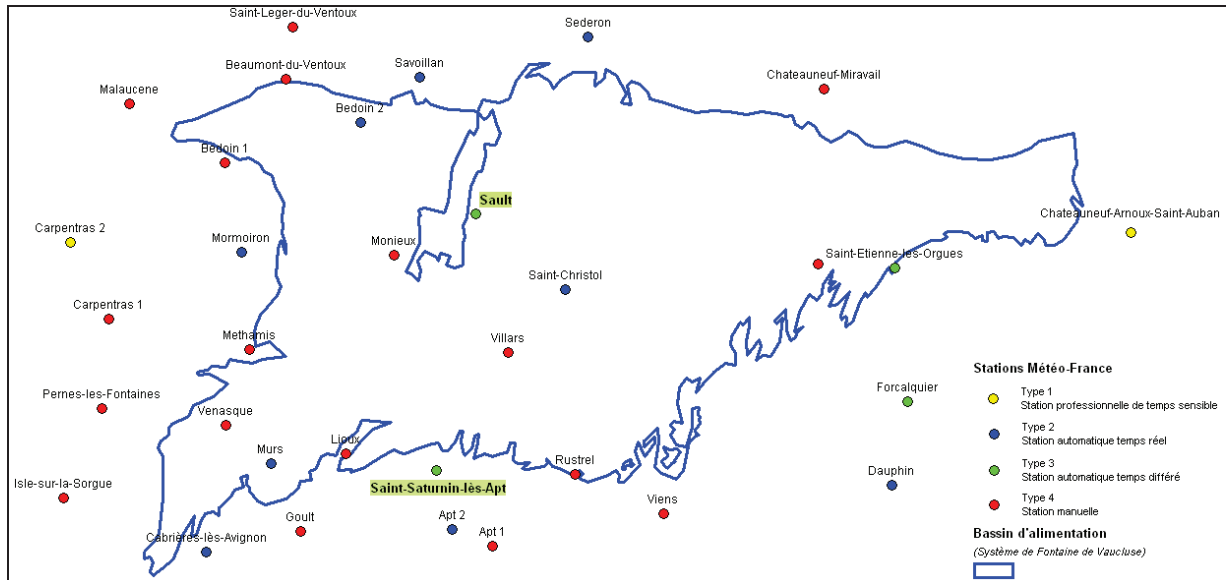


Figure II-9 : Répartition des stations « Météo-France » sur le bassin de Fontaine de Vaucluse

Pour notre problématique, il est intéressant de travailler sur la lame d'eau réellement infiltrée dans l'aquifère et donc d'obtenir une valeur même empirique de l'évapotranspiration potentielle (ETP). Riou (1980) a introduit une formule empirique simple en prenant compte du déphasage entre le rayonnement solaire global et la température maximale pour estimer l'ETP en région méditerranéenne. Il a ainsi présenté une formule permettant de calculer pour un mois n la valeur moyenne de ETP mensuelle dans la région avignonnaise :

$$ETP_n = 0.31 \cdot \theta_n^* - (7.1 - 0.1 \cdot \Phi)$$

avec ETP_n , l'évapotranspiration potentielle en mm/j pour le mois n

$$\theta_n^* = \frac{(\theta_n^{\max} + 2 \cdot \theta_{n+1}^{\max})}{3}, \text{ la température déphasée du mois n}$$

θ_n^{\max} , la température maximale du mois n et Φ , latitude d'Avignon soit 44°

II.1.5.2 Bilan climatique de la région entre 1998 et 2007

Notre zone d'étude présente un diagramme climatique fortement soumis à l'influence méditerranéenne (Figure II-10), caractérisé par deux saisons humides (avril – mai et septembre – novembre) fournissant l'essentiel des hauteurs d'eau précipitées. Celles-ci sont séparées par des saisons sèches (décembre – mars et juin – août). En effet, septembre et octobre sont, en moyenne depuis 1998, les mois les plus pluvieux avec une lame d'eau précipitée autour de 101 mm. Par opposition, juin et juillet sont, pour cette même période, les mois les plus secs avec des pluviométries de 29 mm environ.

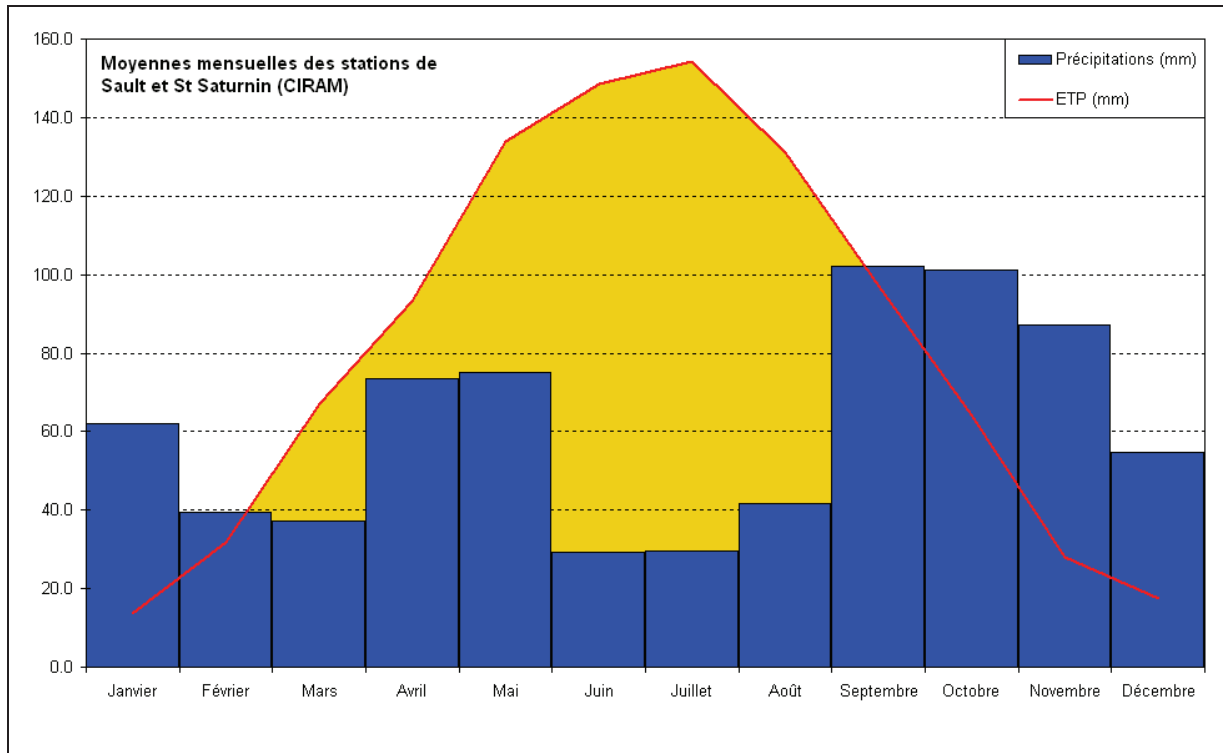


Figure II-10 : Diagramme climatique « Pluie – ETP » sur la période 1998 – 2007

L'étagement altitudinal du secteur étudié, allant de 84 m pour l'exutoire (Fontaine de Vaucluse) à 1912 m pour le sommet du Mont Ventoux, implique l'existence de gradients altimétriques en température et précipitations [Puig (1987)]. De plus, notre secteur présente un fort contraste en précipitations entre les versants Nord et Sud du Mont Ventoux et ce notamment pendant les orages estivaux. En effet, lors de certains orages localisés, les précipitations peuvent dépasser les 400 mm en quelques heures. Par exemple, la commune de Vaison-la-Romaine a reçu, lors des orages de septembre 1992, des précipitations de plus de 350 mm en moins de quatre heures. Cette région présente donc des variabilités climatiques importantes dues en partie aux caractéristiques du climat méditerranéen, mais aussi à sa taille (impluvium de 1115 km²), l'orientation des versants et enfin à son étagement altitudinal. Lastennet *et al.* (1995) démontrent par une étude statistique des précipitations à la station de Carpentras sur une période de 1964 à 1992, « qu'il y a une certaine stabilité du signal annuel des

précipitations et un cycle saisonnier de la pluviométrie reproductible et bien contrasté. Par contre, le régime pluviométrique peut être très variable au cours de l'année ».

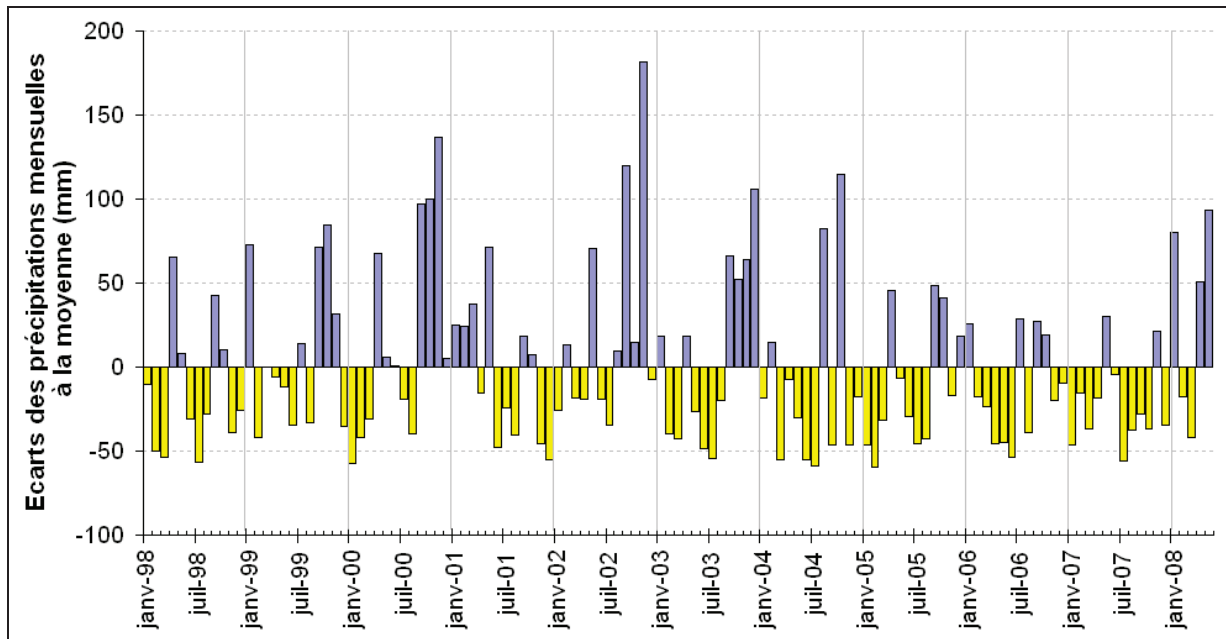


Figure II-11 : Différence moyenne « Pluie – ETP » des stations de Sault et de St Saturnin

Intéressons nous, maintenant, au contexte hydrologique de notre période d'étude. En effet, nous devons préciser l'état hydrique du système afin d'ajuster nos réflexions selon que l'on est dans une période humide (où les réserves sont importantes) ou dans une période sèche (où les réserves sont minimales). La Figure II-11 nous montre, sur une période allant de 1998 à 2007, le bilan hydrique de la région. Nous remarquons que, depuis 2003, nous nous trouvons dans une période fortement déficitaire, regroupant une succession d'années sèches avec un système dont les réserves ne se sont pas reconstituées, voire continuent de se vidanger.

II.2 Le LSBB, un accès privilégié sur la zone non saturée

II.2.1 *Description de la galerie*

II.2.1.1 **Historique et morphologie**

Le Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) est implanté au Nord de Rustrel, petit village provençal d'environ 800 habitants. La galerie a été creusée dans le massif rocheux de la Grande Montagne, qui constitue une partie de la bordure Sud du Plateau d'Albion.

Le LSBB de Rustrel faisait partie, il y a quelques années à peine, d'un site militaire occupant le Plateau d'Albion, où était postée de 1966 à 1998 la force de dissuasion nucléaire française. Le site comportait une base support à Saint Christol, des sites de transmission Vestale sur les contreforts du Mont Ventoux, deux Postes de Conduite de Tir (PCT1 à Rustrel et PCT2 au Nord de Sault) tous deux rattachés respectivement à 9 Zones de Lancement (ZL) de missiles Sol/Sol Balistiques Stratégiques disséminées sur l'ensemble du Plateau d'Albion.

L'ensemble du site a été démantelé sur décision présidentielle en 1998. Les têtes nucléaires ont été démontées et évacuées des ZL, le PCT2 a été complètement vidé puis bouché. Certaines installations sont maintenant réutilisées, mais dans un tout autre but : une des ZL a été convertie en observatoire astronomique et le PCT1 en Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel - Pays d'Apt.

La galerie du PCT1 (Figure II-12) a été creusée dans le massif calcaire de la Grande Montagne, au Nord du village de Rustrel. L'entrée se trouve au Sud de la Grande Combe. Le tunnel s'enfonce sous le massif pour atteindre une profondeur maximum sous roche de 519 m au niveau de la capsule, puis en ressort par le puits de secours. Il s'étend sur une longueur de 3,3 km soit 1560 m de long sur 3.7 m de large pour la galerie principale et 1760 m de long sur 1.7 m de large pour la galerie de secours. L'ensemble des parois de la galerie est constitué d'une épaisseur d'environ 70 cm de béton armé avec par endroit des zones cintrées.

L'alvéole (ou capsule) se situe à 500 m sous roche. Ses caractéristiques sont données sur le site Internet du LSBB (<http://lsbb.unice.fr>). Il s'agit d'une cavité dont les parois sont en béton armé de 2,1 m d'épaisseur minimum et dont le volume intérieur forme un cylindre de 28 m de longueur totale, à extrémités hémisphériques de 8 m de diamètre. Un blindage en contact avec le béton constitue une cage de Faraday assurant la protection contre les effets électromagnétiques. Dans la partie supérieure, des éléments métalliques sont noyés dans le béton pour la fixation des suspentes de la capsule, et dans la partie inférieure, d'autres éléments servent à la fixation des amortisseurs.

Ainsi, la cellule de tir est surmontée par 500 m de zone non saturée. On observe des venues d'eau significatives et pérennes en quatre points de la galerie de secours (drainant donc cette zone non

saturée). Il existe également des suintements temporaires sur les parois de la galerie, notamment à l'entrée de la Galerie Anti-Souffle.

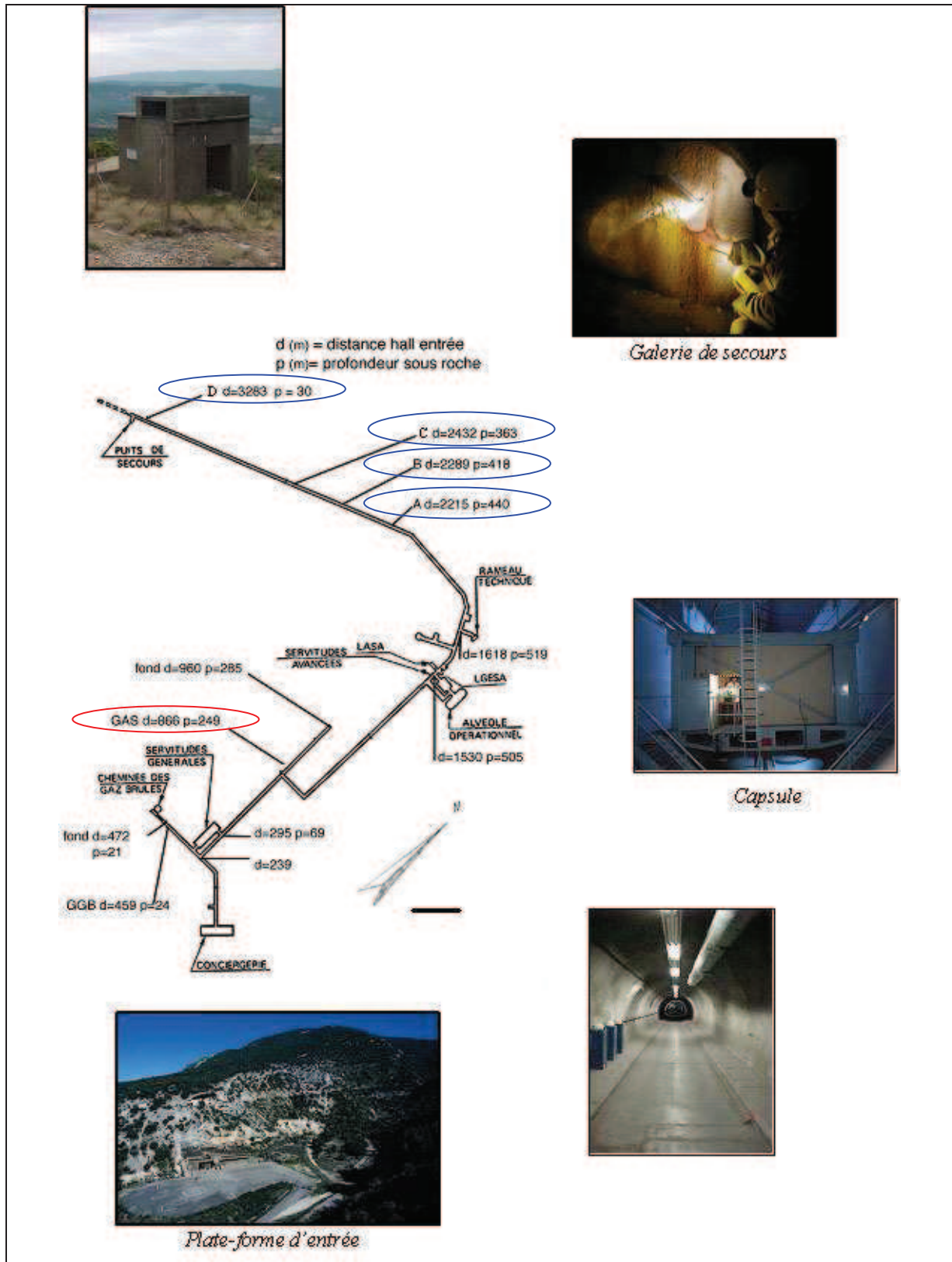


Figure II-12 : Schéma de la galerie du LSBB (<http://lsbb.unice.fr>)

II.2.1.2 Intérêt scientifique du site

La conversion du Poste de Conduite de Tir n°1 du Plateau d'Albion en LSBB a commencé à l'été 1997 et peut aujourd'hui être considérée comme achevée. Scientifiquement, la galerie présente un intérêt multidisciplinaire du fait de ses caractéristiques particulières qui sont :

- **Facilité d'accès unique au tunnel recoupant de façon aléatoire la zone non saturée du karst**
- Calme sismique, gravimétrique, mécanique et acoustique dans les 3 km de la galerie
- Pas de trafic routier à 2 km à la ronde
- Surface du massif à l'aplomb du tunnel entièrement accessible
- Protection radioactive correspondant à 1500 m d'épaisseur équivalente en eau
- Blindage électromagnétique dans la capsule pour un volume de 1250 m³
- Ensemble des galeries entièrement équipé (téléphonie, électricité, Intranet, fibres optiques).

L'activité expérimentale s'articule actuellement autour de trois thématiques principales : la sismologie, l'hydrogéologie et la physique des astroparticules. Une collaboration (35 laboratoires) existe déjà avec des laboratoires notamment en Italie, au Portugal et au Canada. Les interactions croisées (« pluridisciplinaires ») qui se sont créées au LSBB sont tout particulièrement à souligner. La combinaison des trois disciplines « magnétisme – hydrogéologie – sismologie » peut sembler expérimentalement surprenante. Pourtant, la possibilité de mettre pour la première fois en relation des mesures de bruit électromagnétique avec des analyses hydrogéologiques et des mesures sismologiques, loin de tout volcan ou autre source de variations du champ magnétique, est enfin possible. Il s'agit aussi de créer un couplage étroit entre le développement de sismomètres très sensibles et l'adaptation de systèmes SQUID (aux magnétomètres à 3 axes) pouvant fonctionner en continu au maximum de leur sensibilité dans la capsule blindée. Ceci ouvre des perspectives pour l'étude de ces phénomènes, pour des développements instrumentaux et pour évaluer expérimentalement des développements théoriques récents. Le LSBB offre un potentiel exceptionnel de mesures conjointes en sismométrie, hydrogéologie, magnétisme et hydromécanique pour l'enregistrement de séries temporelles longues qui permettront le développement de méthodes d'analyses transversales qui pourront être transposées à d'autres systèmes.

II.2.2 Contexte hydrogéologique et pédologique

La galerie se trouve sur le versant Sud des Monts de Vaucluse, creusée dans un monoclinale de pente Sud-Ouest, affecté par des failles Nord / Sud et Nord-Est / Sud-Ouest. Le LSBB se trouve au sein de la zone non saturée du système de Fontaine de Vaucluse et offre ainsi un intéressant point d'accès. En effet, jusque là, cette partie du karst n'était accessible que par de rares exutoires ou par des avens. Ici, la galerie recoupe de manière aléatoire le réseau karstique d'une formation calcaire

compacte, ayant un faciès à Rudistes (Urgonien au sens strict) du Bédoulien. Elle permet ainsi d'accéder à des eaux de fractures plus ou moins bien karstifiées.

On observe (Figure II-12 et Figure II-13) des venues d'eau significatives et pérennes en quatre points dispersés le long de la galerie de secours, au dessus desquelles l'épaisseur de roche est différente : A : 440 m ; B : 418 m ; C : 363 m ; D : 30 m. Ces arrivées d'eau coïncident avec des suintements de la paroi rocheuse révélés par les géologues lors du creusement de la galerie [Thiébaud (2003)], laissant supposer une faible circulation de l'eau à l'interface roche / paroi (béton) de la galerie. Afin d'éviter tout problème éventuel sur la présence de « poches d'eau » accumulée derrière la paroi, qui pourraient fausser l'interprétation des données hydrogéochimiques, cette dernière a été percée fin décembre 2003 au niveau de chaque écoulement prélevé. Il existe également un écoulement temporaire via une fracture ouverte très bien karstifiée à l'entrée de la galerie anti-souffle (GAS : 249 m).

Le secteur de la Grande Montagne (Figure II-13), à l'aplomb du LSBB, possède une couverture végétale globalement uniforme : une forêt de chênes verts sur le plateau et une végétation un peu plus clairsemée de type garrigue (faisant apparaître des îlots de chênes verts associés à des buissons, disséminés dans une couverture de type herbacé) sur les pentes. Les différents types de sol rencontrés sont un rendosol sur le plateau (PE2) et un lithosol sur les pentes (PA et PE1), tous deux très peu épais. D'autre part, la formation calcaire dans laquelle est creusée la galerie du LSBB ne contient aucune matière organique (cf. II.1.2.2). Ainsi, les sols sont la seule source de MOD du système. Enfin, il n'y a pas d'activités susceptibles d'apporter de la matière organique anthropique de façon significative telles que l'agriculture, l'élevage ou l'assainissement.

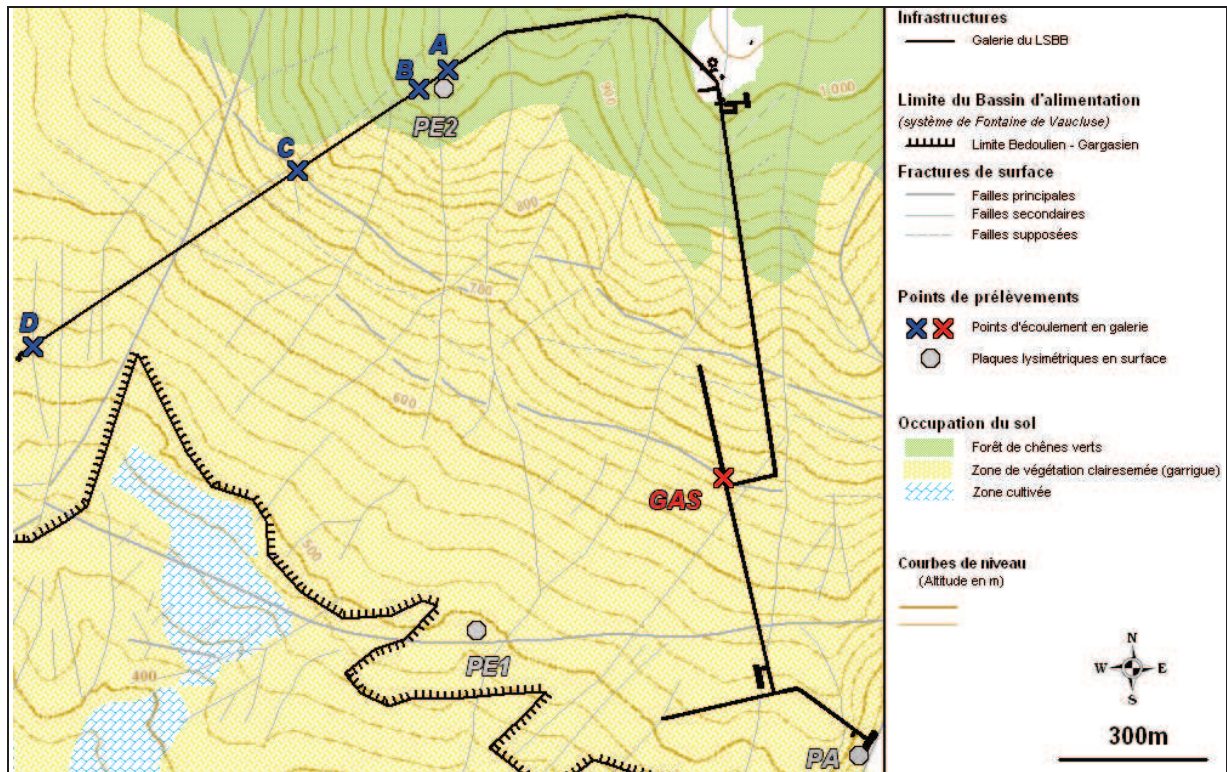


Figure II-13 : Schéma hydrogéologique et pédologique du site du LSBB

II.2.3 *Matériels et périodicité d'échantillonnage*

L'intérêt du LSBB est de nous offrir un accès privilégié et facile à des écoulements non hiérarchisés de la zone non saturée du système de Fontaine de Vaucluse. De ce fait, il est aisé de d'installer du matériel de mesure à un pas de temps assez fin, d'aller relever ces données et de prélever des échantillons relativement souvent et sans aucun équipement de spéléologie.

Ainsi, les points B et D ont été équipés, depuis février 2005, d'un multimètre mesurant la conductivité et la température à un pas de temps de 1 heure, et de deux capteurs de pression (sondes « diver »), nous donnant par soustraction de l'une par rapport à l'autre le débit de l'écoulement à un pas de temps de 5 minutes. Nous avons aussi à disposition un fluorimètre de terrain du type GGUN-FL30 d'Albilla SARL (cf. Annexe 1), prêté par le département Géosciences de l'Université de Franche-Comté depuis novembre 2002, mesurant la fluorescence du couple « excitation-emission » (350 nm ; 427 nm), $I_{f(350-427)}$, de la matière organique naturelle, à un pas de temps de 15 minutes (Figure II-14).

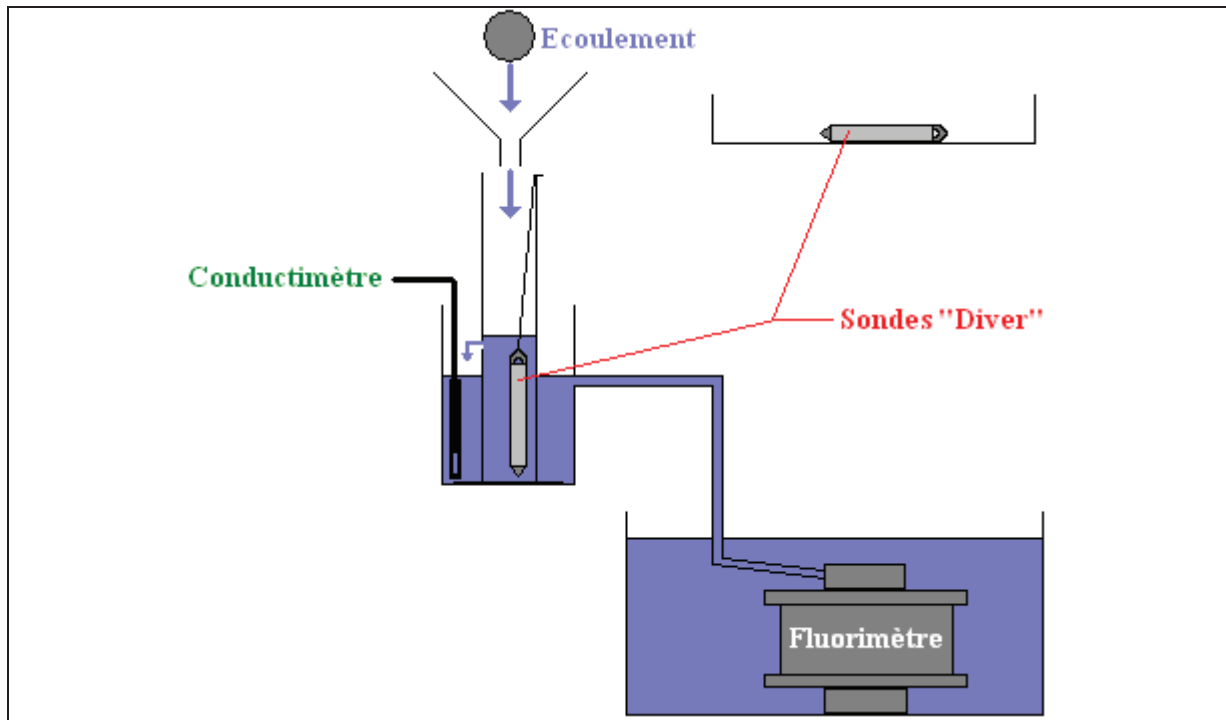


Figure II-14 : Schématisation des installations au niveau des points B et D

En surface, nous avons placé trois plaques lysimétriques, d'une surface d'environ 850 cm², nous permettant de récolter le percolat des trois types de sol rencontrés sur le secteur d'étude (à savoir le rendosol (PE2), le lithosol sous un « îlot » de végétation arbustive (PA) et le lithosol sous couvert herbacé (PE1)). Le percolat est obtenu grâce à un arrosage artificiel d'eau distillée, présentant une conductivité de 2.5 µS/cm et un COT inférieur à 0.1 mg/L, jusqu'à l'obtention d'un échantillon de 500 mL.

Notre suivi de terrain s'est donc effectué sur près de deux ans et demi de décembre 2005 à avril 2008. D'une manière générale, la fréquence des prélèvements est bimensuelle pour les écoulements souterrains et Fontaine de Vaucluse, et mensuelle pour les percolations de sol.

II.3 Caractérisation hydrogéochimique des écoulements du LSBB

Afin de faire du LSBB un site test pour le traçage naturel, il nous est indispensable de bien connaître les différents types d'écoulement rencontrés, ainsi que leur temps de séjour moyen.

II.3.1 *Méthodes d'analyses hydrogéochimiques*

II.3.1.1 Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques sont mesurés sur le terrain lors de l'échantillonnage. Le matériel utilisé est un pH-conductimètre WTW MultiLine P3, mesurant le pH, la température et la conductivité (température de référence à 25 °C). Les valeurs de conductivité ont une précision de ± 1 $\mu\text{S/cm}$. Les mesures de températures sont à $\pm 0,1$ °C, et les valeurs de pH sont données à $\pm 0,05$ unités pH.

II.3.1.2 Anions

L'échantillonnage pour l'analyse des anions a été effectué dans des flacons en polyéthylène de 150 mL et conservés à 4 °C. Pour tous les échantillons, l'alcalinité totale (AlcT) a été mesurée dans un premier temps sur le terrain par dosage volumétrique (trousse Hach) puis vérifiée en laboratoire par dosage à l'acide sulfurique H_2SO_4 , à N/50 et calculée à partir de la méthode de Gran (Michard, 1989). Nous supposons dans cette étude que l'alcalinité totale et l'alcalinité carbonatée (équivalente à $[\text{HCO}_3^-]$ pour des pH proches de 7) sont équivalentes, et donc que l'alcalinité non carbonatée (déterminée par un dosage inverse à la soude NaOH N/50) est négligeable. Cette hypothèse a été vérifiée sur quelques échantillons où l'alcalinité non carbonatée représente moins de 3 % de l'alcalinité totale. Pour des échantillons présentant des concentrations en bicarbonates de 200 mg/L, cela représente tout de même près de 6 mg/L. Les autres anions (principalement Cl^- , NO_3^- et SO_4^{2-}) ont été analysés par chromatographie ionique en phase liquide à l'aide d'un appareil DIONEX DX120.

Les erreurs sur les mesures, établies par Garry (2007) (Tableau II-2), ont été obtenues par répétition de $n = 43$ étalons. L'erreur $E_{90\%}$ retenue pour chaque élément correspond à l'intervalle de confiance à 90 % suivant une loi de Student à $(n-1)$ degré de liberté.

Elément	mg/L	E _{90%} (mg/L)	E _{90%} (%)	n
F ⁻	8	0.3	4	43
Cl ⁻	20	1.2	6	43
NO ₂ ⁻	8	0.3	4	43
Br ⁻	4	0.1	4	43
NO ₃ ⁻	20	0.8	4	43
PO ₄ ³⁻	20	0.9	5	43
SO ₄ ²⁻	20	1.0	5	43

Tableau II-2 : Erreurs de mesure sur les anions [Garry (2007)]

En ce qui concerne nos échantillons, aucun ne contient de F⁻, de NO₂⁻, de Br⁻ ou de PO₄³⁻. Nous ne discuterons donc pas de l'impact de ces analyses sur nos échantillons. Par contre, pour les analyses en ions chlorures, dans l'ensemble nos systèmes présentent des concentrations moyennes autour de 4 mg/L, nos mesures auront donc une incertitude de ± 0.25 mg/L. Pour les nitrates, les écoulements de la zone non saturée ont une moyenne globale située autour de 1.3 mg/L, la précision des mesures sera donc de ± 0.05 mg/L (4.3 mg/L pour la Fontaine de Vaucluse soit une précision de ± 0.2 mg/L). Enfin pour les sulfates, les données moyennes variant de 2.5 mg/L à 12 mg/L, les incertitudes oscilleront entre 0.12 et 0.6 mg/L. Les erreurs dont nous parlons sont du type analytique, toutefois d'autres sources potentielles d'erreurs ne sont pas à exclure comme au moment de l'échantillonnage, cependant nous ne pouvons la quantifier.

II.3.1.3 Cations

Les cations ont été prélevés dans des flacons en polyéthylène de 50 mL et conservés à 4 °C. Les analyses en cations (calcium Ca²⁺, magnésium Mg²⁺, sodium Na⁺, potassium K⁺) ont été effectuées par absorption atomique de flamme avec un spectromètre type VARIAN 640.

Les erreurs sur les mesures, établies par Garry (2007) (Tableau II-3), ont été obtenues par répétition de n = 35 étalons, avec les concentrations suivantes : [Na⁺] = 2 mg/L, [K⁺] = 5 mg/L, [Ca²⁺] = 10 mg/L et [Mg²⁺] = 10 mg/L. L'erreur E_{90%} retenue pour chaque élément correspond à l'intervalle de confiance à 90 % suivant une loi de Student à (n-1) degré de liberté.

Elément	mg/L	E _{90%} (mg/L)	E _{90%} (%)	n
Na ⁺	2	0.1	5	35
K ⁺	5	0.1	2	35
Ca ²⁺	10	0.2	2	35
Mg ²⁺	10	0.2	2	35

Tableau II-3 : Erreurs de mesure sur les cations [Garry (2007)]

Comme pour les anions, nous allons regarder l'impact des incertitudes des mesures pour des eaux dont les concentrations sont équivalentes à celles analysées sur nos échantillons. Pour des eaux dont la concentration en calcium est d'environ 80 mg/L, les incertitudes appliquées de 2 %, représentent moins de 2 mg/L. En ce qui concerne le magnésium dont les concentrations oscillent entre 0.7 et 6 mg/l, les incertitudes varient donc de 0.01 à 0.12 mg/L. Pour le sodium, les concentrations oscillent autour de 2 mg/L avec une incertitude de 0.04 mg/L, et enfin pour le potassium présentant des valeurs de 0.3 mg/L, les incertitudes qui lui sont associées, oscillent autour de 0.006 mg/L (ce qui n'est pas détectable par nos appareils).

II.3.1.4 Carbone Organique Total (COT)

Les échantillons pour l'analyse en COT ont été prélevés dans des échantillons en verre brun de 30 ml, stabilisés avec du chlorure mercurique et conservés à 4 °C. Ces flacons et les bouchons avec pastille de bakélite ont été préalablement nettoyés à l'acide nitrique N/10 et rincés trois fois à l'eau distillée avant d'être chauffés à 550 °C pendant 6 heures [Batiot (2002)].

Le COT a été mesuré à l'aide du TOC Analyser Model 700 de BIORITECH. L'analyse se fait en deux phases à haute température (≈ 180 °C). Le carbone minéral est éliminé par ajout d'un acide fort et le carbone organique transformé en CO₂ gazeux par ajout d'un oxydant. Le CO₂ est ensuite analysé par un détecteur infrarouge non dispersif, qui convertit la masse de CO₂ en masse de COT. La précision est de ± 0.05 mg/L [Batiot (2002)].

II.3.2 Synthèse de l'étude des écoulements de la zone non saturée

II.3.2.1 Description et caractérisation des différents écoulements du LSBB

Une première distinction peut être faite par la position des écoulements dans le système karstique. En effet, les études géophysiques et géomorphologiques, menées par Maufroy *et al.* (2008), ont montré une fracturation gravitaire ou karstique due à l'érosion de surface à une profondeur variant de 10 à 40 m. En effet, au niveau du profil sismique de la Figure II-15, la roche en surface présente des zones d'éboulis, et de la terre/argile est visible entre les dalles de roche compacte. L'aspect du terrain, typiquement du calcaire remanié sur une forte pente, est compatible avec une vitesse réduite des ondes P en surface, sur les quelques premiers mètres de profondeur. Le point D, situé à 35 m de profondeur, se trouve donc à la base de cette zone très remaniée du système, ce qui explique la difficulté d'interprétation des données hydrochimiques.

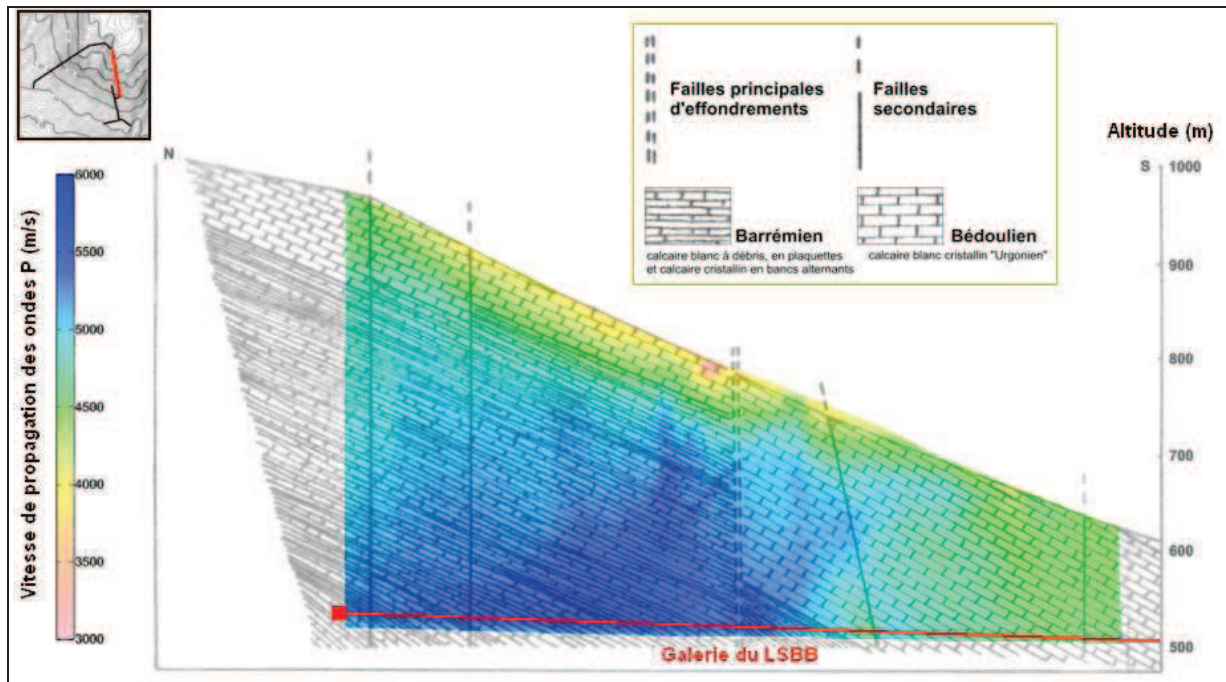


Figure II-15 : Profil géophysique de la galerie principale du LSBB [Maufroy *et al.* (2008)]

L'étude des relations magnésium – carbone organique total [Garry *et al.* (2008)], faisant intervenir deux traceurs du temps de transit de l'eau au sein de l'encaissant [Batiot *et al.* (2003a)], a permis de différencier trois grands types d'écoulements parmi ceux suivis dans la galerie, le premier comprenant les écoulements A et B, le deuxième l'écoulement GAS et le troisième étant défini par les écoulements C et D. Le premier groupe défini par de fortes concentrations en magnésium et de faibles concentrations en COT caractérise des eaux à long temps de séjour, assimilables à des écoulements de type « capacitifs ». Le deuxième groupe est quant à lui défini par des eaux à forte concentration en matière organique et très faible en magnésium, caractérisant des eaux récentes, donc des écoulements de type « transmissifs ». Ceci est corroboré par le fait que le point GAS est situé à l'intersection d'une faille principale et d'une galerie du LSBB. Et pour finir, le troisième groupe, composé des écoulements C et D, correspond plus à un intermédiaire entre les deux autres, possédant à la fois de faibles concentrations en magnésium et des concentrations en matières organiques comprises entre 1 et 2 mg/l, caractérisant des eaux infiltrées depuis environ deux mois (Figure II-16). Ce troisième ensemble est à prendre de manière tout à fait relative. En effet, ces deux points C et D présentent des fonctionnements hydrodynamiques très différents. L'écoulement C présente des concentrations qui tendent à se rapprocher de celles de l'écoulement GAS et montre une dynamique assez impulsive en réponse aux phénomènes pluvieux, le rapprochant davantage d'un fonctionnement transmissif. Quant à D, son caractère inertiel le rapproche plus d'un comportement de type capacitif et ce malgré ses faibles concentrations en magnésium. Il faut rappeler qu'il s'agit d'un écoulement issu de fracturation de surface, et donc ayant un temps de séjour plus court que des écoulements capacitifs de la zone non saturée au sens strict.

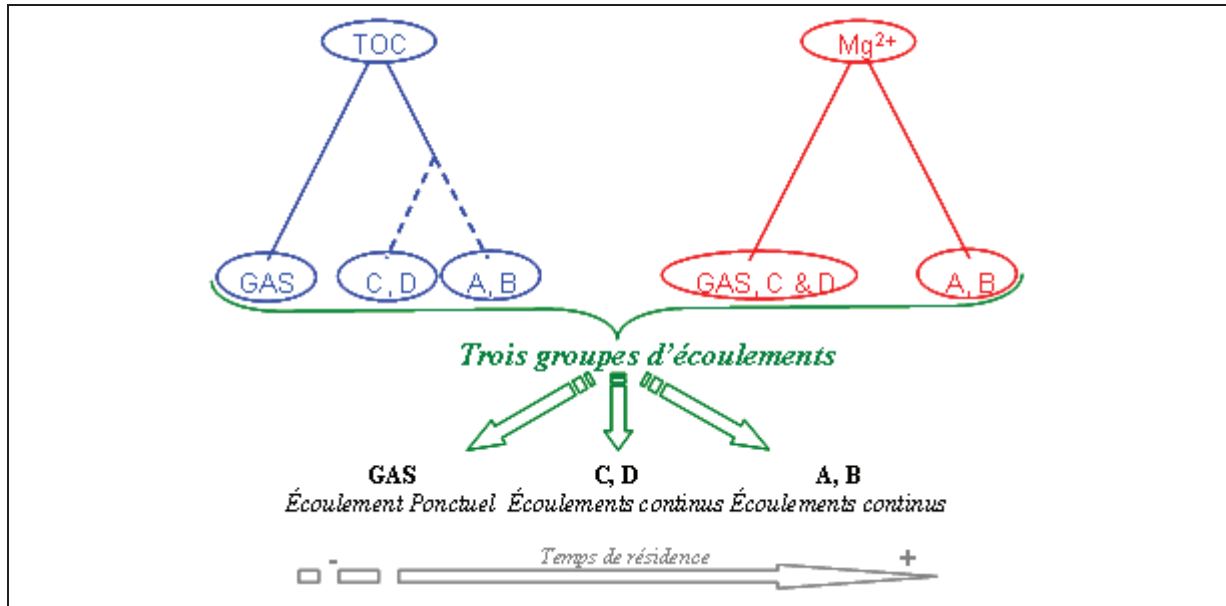


Figure II-16 : Classification des écoulements suivis au LSBB [Garry (2007)]

Il est maintenant intéressant de connaître le fonctionnement hydrodynamique des points du type « capacitif » (les points A et B). La Figure II-17 nous montre l'évolution de la conductivité par rapport à la pluie efficace. Nous pouvons remarquer une variation sinusoïdale de ce paramètre hydrochimique ayant une augmentation simultanée avec l'arrivée d'une période humide. Le fait d'observer ce même phénomène en phase sur la chronique du magnésium nous indique une arrivée d'eau ancienne, poussée par l'onde hydrodynamique des eaux météoritiques nouvellement arrivées, sans qu'il n'y ait un important mélange. Par conséquent, au vu de cette analyse, nous pouvons dire que les écoulements captifs (A et B) ont un fonctionnement se rapprochant d'un type « piston ».

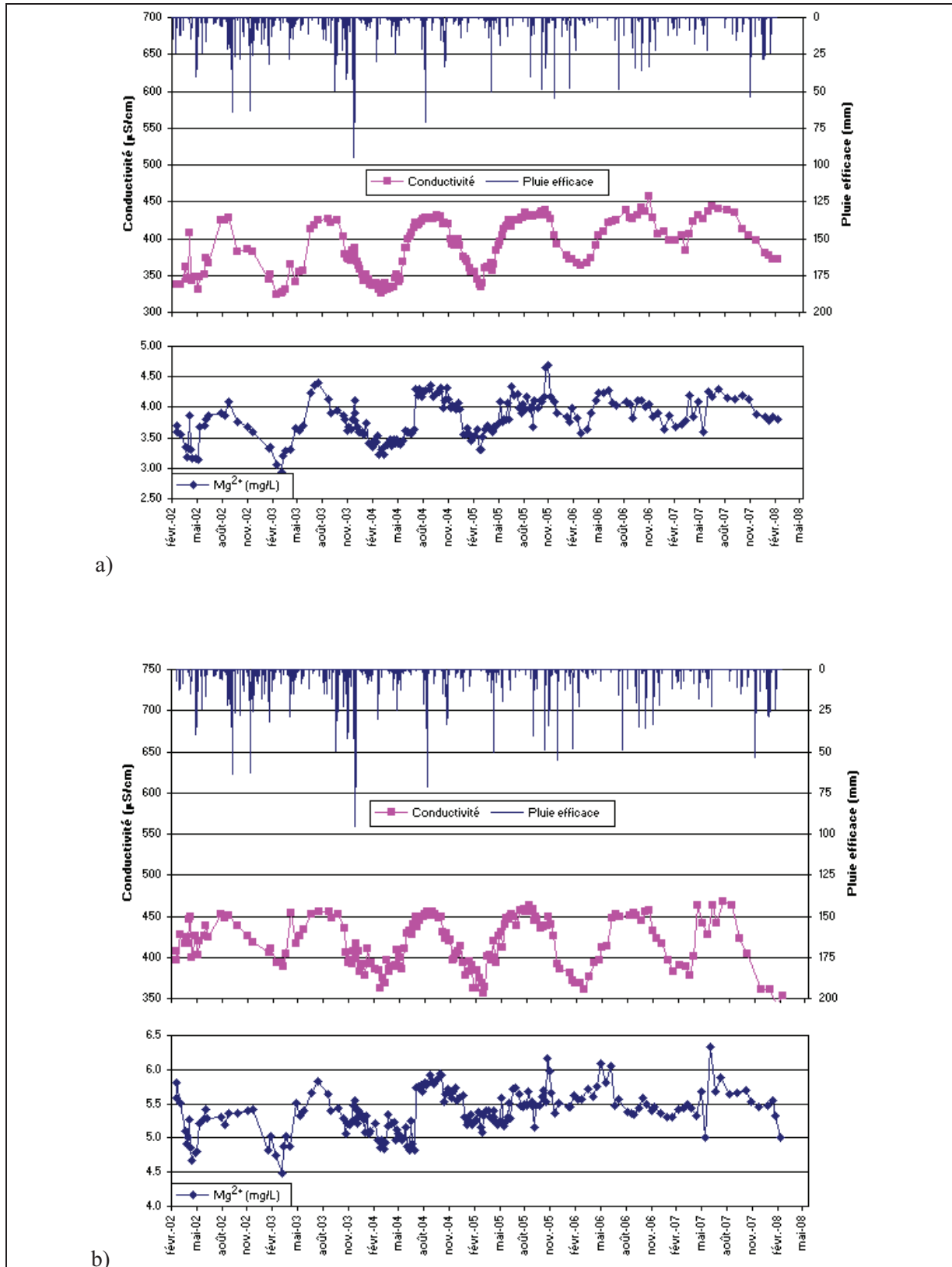


Figure II-17 : Evolution de la conductivité et du magnésium par rapport à la pluie efficace des points A (a) et B (b)

Le LSBB, en recoupant le réseau karstique de façon aléatoire, nous offre donc la possibilité d'étudier un certain nombre d'écoulements élémentaires [Garry *et al.* (2008)] ayant des comportements très différents (Figure II-18). En effet, nous avons tout d'abord un écoulement « épikarstique » (D), correspondant à la vidange diffuse d'un réservoir situé à l'interface de la zone non saturée au sens strict et d'une zone fortement remaniée. Ce type de fonctionnement a été décrit par Trček (2007). Ensuite, nous avons un écoulement purement transmissif (GAS), à l'intersection d'un plan de faille et d'une galerie du laboratoire, répondant de façon impulsionnelle aux précipitations. Il s'agit donc d'un écoulement de type « drain », que l'on retrouve souvent dans les galeries naturelles, représentant l'exutoire d'un réseau très bien karstifié. Puis, nous avons un autre écoulement du même type que le précédent (C), avec toujours une réponse impulsionnelle aux pluies, mais fonctionnant de manière plus diffuse, attestant d'un réseau moins bien karstifié. Enfin, nous avons des écoulements beaucoup plus capacitifs (A et B) de type « fracture », correspondant à une vidange diffuse d'un réservoir perché et ayant un fonctionnement de type « piston », chassant quasiment sans mélange des eaux plus anciennes à l'arrivée de l'onde des eaux météoriques nouvelles.

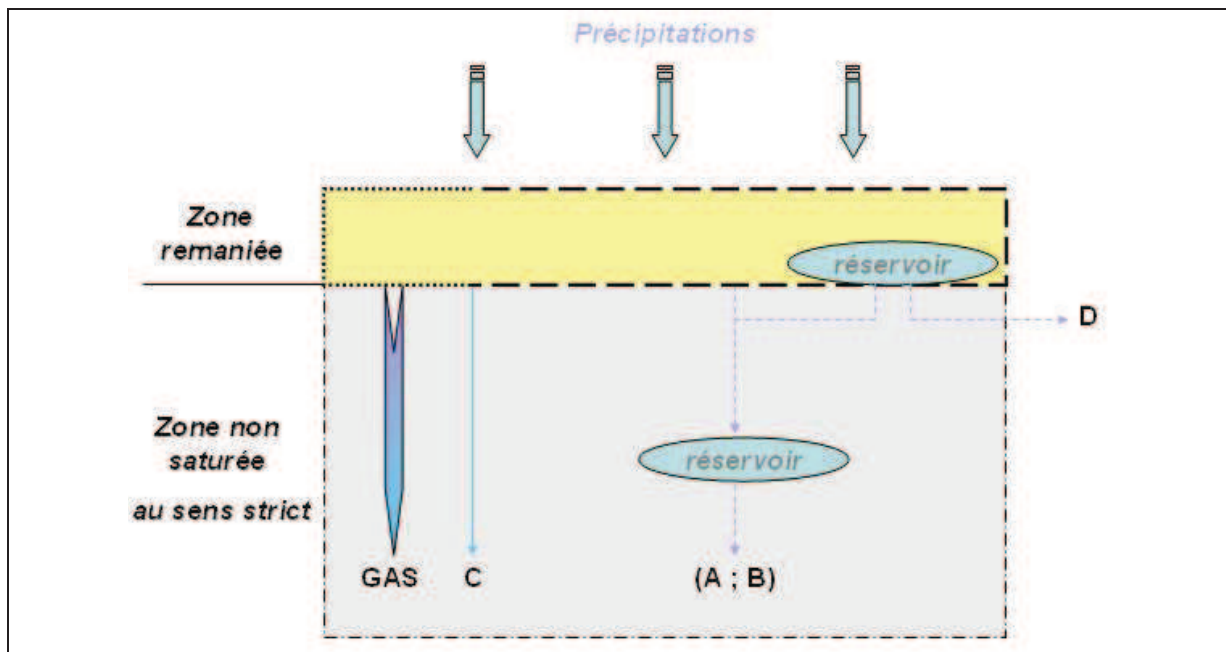


Figure II-18 : Schéma conceptuel des écoulements rencontrés dans les galeries du LSBB

II.3.2.2 Estimations des temps de séjour par l'évolution du COT

Batiot (2002) a essayé de quantifier les cinétiques de dégradation du COT en milieu carbonaté, tout d'abord à l'aide d'une expérience en laboratoire Batiot *et al.* (2000), puis en transposant les résultats sur des systèmes karstiques du Plateau de Vaucluse. Elle a pu ainsi donner une bonne approximation du temps de séjour (T_{ds}) grâce à une formule liant ce dernier à la concentration en COT : $[COT] = a \cdot (T_{ds})^{-b}$. Ce type de relation montre bien une forte décroissance des teneurs en matière organique total (correspondant pour les eaux souterraines aux matières organiques dissoutes) pour arriver à une minéralisation d'environ 70 % en trois mois.

Ainsi, à l'aide de différentes valeurs prises dans l'aquifères de Vaucluse, Batiot (2002) a déterminé les coefficients « a » et « b » de la précédente relation en se basant sur un signal d'entrée moyen de 18 mg/L en COT. Cette valeur correspond, en effet, à la valeur moyenne mesurée sur les lixiviats des plaques lysimétriques PA, PE1 et PE2. Il en résulte donc l'équation suivante :

$$[\text{COT}] = 15.104 \cdot (\text{Tds})^{-0.6067} \Leftrightarrow \text{Tds} = \left(\frac{[\text{COT}]}{15.104} \right)^{\frac{1}{-0.6067}}, \text{ avec } r = 0.989 \text{ et } n = 4$$

A l'aide de cette relation, Garry (2007) a déterminé les temps de séjour moyens des différents écoulements suivis dans la galerie du LSBB. Les résultats sont résumés dans le Tableau II-4 :

	[COT] (en mg/L)			Tds (en j)			[Mg ²⁺] (en mg/L)		
	Min	Moyen	Max	Min	Moyen	Max	Min	Moyen	Max
A	0.63	0.97	1.56	42	92	188	2.93	3.79	4.69
B	0.60	0.93	1.74	35	99	203	4.49	5.39	6.33
C	1.06	1.55	2.62	17	42	80	0.36	0.70	1.01
D	0.78	1.14	2.24	23	70	132	0.44	0.79	1.13
GAS	1.39	2.15	4.21	8	25	51	0.70	0.80	0.96

Tableau II-4 : Estimation des temps de séjour moyens des écoulements suivis au LSBB [Garry (2007)]

Lorsque l'on compare les temps de séjour à la concentration en Mg²⁺, déjà connue comme marqueur des longs temps de résidence [Mudry (1982)], on remarque tout d'abord une certaine complémentarité entre ces deux traceurs, déjà notée par Batiot *et al.* (2003a). D'autre part, les valeurs fortes en Mg²⁺ correspondent bien aux eaux ayant un plus long temps de séjour ; ce qui corrobore encore plus la validité de la relation et l'intérêt que représentent les matières organiques dissoutes pour le traçage hydrogéologique.

CHAPITRE III : Le Potentiel des matières organiques dissoutes pour le traçage hydrogéologique

III.1 Les MOD : un traceur naturel potentiel et ses principales techniques analytiques

III.1.1 Des caractéristiques adéquates d'un bon traceur hydrogéologique

III.1.1.1 Les propriétés indispensables d'un traceur hydrogéologique naturel

Un traceur naturel est un élément, une substance, un corps ou un ensemble de molécules, présent naturellement dans l'eau courante de surface et/ou souterraine, dont les variations dans l'espace et/ou dans le temps peut marquer et différencier une masse d'eau particulière, et permet d'identifier son origine ou de repérer son évolution [Office Québécois de la Langue Française (1990)]. Pour cela, un traceur requiert les propriétés suivantes :

- ◇ une stabilité chimique (peu réactive et récalcitrante vis à vis de la biocénose)
- ◇ une tendance à l'adsorption la plus faible possible
- ◇ une bonne solubilité dans l'eau.

A cela s'ajoute une condition pratique importante, à savoir une limite de détection basse et une méthode analytique associée peu coûteuse. Il est vain de vouloir trouver un traceur qui remplisse à 100 % toutes les exigences. Le traceur idéal n'existant pas, le choix du traceur naturel va dépendre de la problématique, de la situation hydrogéologique et des variations de son signal d'entrée.

III.1.1.2 Caractéristiques des MOD pour le traçage hydrogéologique

Notre problématique est donc d'obtenir un traceur hydrogéologique naturel dans les eaux souterraines karstiques. En effet, les vitesses de transit dans ce type d'aquifère peuvent être très rapides, avec des temps de séjour généralement inférieurs à un an, pour la zone non saturée (nous l'avons montré pour notre secteur dans la partie II.3.2). Jusque là, seuls certains traceurs isotopiques dans des conditions très particulières ont permis la quantification d'un temps de séjour.

Les MOD semblent, par leurs caractéristiques décrites dans la partie I.3, pouvoir combler ce manque. Tout d'abord, nous avons vu que les petites molécules organiques sont assez solubles dans l'eau. De plus, bien que la plupart des MOD présentes dans une eau du sol soient très rapidement dégradées, certaines d'entre-elles (généralement des résidus terminaux de la biodégradation) ont des structures récalcitrantes vis-à-vis de la biocénose. Elles sont, par conséquent, chimiquement plus stables et peuvent donc séjourner assez longtemps dans l'eau souterraine sans être modifiées ou biodégradées [Bahri *et al.* (2008)]. D'autre part, nous avons vu que le sol est le réservoir principal des MOD mobilisables par l'eau infiltrée (cf. I.2.1). Ainsi, les variations de la nature des MOD du sol dans le temps [Guggenberger *et al.* (1994) ; Hongve (1999) ; Batiot *et al.* (2003b)] et le fait que chaque type de sol possède sa propre composition-type en substances organiques mobilisables pourraient marquer et différencier une masse d'eau particulière ; et, par conséquent, nous permettre d'en identifier

l'origine (traçage spatial) ou encore la période d'entrée dans le système (traçage temporel) dans le système.

A partir de cette analyse, il semble que les MOD peuvent théoriquement être utilisées comme un traceur hydrogéologique. Dans le cas où cela s'avère exact dans la pratique, elles pourraient être un outil très puissant nous donnant à la fois des informations sur la délimitation du bassin d'alimentation et sur le temps de séjour. Cependant, le fait que ces molécules organiques aient une tendance à l'adsorption sur les argiles, nous indique qu'elles ne pourront être utilisées que pour la quantification de temps de séjour assez courts. En outre, ce phénomène ne causera qu'une diminution progressive de la concentration de ces molécules dans l'eau souterraine [Pitois *et al.* (2008)], mais en aucun cas, ne modifiera leur nature. Ceci n'est donc pas réellement un inconvénient. En effet, on retrouve la même situation dans le cas des traçages artificiels : la restitution de traceur à l'exutoire n'est généralement pas complète et une fraction dite « perdue » de ce dernier reste piégé dans le système. La seule conséquence est qu'il faut une concentration assez forte en signal d'entrée et/ou un mode de détection suffisamment sensible.

III.1.2 *Les principales méthodes de caractérisation des MOD*

Les méthodes d'étude des MOD sont nombreuses, variées et leurs développements récents ont permis des progrès importants de leurs connaissances. Elles sont regroupées en trois catégories :

- Les méthodes d'analyses chimiques permettant d'obtenir les compositions élémentaires et fonctionnelles ; elles sont décrites de façon détaillée dans plusieurs ouvrages comme ceux de Stevenson (1994) et de Klute (1986).
- Les méthodes partiellement destructives qui ont pour objet de dégrader les substances auxquelles elles sont appliquées et permettre d'obtenir des informations sur leurs parties constitutives. La destruction des molécules est obtenue soit par des réactions chimiques, soit par un traitement thermique.
- Les méthodes physiques, non destructives, qui donnent des informations sur les substances sans devoir nécessairement les extraire ou, si c'est le cas, sans toutefois les transformer et les dégrader.

III.1.2.1 **Les méthodes destructives**

Leur objet est l'obtention de composés chimiques représentatifs des principales structures moléculaires des MOD. Ces composés sont aussi susceptibles de donner des informations sur la végétation et les conditions climatiques qui ont produit ces substances.

III.1.2.1.1 *Méthodes chimiques :*

Les méthodes utilisées sont variées (Tableau III-1). D'une façon générale, les résidus de réactions sont censés représenter le « squelette » moléculaire des MOD. Cependant, l'interprétation

des résultats est délicate pour plusieurs raisons. Les produits de dégradation ne sont pas toujours identifiables et parfois ne donnent aucune information quand les transformations aboutissent à H₂O et CO₂, comme dans le cas de l'oxydation. Les nombreux produits obtenus peuvent ne pas provenir des MOD mais des molécules qui leur sont associées. Cette difficulté peut être partiellement évitée par des traitements préalables destinés à les éliminer [Riffaldi & Schnitzer (1972)]. Enfin, les réactifs très agressifs peuvent donner des composés aliphatiques (alcanes, acides gras, acides carboxyliques) résultant de la destruction de structures aromatiques.

Hydrolyse par	Réduction par	Oxydation par	Autres
- par l'eau en milieux alcalins - par l'eau en milieu acide	- l'amalgame de Na - la distillation en présence de Zn	- Cu-NaOH - nitrobenzène en milieu alcalin - acide nitrique - acide peracétique - NaClO - H ₂ O ₂	- dégradation par NaS - dépolymérisation

Tableau III-1 : Méthodes chimiques destructives d'analyses des MOD [Calvet (2003)]

III.1.2.1.2 Méthodes thermiques :

Il existe deux méthodes thermiques :

- **La méthode thermogravimétrique** : le chauffage à des températures supérieures à 400 °C provoque la destruction des MOD par pyrolyse et entraîne une perte de masse. L'enregistrement de cette perte de masse en fonction de la température, à laquelle l'échantillon étudié est porté, permet d'obtenir des informations sur la structure des substances [Turner & Schnitzer (1962)].
- **La méthode couplant la pyrolyse et la spectrométrie de masse** : Principalement appliquée pour la MO solide, cette technique utilise des gradients croissants d'énergie thermique (chauffage progressif ou instantané) pour rompre les liaisons des plus faibles au plus fortes. Les composés produits sont ensuite analysés à l'aide d'un spectromètre de masse. On peut alors obtenir une certaine « carte d'identité » des substances organiques. Cette méthode ne donne pas d'informations quantitatives sur les composants structuraux et l'interprétation des résultats peut être faussée par des réactions parasites. Cependant, elle possède plusieurs intérêts, notamment le fait qu'elle devrait permettre de distinguer différents constituants organiques et fournir une information pouvant s'apparenter à une « empreinte digitale » des substances organiques [Stevenson (1994)].

III.1.2.2 Les méthodes physiques non destructives

Il existe trois groupes de méthodes non destructives :

- des méthodes spectrométriques permettant d'obtenir des informations relatives aux structures moléculaires (nature des groupes fonctionnels, liaisons, environnements atomiques)
- des méthodes s'adressant aux propriétés colloïdales donnant des informations sur la taille et la forme des particules, les propriétés tensioactives

- des méthodes physico-chimiques se basant sur les propriétés électriques des molécules (charges électriques, polarité) ; c'est le cas, par exemple, des méthodes chromatographiques (sur colonne ionique ou RP-C18).

Les méthodes spectrométriques se sont beaucoup développées en raison d'importants progrès technologiques, tant pour les matériels de spectrométrie que pour les moyens de traiter les informations (traitement du signal). Elles sont basées sur l'utilisation des transitions électroniques, des vibrations intramoléculaires et des propriétés magnétiques (Tableau III-2).

Méthodes	Phénomènes concernés	Informations obtenues
Absorption UV-Visible	Transitions électroniques des électrons de liaison	Caractérisation globale
Fluorescence et Matrice d'Excitation - Emission	Transitions électroniques des électrons de liaison	- Caractérisation globale des fluorophores - Informations sur les liaisons avec les métaux
Absorption Infrarouge et spectroscopie Raman	Vibrations intramoléculaires	Identification des groupes fonctionnels et des structures moléculaires
Résonance Paramagnétique Electronique (RPE)	Propriétés magnétiques des électrons	Détection et caractérisation des radicaux libres
Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	Propriétés magnétiques des noyaux atomiques	Données quantitatives sur les composants structuraux

Tableau III-2 : Méthodes spectrométriques utilisées pour étudier les MOD [d'après Calvet (2003)]

III.1.3 *Choix des méthodes analytiques des MOD pour notre problématique*

Nous venons de voir qu'il existe beaucoup de méthodes analytiques, permettant de caractériser les MOD ou une partie de celle-ci, qui pourraient nous être utile pour l'élaboration d'un traceur hydrogéologique. Tout d'abord, les faibles concentrations de la MOD dans les eaux souterraines (0.5 à 3 mg/L) nous imposent d'utiliser des moyens analytiques sensibles. D'après nos recherches bibliographiques sur les diverses techniques de caractérisation (cf. III.1.2), les méthodes spectrométriques semblent être les plus adaptées à notre problématique.

D'autre part, nous avons vu que les molécules organiques susceptibles de devenir un traceur sont des résidus de la biodégradation et doivent montrer une variation, notamment dans le temps, de leur nature, due à un état de maturation plus ou moins avancé selon les saisons (cf. III.1.1.2). Les seuls composés organiques du sol qui correspondent à ces deux critères sont des substances dérivées de la décomposition de la lignine (ceux de la cellulose étant très rapidement minéralisés ou adsorbés). Elles sont composées de groupements aromatiques, qui ont des propriétés de fluorescence, et de radicaux libres stables intéressants (Figure III-1).

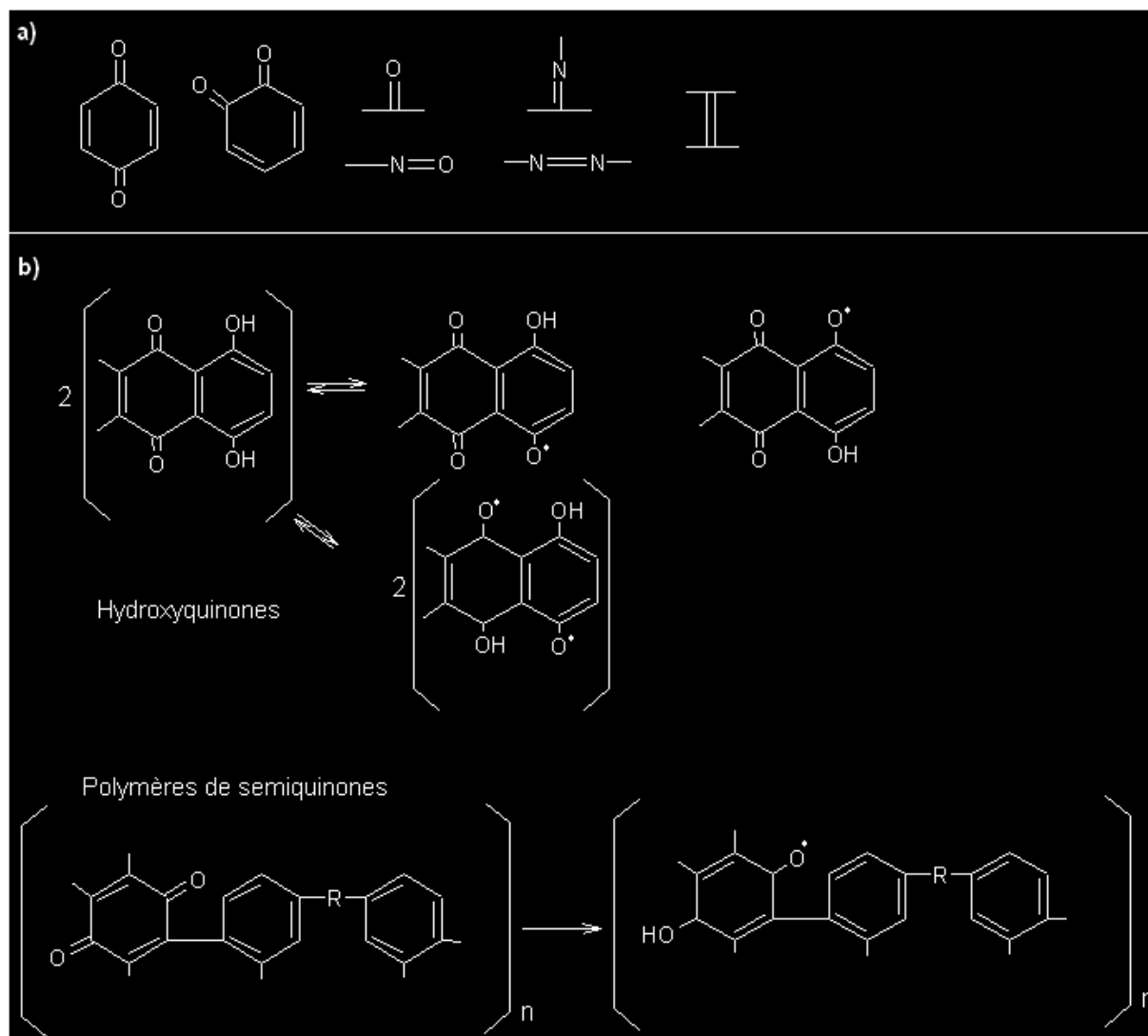


Figure III-1 : Les principaux groupes fluorophores (a) et radicaux libres (b) de la MOD [Calvet (2003)]

En conclusion, les méthodes spectrométriques, les plus adaptées pour répondre à nos attentes, sont la spectrofluorimétrie et la résonance paramagnétique électronique. En effet, en plus d'être extrêmement sensibles, ces techniques analytiques ont, d'une part, prouvé leur intérêt dans la caractérisation des MOD :

- pour la spectrofluorimétrie : Le Coupanec *et al.* (2000) ; Her *et al.* (2003) ; Hunt & Ohno (2007) ; Jiang *et al.* (2008) ; Gonsior *et al.* (2008)
- pour la résonance paramagnétique électronique : Chen *et al.* (2002) ; Flogeac *et al.* (2005) ; González-Peréz *et al.* (2006).

D'autre part, elles présentent l'avantage d'être rapides et peu coûteuses en terme analytique, ce qui est non négligeable dans le cadre d'une possible utilisation opérationnelle des traceurs.

III.2 Présentation des techniques analytiques utilisées

III.2.1 *La spectrofluorimétrie : principes et méthodes*

III.2.1.1 Théorie de la fluorescence moléculaire

L'émission de rayonnements électromagnétiques par les molécules s'appelle la luminescence. Ce terme regroupe la chimioluminescence, la bioluminescence, la phosphorescence et la fluorescence, selon l'origine de l'émission. Pour ces deux derniers, c'est l'absorption de photons qui conduit à l'état excité. Ainsi, la fluorimétrie est une technique d'analyse basée sur la mesure du flux émis par fluorescence (Φ_f), correspondant à l'énergie des photons émis après le retour à l'état initial.

L'énergie totale d'une molécule est la somme des énergies nucléaires, électroniques, vibrationnelles, rotationnelles et de translation. A température ordinaire, la plupart des molécules sont à l'état électronique fondamental et possèdent une faible énergie vibrationnelle et rotationnelle.

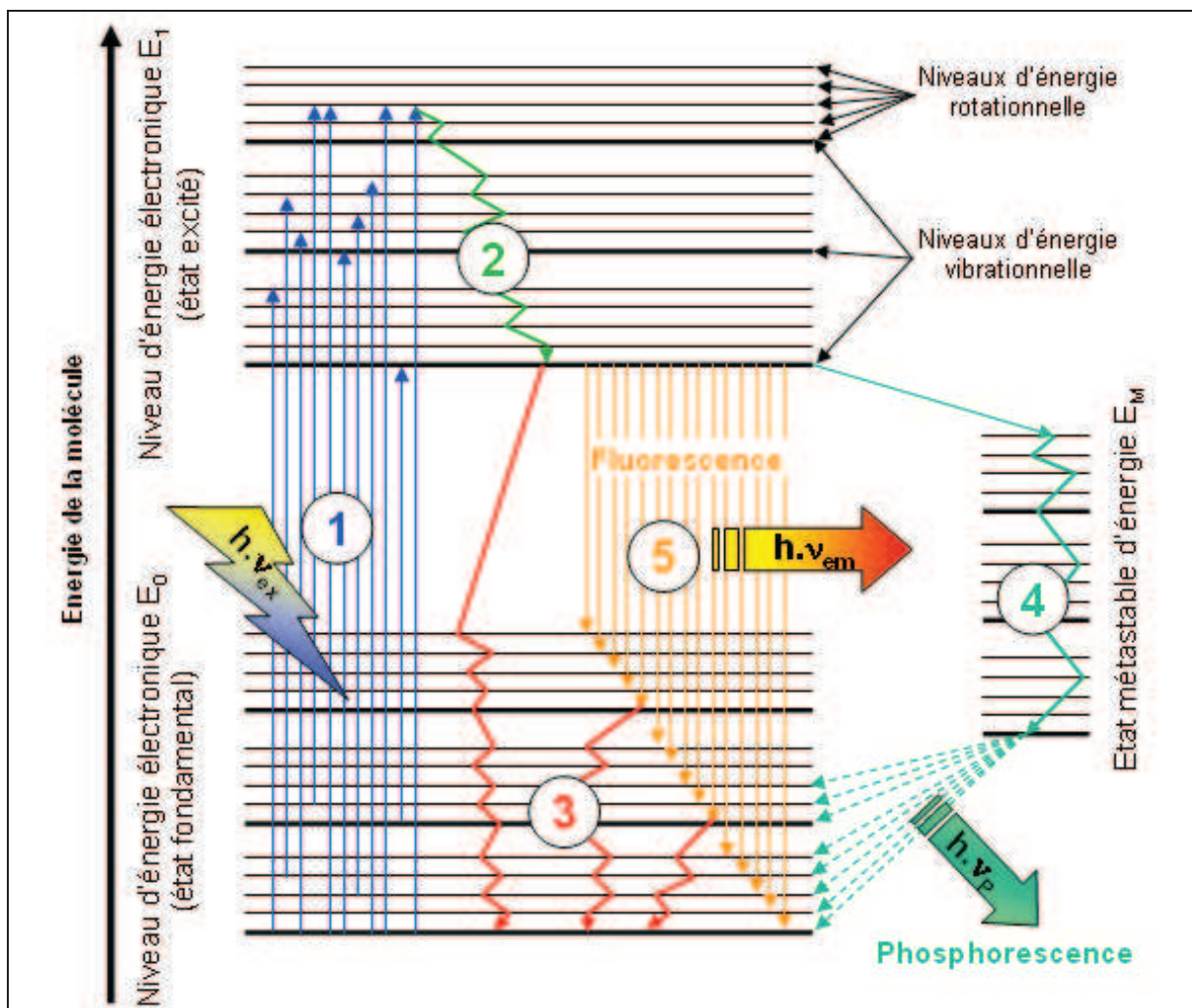


Figure III-2 : Désexcitation de molécules par fluorescence et phosphorescence

L'absorption d'un photon UV-visible, d'énergie $\hbar \cdot \nu_{\text{ex}} = E_1 - E_0$ (où h est la constante de Planck égale à $6.626 \cdot 10^{-34}$ J.s et ν est la fréquence de l'onde lumineuse incidente en s^{-1}), peut provoquer une transition électronique à partir de l'état fondamental d'énergie E_0 vers l'état excité d'énergie E_1 (étape 1, Figure III-2). Très vite, l'énergie vibrationnelle et rotationnelle de l'état électronique excité est perdue au moment de chocs entre molécules de la solution. Cette relaxation conduit donc les molécules au niveau d'énergie le plus bas de l'état électronique excité (étape 2, Figure III-2). De cet état excité, légèrement plus stable, existent trois possibilités de retour à l'état fondamental : la désexcitation non radiative (étape 3, Figure III-2), la phosphorescence (étape 4, Figure III-2) et la fluorescence. Ce troisième mode de désexcitation est un phénomène rare et ne concerne donc pas toutes les molécules. La perte d'énergie qui accompagne le retour à l'état fondamental se fait par émission d'un photon de fréquence ν_{em} (étape 5, Figure III-2). La désexcitation partielle due aux chocs entre molécules et le fait que l'énergie retombe sur un niveau vibrationnel et rotationnel quelconque de l'état électronique fondamental expliquent que l'énergie des photons émis par fluorescence soit plus faible que celle des photons qui ont excité les molécules : ainsi, on a $\nu_{\text{ex}} > \nu_{\text{em}} \Leftrightarrow \lambda_{\text{ex}} < \lambda_{\text{em}}$, avec $\lambda = \frac{c}{\nu}$, où λ_{ex} et λ_{em} sont les longueurs d'onde d'excitation et d'émission en nm et c , la célérité de la lumière ($\approx 3 \cdot 10^{17}$ nm.s⁻¹)

III.2.1.2 Choix du modes d'analyses spectrofluorimétriques

- **Analyses spectrofluorimétriques à simple balayage**

Au début de son utilisation, la spectrofluorimétrie de solutions était effectuée à l'aide de modes à simple balayage.

◇ *Le spectre d'émission* est constitué de l'ensemble des rayonnements émis lors de la désexcitation par fluorescence. Il correspond à l'enregistrement de l'intensité de fluorescence de la radiation émise en fonction de la longueur d'onde, pour une longueur d'onde d'excitation λ_{ex} donnée.

◇ *Le spectre d'excitation* est constitué de l'ensemble des rayonnements qui conduisent à l'état excité à partir duquel se produit la fluorescence. Il correspond donc à la mesure de l'intensité de fluorescence d'une radiation émise de longueur d'onde λ_{em} donnée en fonction de la longueur d'onde d'excitation.

- **Analyses spectrofluorimétriques à balayage multiple**

Avec l'avancement technologique et l'amélioration de la résolution spectrométrique, les spectres d'émission ont pu être observés au cours d'une même analyse à diverses longueurs d'onde d'excitation.

◇ *Les spectres à balayage synchrone* sont obtenus par un balayage synchrone des monochromateurs d'excitation et d'émission. Le premier laisse sortir un intervalle étroit centré

autour de λ_{ex} . Le second laisse sortir un intervalle étroit centré autour de λ_{em} . $\Delta\lambda$ représente la différence entre ces deux longueurs d'onde et est fixé par l'opérateur. Le microprocesseur pilote ensuite la rotation simultanée des deux réseaux en maintenant un écart égal à $\Delta\lambda$ entre λ_{ex} et λ_{em} . Le fluorimètre mesure alors l'intensité lumineuse émise aux différentes λ_{em} . L'allure de ces spectres va dépendre énormément de la valeur de $\Delta\lambda$. Par exemple, un balayage avec un $\Delta\lambda$ petit simplifiera considérablement l'allure des spectres de mélanges ou de substances qui ont des spectres d'émission et d'excitation complexes.

◇ *Les matrices d'excitation-émission (MEE)* ont considérablement affiné la caractérisation des mélanges organiques en solution. Le spectrofluorimètre se cale tout d'abord sur une première longueur d'onde d'excitation λ_{ex} et met en mémoire un premier spectre d'émission. Il ajoute ensuite à λ_{ex} l'incrément programmé et met en mémoire un second spectre d'émission. L'incrément de λ_{ex} et l'enregistrement des spectres se poursuivent aussi longtemps qu'ils ont été programmés. On obtient alors en mémoire une famille de spectres d'émission correspondant à des longueurs d'onde d'excitation graduellement augmentées. Tous ces spectres vont alors apparaître sur un même repère. Chacun sera dans un plan parallèle, mais sa position sur la troisième dimension dépendra de la longueur d'onde d'excitation. Les spectres d'émission apparaîtront donc décalés les uns par rapport aux autres donnant l'impression d'une image en trois dimensions [λ_{em} ; λ_{ex} ; Φ_f] (Figure III-3). Ce type de spectre 3D, ou spectre de MEE, apporte, en plus de ceux des différents spectres d'émission qui ont servi à sa construction, de nombreux renseignements sur les composés fluorescents d'un mélange.

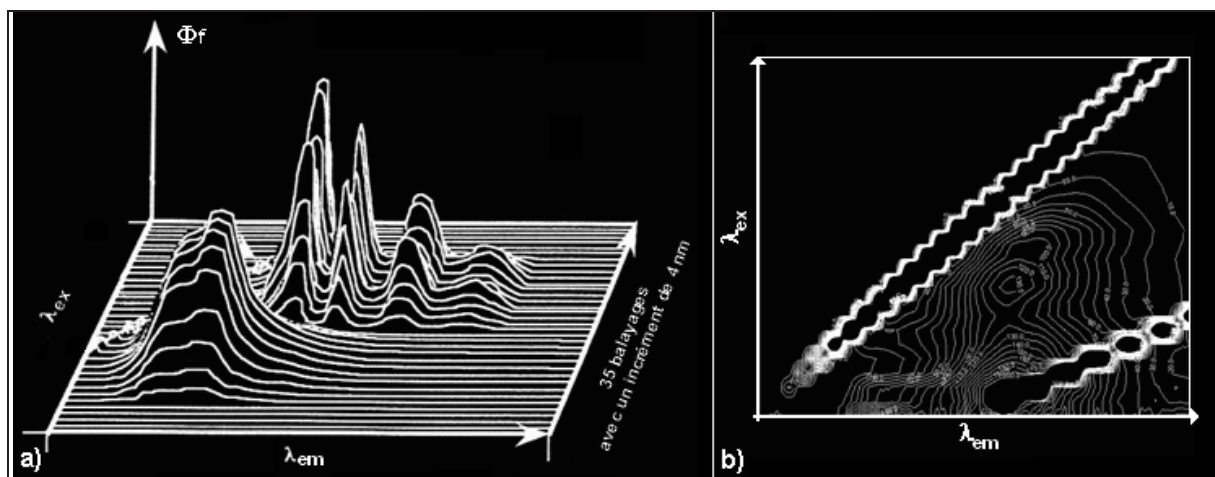


Figure III-3 : Allure du spectre de MEE [sous forme de pics (a), sous forme de courbes de niveau (b)]

En raison des concentrations et de la nature des échantillons étudiés (à savoir des mélanges complexes de substances organiques à des concentrations de COD variant de 0.5 mg/L à 30 mg/L), nous avons choisi d'étudier la fluorescence à l'aide des spectres de MEE. En effet, cette technique très sensible présente l'avantage de nous offrir rapidement une vue globale des fluorophores présents dans

la solution, pour un coût et un volume analytique faible (1 mL suffit). Les paramètres utilisés pour programmer le spectrofluorimètre sont décrits dans le Tableau III-3.

	Début	Fin	Pas
Longueur d'onde d'émission	215 nm	530 nm	0.5 nm
Longueur d'onde d'excitation	215 nm	530 nm	15 nm
Nombre de scan(s)		22	
Vitesse du scan		1200 nm/min	
Ouverture des monochromateurs		10 nm	

Tableau III-3 : Paramétrage du spectrofluorimètre pour obtention des spectres de MEE

III.2.1.3 Méthodes analytiques

III.2.1.3.1 Conditionnement des échantillons

Des échantillons de lixiviats de sols et d'eaux souterraines ont été analysés par spectrofluorimétrie. Ces prélèvements ont été effectués dans les mêmes flacons en verre servant à l'échantillonnage pour une analyse en COT (cf. II.3.1.4). Aucun ajout chimique n'a été fait afin de ne pas détériorer les structures fluorescentes de l'échantillon. Ces derniers ont été conservés à 4 °C dans l'obscurité et analysés dans les plus brefs délais. Les échantillons de lixiviats ont subi en plus une filtration sur filtre de 0.7 µm en fibres de verre (préalablement chauffé à 550 °C pendant 6 heures), afin d'éliminer la partie particulaire du carbone organique, qui est somme toute très faible dans nos échantillons.

III.2.1.3.2 Appareillage et linéarité

Toutes les analyses spectrofluorimétriques ont été réalisées à l'aide d'un spectrofluorimètre LS55 de Perkin-Elmer (Figure III-4), localisé à l'INRA d'Avignon (UMR Climat, Sol et Environnement) jusqu'en 2007, puis à l'INRA de Montpellier (UMR INRA-SupAgro Biogéochimie du Sol et de la Rhizosphère).

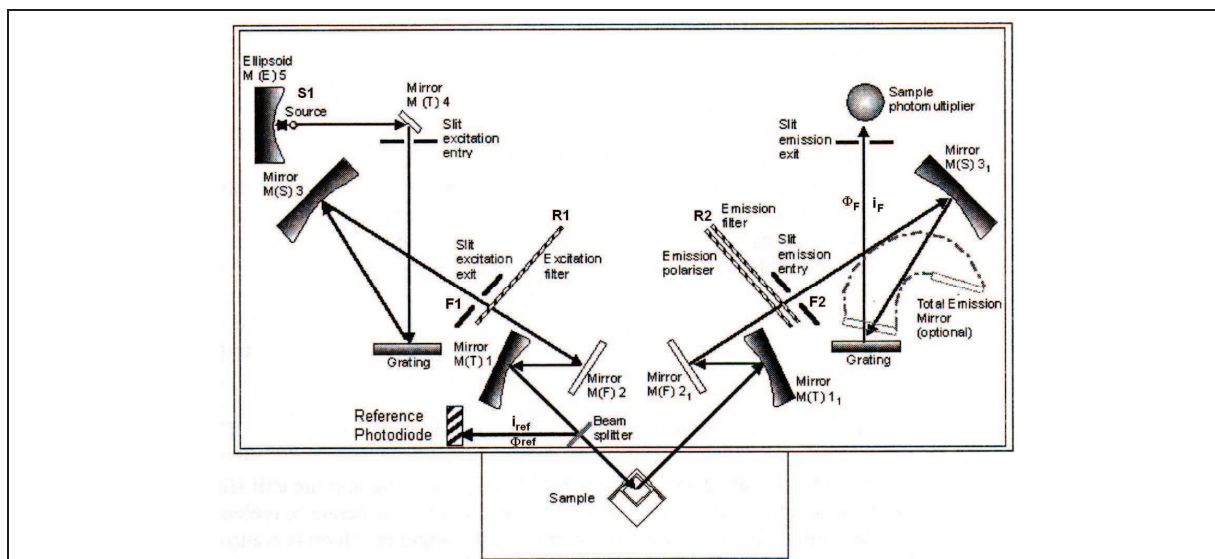


Figure III-4 : Schéma de fonctionnement du spectrofluorimètre LS55 [PerkinElmer-instruments (2000)]

La source S_1 (lampe au Xénon) émet un rayonnement continu qui est dispersé par le réseau R_1 du monochromateur dont la fente de sortie laisse passer un intervalle spectral étroit centré autour de λ_{ex} . Ce faisceau est ensuite divisé en deux par un diviseur de faisceau (miroir semi-transparent) qui forme un faisceau de référence Φ_{ref} qui va frapper le récepteur photométrique de référence (une barrette de diodes) fournissant un signal i_{ref} et un faisceau d'excitation qui se dirige vers la cuve (en quartz, de section carrée et de contenance 1 cm^3). Il provoque une éventuelle fluorescence qu'un monochromateur d'émission recueille à 90° par rapport au faisceau incident. La position du réseau R_2 détermine la longueur d'onde λ_{em} des radiations de flux Φ_f qui frappent le récepteur photométrique de mesure (une autre barrette de diodes) fournissant un signal d'intensité i_f . Les fentes F_1 et F_2 des deux monochromateurs sont réglables selon que l'on veut augmenter ou diminuer la sensibilité et inversement la spécificité de la mesure (pour nos mesures, les fentes sont réglées à 10 nm). Les deux signaux électriques sont numérisés et traités par le logiciel FLWinLab qui en fait le rapport et affiche les résultats.

Pour qu'une analyse spectrofluorimétrique quantitative soit possible, la proportionnalité entre l'intensité de fluorescence Φ_f et la concentration C doit être conservée. Dans le cas de fortes teneurs en substances organiques (et « a fortiori » en fluorophores), on peut observer soit une non-linéarité de la relation croissante $\Phi_f = f(C)$, soit une diminution voire une extinction de fluorescence. Les anglo-saxons parlent de « quenching ». Ce phénomène peut s'expliquer par l'augmentation du nombre de chocs entre molécules, qui favorise les désexcitations non radiatives, et la formation de dimères ou de trimères non fluorescents due à la réaction entre-elles de molécules excitées. Ainsi, la linéarité du spectrofluorimètre doit être vérifiée lors de l'analyse de solutions concentrées (c'est le cas pour les lixiviats de sol). La Figure III-5 montre l'intensité de fluorescence des couples (330 nm ; 440 nm) de lixiviats PA et PE2 ayant subi des dilutions successives. D'après ces tests, la linéarité est maintenue jusqu'à une concentration de 20 mg/L de COD. Ainsi, le cas échéant, les échantillons, présentant une concentration en COD supérieure, ont été dilués pour être dans la gamme de concentration où la précédente relation est linéaire ; puis l'intensité de fluorescence a été corrigée par le facteur de dilution.

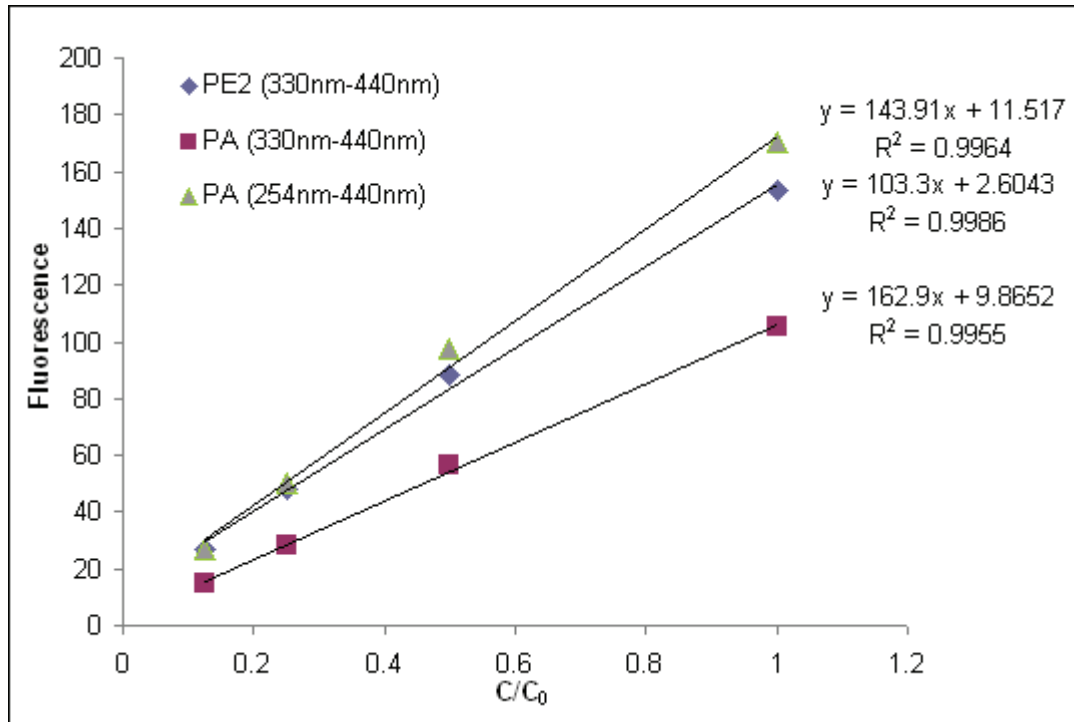


Figure III-5 : Test de linéarité sur des échantillons de sol concentrés

III.2.1.3.3 Corrections des rayonnements parasites

- **Correction du Raman de l'eau**

L'interférence du Raman de l'eau correspond à une diffusion par les molécules du rayonnement d'excitation qui se fait avec modification de la longueur d'onde. Les molécules de solvant étant les plus nombreuses, ce sont elles qui vont être responsables de la quasi-totalité de l'effet Raman. La fréquence du rayonnement émis dépend de celle du rayonnement d'excitation. Dans un spectre d'émission, l'effet Raman se présentera sous forme de bandes de fréquences qui dépendent du solvant et de la longueur d'onde d'excitation. Il sera d'autant plus gênant que le soluté fluorescent sera en faible concentration. Dans notre cas, les données brutes des eaux souterraines doivent nécessairement être corrigées du Raman de l'eau [Senesi *et al.* (1989) ; Coble *et al.* (1993) ; Coble (1996) ; Del Castillo *et al.* (1999) ; McKnight *et al.* (2001) ; Ohno (2002) ; Zepp *et al.* (2004)]. Nous avons donc réalisé une série de dix MEE d'eau Milli-Q (Résistivité = 18 MΩ.cm ; COT < 0.1 mg/L), afin de définir un blanc moyen de l'appareil. Tous les échantillons d'eaux souterraines ont été corrigés à l'aide de ce dernier (Figure III-6).

- **Dispersion de Rayleigh, effet Tyndall et harmoniques**

La dispersion de Rayleigh est une diffusion par les molécules en solution (ou par la cuve elle-même) du rayonnement d'excitation dans toutes les directions sans modification de la longueur d'onde. Elle correspond donc à une réémission de lumière à la même longueur d'onde que la lumière incidente. Elle peut poser problème dans le cas où l'intensité de fluorescence des substances est faible, comparée à la radiation d'excitation. Dans notre cas, les échantillons d'eau souterraine pourraient en être affectés.

L'effet Tyndall correspond, quant à lui, à une diffusion par les molécules en suspension (colloïdes) du rayonnement d'excitation dans toutes les directions sans modification de longueur d'onde. Il se confond donc par ses effets à la dispersion de Rayleigh [Rouessac & Rouessac (1998)]. Dans notre cas, les échantillons lixiviés peuvent en être affectés, malgré leur filtration. Cependant, cela reste négligeable comparé à l'intensité de fluorescence des substances.

Les harmoniques sont des pics de fluorescence qui apparaissent à des longueurs d'onde, multiples de la longueur d'onde d'excitation.

Pour éviter ses derniers rayonnements parasites, l'idéal est de ne pas travailler à des longueurs d'onde proche du rayonnement d'excitation λ_{ex} [en nm] et de ses harmoniques $(k+1)\lambda_{ex}$, $k \in \mathbb{N}^*$. C'est pourquoi, nous nous intéresserons aux massifs de fluorescence, dont la longueur d'onde d'émission est comprise entre $[\lambda_{ex} + 20 \text{ nm}]$ et $[2\lambda_{ex} - 20 \text{ nm}]$ (Figure III-6).

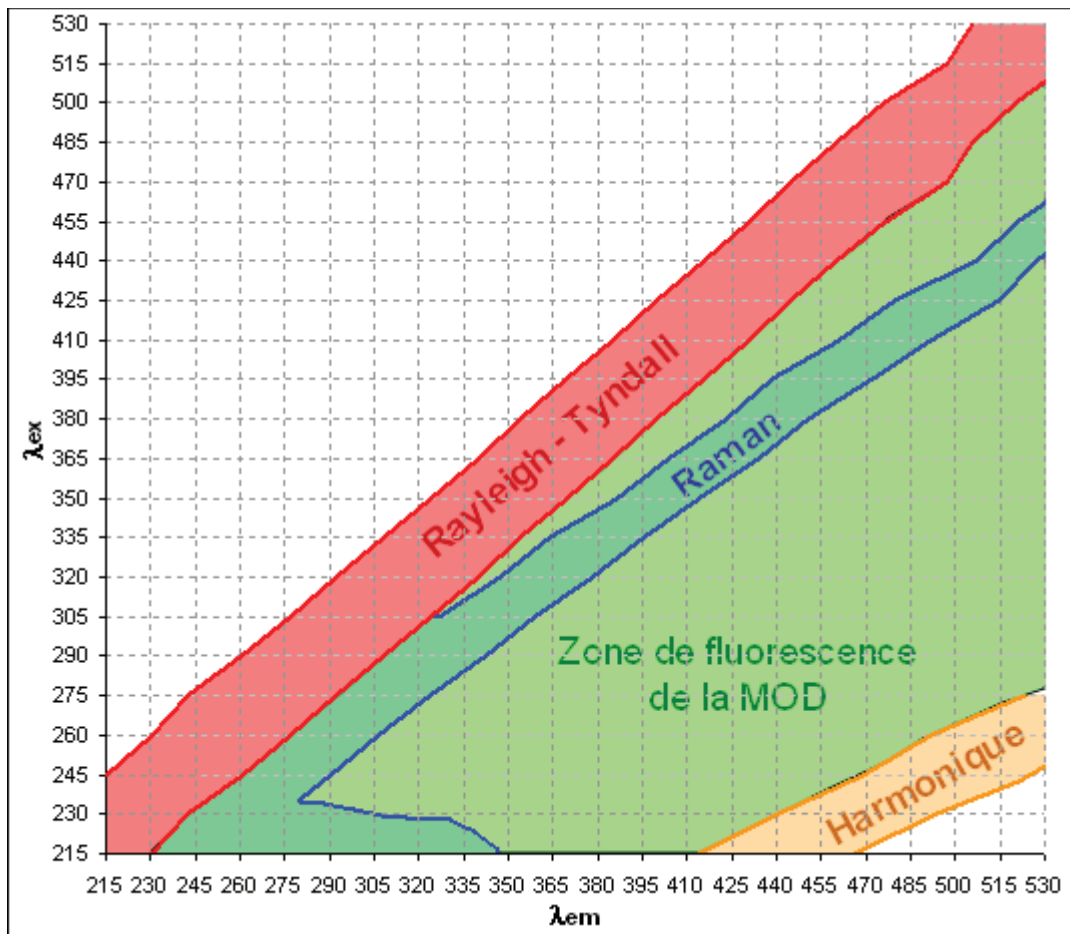


Figure III-6 : Positionnement des rayonnements parasites et de la zone d'analyse dans les MEE

III.2.1.3.4 Méthodes d'interprétation des matrices d'excitation-émission

Depuis que Coble *et al.* (1990) ont utilisé les MEE pour caractériser les MOD dans les eaux marines, de nombreux auteurs ont commencé à définir différentes méthodes d'interprétation de ces spectres. Ces dernières peuvent aller d'une simple description qualitative des massifs mis en évidence (méthode globale), à l'utilisation d'indices de fluorescence ou leur rapport correspondant à un couple

d'excitation-émission bien particulier (indices ponctuels), à une bande d'émission particulière pour une longueur d'onde d'excitation donnée (indice surfacique) ou encore au volume des différents massifs caractérisés (indice volumique).

La méthode globale a permis d'identifier un certain nombre de types de fluorophores à partir de la position relative des massifs de fluorescence dans la MEE. C'est ainsi que de nombreuses nomenclatures de fluorophores (Tableau III-4) ont vu le jour [Coble (1996) ; Marhaba & Lippincott (2000) ; Marhaba *et al.* (2000) ; Parlanti *et al.* (2000)]. Il est donc possible de distinguer les massifs protéiniques à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission courtes, des massifs fulvico-humiques à des longueurs d'onde d'émission plus grandes [Baker (2001)].

Fluorophore Name: (Coble, 1996)	Fluorophore Name: (Parlanti <i>et al.</i> , 2000)	Fluorophore Name: (Marhaba <i>et al.</i> , 2000; Marhaba and Lippincott, 2000)	Fluorophore type	Ex/Em wavelength (nm) at max fluorescence intensity	Author
A	α'	Hydrophobic acid fraction (HPOA)	Humic-like	237-260/400-500	
C	α		Humic-like	300-370/400-500	
M	β		Marine Humic-like	312/380-420	
B	γ	Hydrophobic neutral fraction (HPON)	Protein-like (Tyrosine-like)	225-237/309-321 and 275/310	
T	δ	Hydrophobic base fraction (HPOB) Hydrophilic acid fraction (HPIA) Hydrophilic neutral fraction (HPIN)	Protein-like (Tryptophan-like)	225-237/340-381 and 275/340	
Chlorophyll a				431/670	(Moberg <i>et al.</i> , 2001)
Chlorophyll b				435/659	(Moberg <i>et al.</i> , 2001)
Naphthalene			XOM—landfill leachate	220-230/340-370	(Baker and Curry, 2004)
			Fluorescent whitening agent	260/430 260/540 400/460	(Westerhoff <i>et al.</i> , 2001)

Tableau III-4 : Nomenclature des fluorophores aquatiques [Hudson *et al.* (2007)]

Les méthodes suivantes ont été empruntées au mode d'interprétation des spectres à simple balayage. Les indices ponctuels sont généralement des rapports entre une intensité de fluorescence maximum et la concentration en MOD [on peut citer comme exemple la fluorescence relative de Zsolnay *et al.* (1999) (Figure III-7)] ; soit entre deux intensités de fluorescence de deux couples excitation-émission donnés [on peut citer l'exemple de l'indice de fluorescence de Zsolnay *et al.* (1999), des rapports entre les maxima des massifs de fluorescence identifiés, comme $\frac{\alpha'}{\alpha}$, $\frac{\beta}{\alpha}$ et $\frac{\gamma}{\alpha}$ de Parlanti *et al.* (2000), ou encore le BIX de Parlanti & Vacher (2005)].

Les indices surfaciques sont plus rares. Ce sont des rapports entre surfaces du spectre d'émission, bornées à différentes longueurs d'onde d'émission. Dans la littérature il existe le HIX de Zsolnay *et al.* (1999) qui est décrit comme le rapport de surfaces $\frac{H}{L}$ du spectre d'émission à 254 nm de longueur d'onde d'excitation (Figure III-7), où H correspond à l'ensemble des molécules fluorescentes dont les longueurs d'onde d'émission se situent dans le quart supérieur de celles encadrant le massif de fluorescence global, et L, dans quart inférieur. L'avantage de ces types d'indice

par rapport aux précédents est que l'on prend en compte non plus une simple intensité de fluorescence, qui n'intègre pas la diversité des MOD, mais un ensemble (ou une famille) de molécules émettant une fluorescence à une longueur d'onde d'excitation donnée. Ainsi le HIX est le rapport entre une quantité de molécules qui possèdent une fluorescence aux grandes longueurs d'onde et une quantité de molécules qui possèdent une fluorescence aux petites longueurs d'onde.

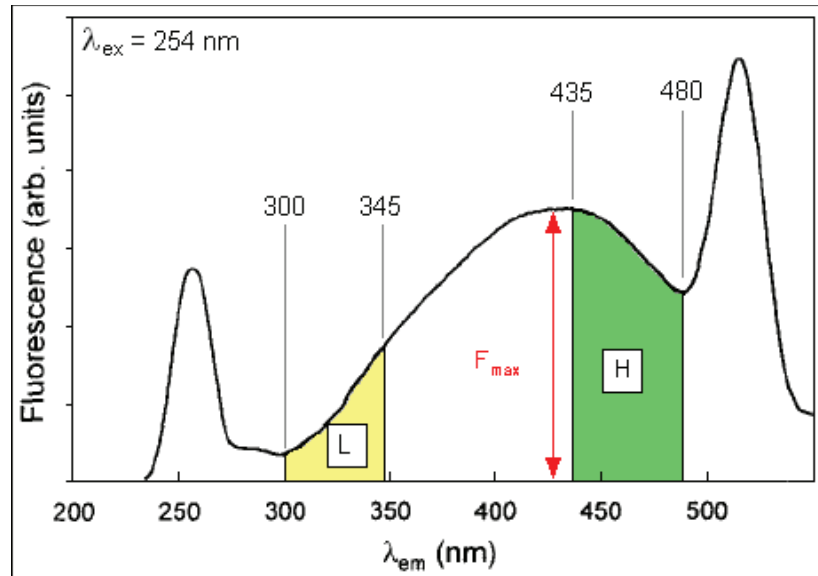


Figure III-7 : Localisation des surfaces et de l'intensité utilisées dans le calcul du HIX et de la fluorescence relative [Zsolnay *et al.* (1999)]

D'autres méthodes visent à décomposer les spectres d'émission en différentes composantes de type log-normal, après un ajustement algorithmique des paramètres des courbes composantes [Djikanović *et al.* (2007) ; Siano & Metzler (1969)].

Toujours dans l'idée d'améliorer la représentativité des indices de fluorescence calculés à partir des MEE, nous pouvons travailler sur des indices volumiques correspondant à des rapports de volumes des massifs identifiés. Actuellement, la littérature ne nous offre très peu d'exemples de ce type [Chen *et al.* (2003)]. Cependant, Bro (1997) a réussi à fournir un outil mathématique capable de décomposer les MEE en différents massifs types. Cet outil se nomme PARAFAC et a fait l'objet de récentes utilisations dans la caractérisation des MOD fluorescents des eaux naturelles : Stedmon & Markager (2005) ; Hall *et al.* (2005) ; Holbrook *et al.* (2006) ; Luciani *et al.* (2008).

III.2.2 La Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) : principes et méthodes

III.2.2.1 Théorie de la résonance de spin électronique : exemple de l'électron libre

Nous nous attacherons ici à exposer de manière simpliste les principaux mécanismes mis en jeu dans la théorie de la RPE. Le phénomène de résonance paramagnétique électronique dépend de la présence pour une espèce donnée d'une couche électronique incomplète, et donc d'électrons non

appariés, le magnétisme de spin disparaissant quand les électrons sont arrangés par paire. Dans le cas simple d'un électron libre, le moment magnétique est $\vec{\mu}_e = -g_e \beta \vec{S}$, où g_e est le facteur spectrométrique de l'électron libre (sans le moment orbital) égale à 2.00232 ; β est le magnéton de Bohr égal à $0.9274 \cdot 10^{-23} \text{ J.T}^{-1}$; et \vec{S} est le spin de l'électron. En effet, l'électron a un mouvement de rotation sur lui-même caractérisé par le nombre quantique de spin \vec{S} dont les valeurs propres $\pm 1/2$ correspondent aux deux orientations que peut prendre le spin dans un champ magnétique : l'une parallèle, l'autre antiparallèle au champ.

Il en résulte deux populations d'électrons, ayant chacun un état quantique différent. Malgré cela, les deux groupes se retrouvent au même niveau d'énergie à l'état fondamental (on parle de dégénérescence) et ne peuvent être distingués. Si un champ magnétique statique \vec{B} , suffisamment élevé, est appliqué, on observe une levée de dégénérescence permettant la séparation des deux populations d'électrons en $(2\|\vec{S}\| + 1)$ niveaux d'énergie : c'est l'effet Zeeman (Figure III-8), qui peut être décrit par l'Hamiltonien simplifié $H = \vec{\mu}_e \cdot \vec{B} = g_e \beta \vec{S} \cdot \vec{B}$. Dans l'exemple d'une population d'électrons libres et pour un champ statique \vec{B}_r , on obtient deux sorte de populations, de niveaux

d'énergie : $E_1 = -\frac{1}{2} g_e \beta B_r$ et $E_2 = \frac{1}{2} g_e \beta B_r$, qui sont quantifiées par la distribution de Boltzmann :

$$\frac{N_{\text{sup}}}{N_{\text{inf}}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}}, \text{ où } N_{\text{sup}} \text{ et } N_{\text{inf}} \text{ sont les populations d'électrons respectivement de spin } \frac{1}{2} \text{ et } -\frac{1}{2} ; k \text{ la}$$

constante de Boltzmann ($1.380658 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$) ; T la température en °K.

Si on applique un champ magnétique oscillant \vec{B}_t ($\ll \vec{B}$) à une fréquence ν_r , en plus et orthogonal à \vec{B} sur ce même électron libre, on peut provoquer des transitions électroniques entre les niveaux d'énergie Zeeman adjacents : c'est le phénomène de résonance et ν_r est la fréquence de résonance donnée par : $\hbar \nu_r = E_2 - E_1 = g_e \beta B_r$

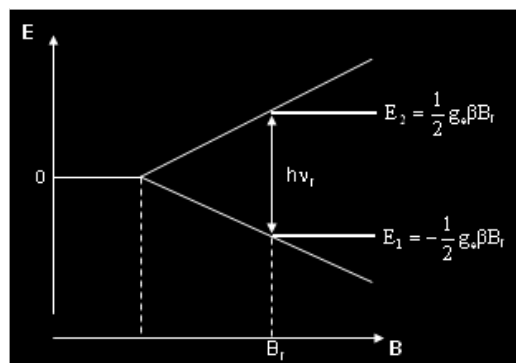


Figure III-8 : Diagramme énergétique de l'effet Zeeman pour un électron libre

Cependant, cette étude est encore insuffisante pour expliquer que l'on a une absorption de quanta d'énergie $h\nu_r$. En effet, dans notre cas d'une population de N électrons libres, si nous

considérons que, sous l'effet d'un champ magnétique statique, il existe uniquement deux niveaux d'énergie, par l'application d'un champ oscillant perpendiculaire au champ statique, les électrons vont passer du niveau inférieur au niveau supérieur et inversement, avec une probabilité égale (P). Ainsi, l'évolution par rapport au temps de la population du niveau inférieur (N_{inf}) peut être décrite par l'équation :

$$\frac{dN_{inf}}{dt} = P(N_{sup} - N_{inf}) = -nP$$

n étant la différence de population entre le niveau inférieur et le niveau supérieur (N_{sup}).

$$\text{Or on a aussi : } \begin{cases} n = N_{inf} - N_{sup} \\ N = N_{inf} + N_{sup} \end{cases} \Leftrightarrow N_{inf} = \frac{N+n}{2} \Leftrightarrow \frac{dN_{inf}}{dt} = \frac{1}{2} \frac{dn}{dt}$$

$$\text{On obtient alors : } \frac{dn}{dt} = -2nP \Leftrightarrow n(t) = n_0 e^{-2Pt}$$

L'absorption d'énergie dans un système correspond à une augmentation de l'énergie totale (E) de ce dernier : $\frac{dE}{dt} > 0$.

$$\text{Or : } E = N_{inf} E_{inf} + N_{sup} E_{sup} \Leftrightarrow \frac{dE}{dt} = E_{inf} \frac{dN_{inf}}{dt} + E_{sup} \frac{d(N - N_{inf})}{dt} \Leftrightarrow \frac{dE}{dt} = -\Delta E \frac{dN_{inf}}{dt} = nP \Delta E$$

Ainsi, pour que nous puissions observer une absorption, il faut que le peuplement du niveau inférieur soit plus important que celui du niveau supérieur (soit $n > 0$), ce qui est le cas à l'instant $t = 0$ (cf. distribution de Boltzmann). Mais après un temps suffisamment long, le peuplement du niveau inférieur devient égal au peuplement du niveau supérieur ($n \rightarrow 0$ quand $t \rightarrow \infty$). Par conséquent, nous ne pouvons plus observer d'absorption ($\frac{dE}{dt} \rightarrow 0$ quand $n \rightarrow 0$). Ce phénomène s'appelle la saturation.

Elle est rarement décelable pour des valeurs habituelles du champ magnétique haute fréquence à la température ambiante, ce qui montre qu'il existe d'autres phénomènes qui provoquent le passage des électrons du niveau supérieur au niveau inférieur. L'ensemble de ces phénomènes est connu sous le nom de relaxation paramagnétique, correspondant à une transition non radiative intrinsèque (relaxation spin-spin) ou due à des interactions avec l'environnement proche de l'électron (relaxation spin-réseau), auxquels on associe un temps de relaxation.

En supposant qu'il n'y ait pas de variation de structure du radical au cours du temps, la largeur ΔB des raies d'absorption est alors une fonction des temps de relaxation et est donc caractéristique de l'espèce paramagnétique au même titre que la fréquence de résonance ν_r (ou le champ de résonance B_r) et l'amplitude du signal d'absorption à volume équivalent.

III.2.2.2 Appareillage et calibration

Le spectromètre est conçu pour répondre à la condition de résonance : $h\nu_r = g_e\beta B_r$. En pratique, on travaille à fréquence fixe et on balaie en champ. Les différentes fréquences disponibles commercialement sont : L (1 GHz), S (3 GHz), X (10 GHz), Q (35 GHz), W (95 GHz) et H (280 GHz). Le spectromètre RPE utilisé au Laboratoire SPrAM du CEA de Grenoble est à bande X avec un électroaimant de 0 à 1.2 T typiquement pour une fréquence de 9-10 GHz (Figure III-9). La source haute fréquence (HF) est une diode Gunn, délivrant une onde à fréquence fixe, stabilisée par un contrôleur automatique de fréquence (AFC). La puissance de l'onde émise est faible (< 250 mW). Un atténuateur logarithmique permet de travailler jusqu'à de très faibles puissances de quelques μ W, afin d'éviter les effets physiques de saturation. En effet, la probabilité de transition (P) entre les niveaux d'énergie étant proportionnelle à la puissance de l'onde électromagnétique, l'équilibre en nombre entre les populations est atteint plus rapidement (rappel : $n(t) = n_0 e^{-2Pt} \rightarrow 0$ quand $P \rightarrow \infty$).

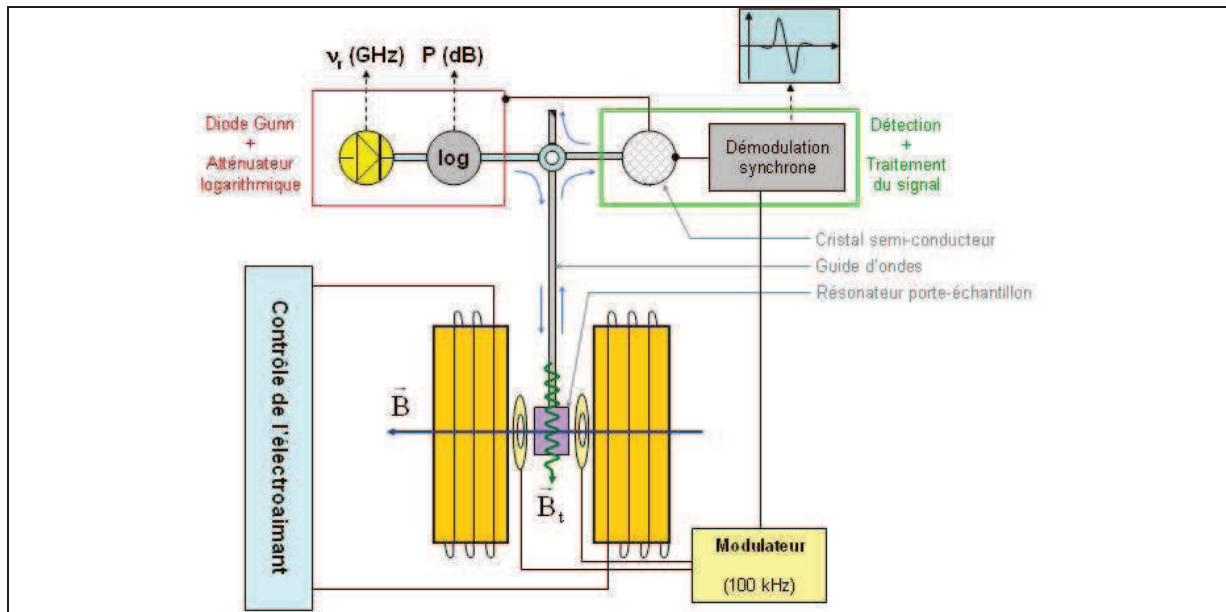


Figure III-9 : Schéma de fonctionnement d'un spectromètre RPE

L'utilisation d'ondes électromagnétiques de 3 cm de longueur d'onde impose l'utilisation de guides d'ondes (Figure III-10a) et de résonateurs (Figure III-10b).

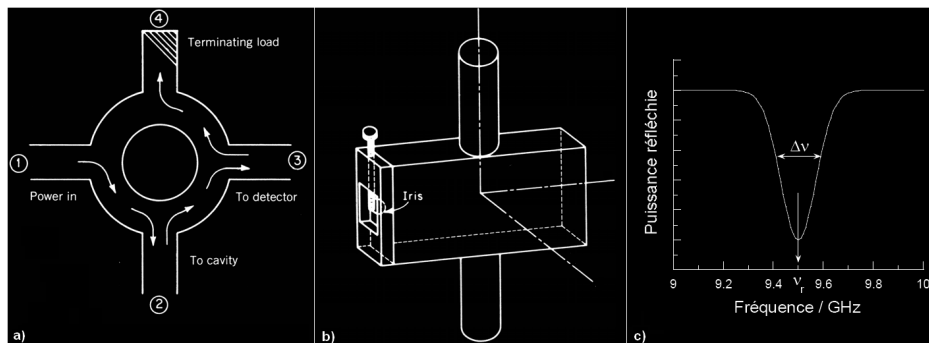


Figure III-10 : Guide d'ondes à quatre voies(a), résonateur porte-échantillon(b) et « dip » du résonateur(c) [Turek (2005)]

La puissance réfléchiée par le résonateur est minimale à la résonance : on observe alors le « dip » de la cavité comme dans la Figure III-10c. On va donc caler le système sur cette fréquence, afin d'accorder le résonateur. Ce dernier a un facteur qualité qui est donné par le rapport de la fréquence de résonance sur la largeur de résonance à mi-hauteur : $Q = \frac{\nu_r}{\Delta\nu}$. Ainsi, plus le facteur de qualité est élevé, plus le résonateur est sensible (mais aussi plus difficile à accorder...). Dans notre cas, il s'agit d'un résonateur rectangulaire double ER 410DR de ®Bruker BioSpin, ayant un facteur qualité de 100 à 300.

Le porte-échantillon est un tube cylindrique en quartz ultra pur (pas d'impuretés paramagnétiques et peu de pertes diélectriques) de 3 mm de diamètre. Afin de s'affranchir des variations du signal dues au volume de l'échantillon, nous avons rempli le tube, pour chaque analyse, de façon à ce que la cavité de mesure du résonateur soit pleine.

En pratique, on amène donc une onde incidente sur le résonateur (à une fréquence proche de 9.8 GHz) et on récupère l'onde réfléchiée, dont l'intensité est très faible (nulle si la cavité est parfaitement accordée), qui est envoyée sur un détecteur (cristal semi-conducteur). On mesure donc la modification de l'accord de la cavité induit par l'absorption d'énergie de l'échantillon à sa fréquence de résonance. Comme le signal de manière générale est faible, on applique une modulation sur le champ magnétique principal et on extrait du détecteur le signal par démodulation à la même fréquence (généralement 100 kHz) de façon synchrone (Figure III-11). Ce filtrage est réalisé pour ces raisons de sensibilité que l'on ne détecte pas l'absorption mais sa dérivée.

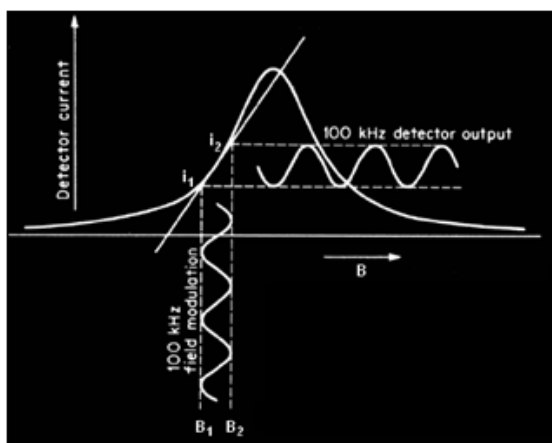


Figure III-11 : Effet de la modulation du champ statique sur le signal d'absorption [d'après Turek (2005)]

III.2.2.3 Méthodes analytiques des spectres RPE

III.2.2.3.1 Conditionnement des échantillons

Toutes les analyses en RPE ont été réalisées sur des échantillons solides. Les prélèvements de sol ont subi une homogénéisation, afin d'éviter que les fragments grossiers entraînent d'importants vides d'air dans le porte-échantillon, qui peuvent altérer le signal RPE. Pour cela, les sols échantillonnés ont été tout d'abord séchés en étuve à une température inférieure à 35 °C, pendant 12h.

Puis, nous avons réalisé un tri pour supprimer les fragments grossiers (restes de végétaux et minéraux grossiers). Ensuite, nous avons procédé à une fragmentation douce à l'aide d'un maillet et un tamisage à 2 mm (Figure III-12).

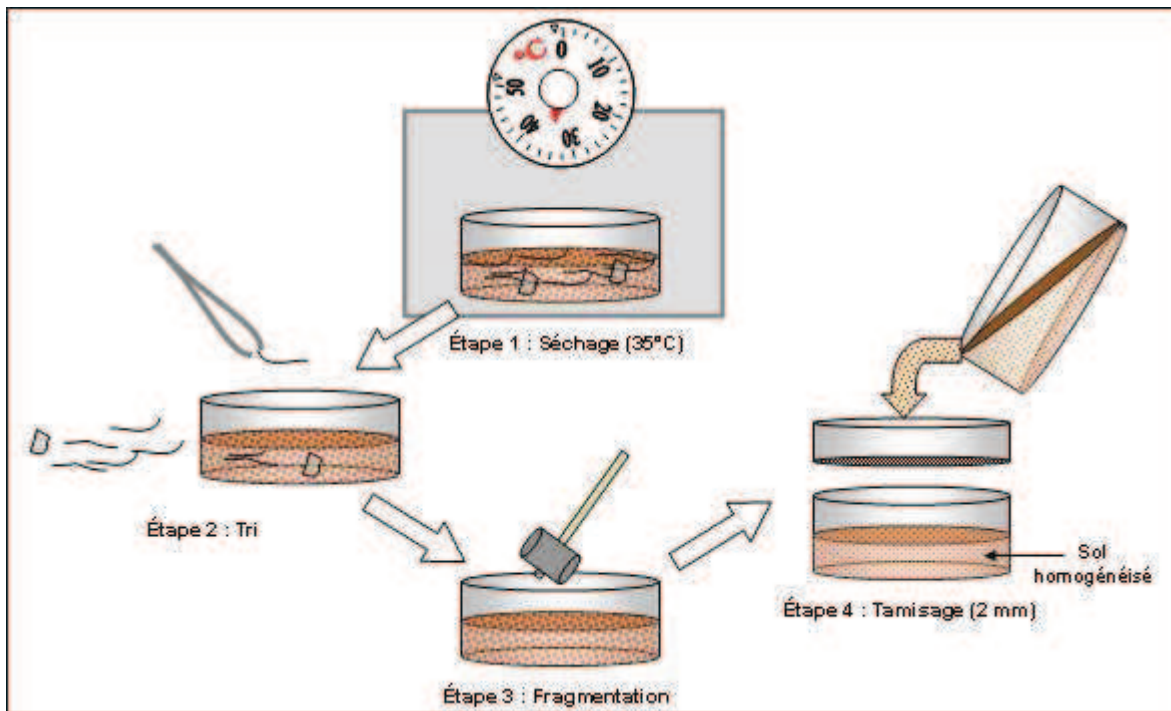


Figure III-12 : Protocole de préparation des échantillons de sol en vue d'une analyse en RPE

Les échantillons d'eau souterraine quant à eux doivent être ramenés à un résidu solide afin de pouvoir les analyser en RPE. En effet, les concentrations extrêmement faibles ne nous permettent pas de réaliser des mesures RPE en solution à cause des perturbations diélectriques dues aux molécules d'eau, qui risquent de bruyter le signal. Le résidu solide peut être obtenu de différentes manières, notamment la lyophilisation et l'évaporation totale à température ambiante, afin d'altérer le moins possible les radicaux organiques. Nous avons donc réalisé des tests afin de choisir la meilleure technique altérant le moins les signaux RPE.

D'après les signaux obtenus en analyse RPE (Figure III-13), il s'avère que le résidu de l'évaporation à température ambiante nous donne un signal distinct comparativement au lyophilisat, pour lequel le signal RPE n'est pas interprétable. Spencer *et al.* (2007) ont déjà montré que la congélation/décongélation des échantillons de MOD entraîne une modification du signal de fluorescence, causée par un changement de la structure des fluorophores. Cette extinction du signal RPE pourrait donc être expliquée par une modification de la structure des espèces paramagnétiques. Nous avons donc choisi de travailler sur les résidus d'évaporation à 35 °C, obtenus à partir de 10 L d'eau souterraine, cette technique de concentration semblant être la moins agressive vis-à-vis de la structure des espèces paramagnétiques. Ce protocole d'évaporation à température ambiante a été testé sur d'autres échantillons d'eau souterraine et a donné des résultats tout à fait cohérents [Pépin-Donat *et al.* (2010)].

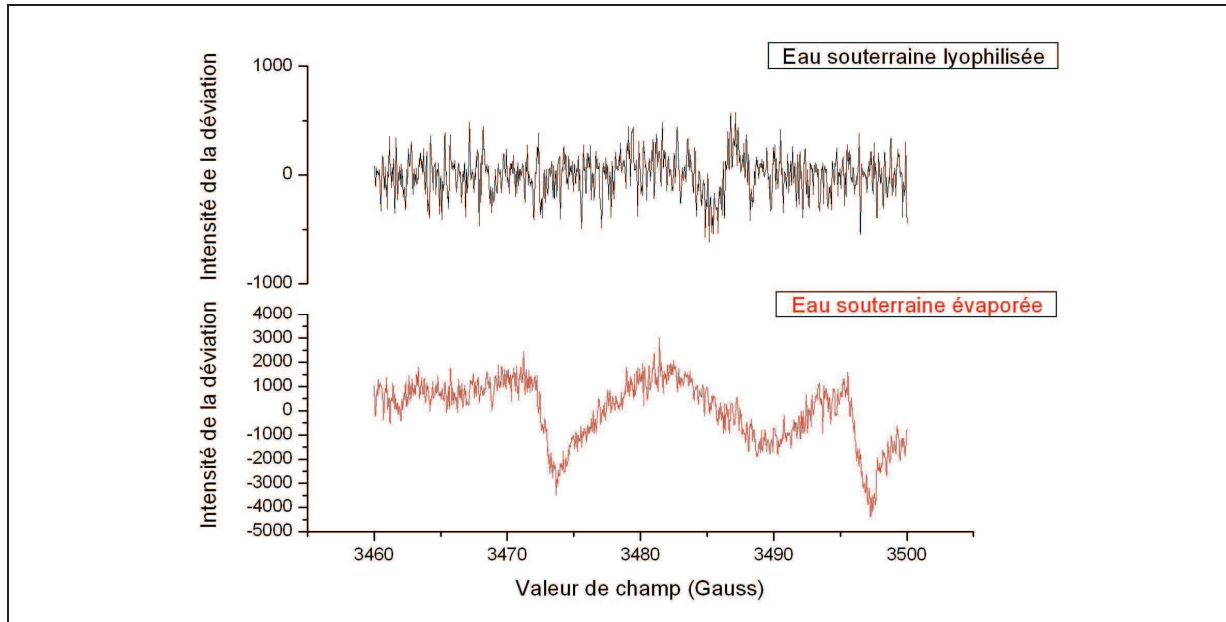


Figure III-13 : Comparaison des signaux RPE d'un lyophilisat et d'un résidu d'évaporation d'une eau souterraine observés à une atténuation de 10 dB, un gain de 10^5 et un module de 0.8

III.2.2.3.2 Signification et interprétation des spectres RPE

Du fait de l'utilisation d'une modulation à acquisition du signal, le spectre RPE obtenu est la dérivée de l'absorption résonante. A partir des équations de Bloch, on peut montrer que la représentation graphique de cette puissance absorbée peut être décrit par une courbe soit lorentzienne, en général pour des échantillons solides, soit gaussienne. Compte tenu de la signification physique du signal d'absorption, chaque espèce paramagnétique sera caractérisée par les paramètres suivants (Figure III-14) :

- ◇ l'amplitude pic-à-pic (A_{pp}), qui nous renseigne sur une quantité relative de l'espèce paramagnétique
- ◇ la largeur de raie pic-à-pic (ΔB_{pp}), nous renseignant sur la nature de l'espèce paramagnétique
- ◇ la position en champ de la résonance (nous permettant de déterminer le facteur g), qui nous renseignent aussi sur la nature de l'espèce paramagnétique.

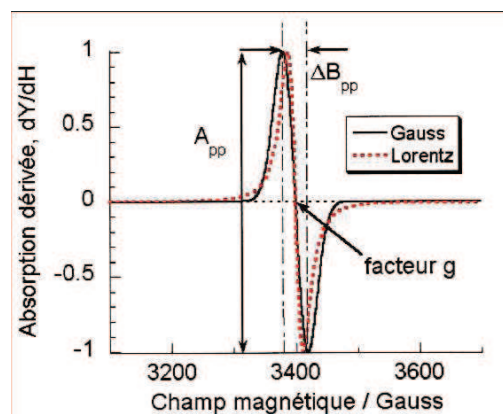


Figure III-14 : Forme des courbes obtenues et paramètres mesurés [Turek (2005)]

Cependant, dans notre cas, il est possible que le signal obtenu soit plus complexe à cause de la présence de plusieurs espèces paramagnétiques. Ainsi, il nous faut extraire du spectre brut, l'ensemble des raies qui le composent par déconvolution. Pour cela, nous avons simulé les spectres expérimentaux, afin d'obtenir les caractéristiques de chaque raie, qui compose le signal RPE obtenu. La Figure III-15 montre l'allure d'un spectre RPE d'un échantillon et sa décomposition en deux raies de ΔB_{pp} différentes, telles que (A) = (B) + (C). Enfin, la littérature nous apprend que le radicaux de type semi-quinone présents dans les matières organiques naturelles sont caractérisés par un facteur g compris entre 2.0028 et 2.0055, ainsi qu'une largeur de raie pic à pic inférieure à 7 G [Pépin-Donat *et al.* (2010)].

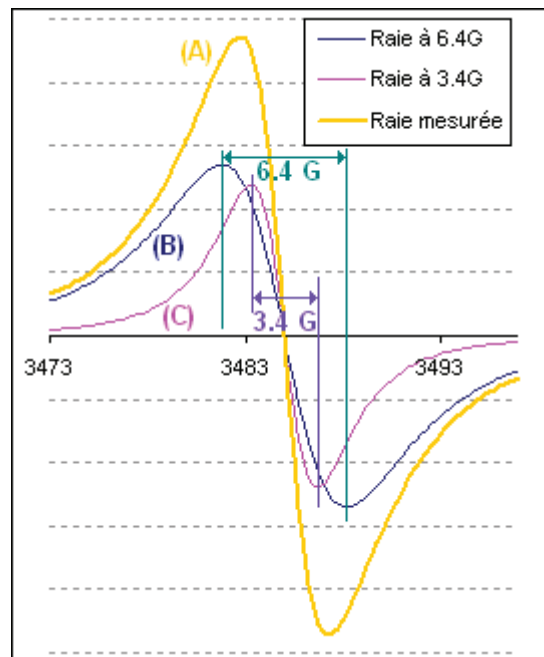


Figure III-15 : Exemple d'une décomposition de spectre RPE

III.3 Caractérisation du potentiel traceur « MOD »

Nous allons donc appliquer ces différentes méthodes de caractérisation de la MOD à notre site d'étude, en gardant toujours en tête l'objectif de ce travail, à savoir le développement de méthodes de traçage hydrogéologique à partir des substances organiques dissoutes. Nous avons vu dans la partie II.1.2.2, que la seule origine possible des MOD présents dans les écoulements souterrains est le sol pour notre site d'étude. La connaissance du signal d'entrée de notre traceur est importante. C'est pourquoi, nous avons essayé de caractériser, tout d'abord, des molécules ou des familles de molécules présentes dans le sol. Puis, nous avons appliqué les mêmes techniques aux échantillons d'eau souterraine.

III.3.1 Traitement et premières interprétations de la spectrofluorimétrie

III.3.1.1 Variations saisonnières de la nature des MOD du sol : mesures de terrain

Grâce au fluorimètre de terrain GGUN-FL30 (cf. II.2.3), nous pouvons mesurer en continu une plage de fluorescence centrée sur le couple d'excitation-émission 350 nm - 427 nm, pour les écoulements B et D. D'après la nomenclature de Parlanti *et al.* (2000), ce couple se situe au niveau du massif « α » (cf. III.2.1.3.4). Nous avons donc suivi cette intensité de fluorescence, ou plus précisément le rapport entre ce dernier et la concentration en COD (afin de s'affranchir des variations de concentration), pour les lixiviats de sol.

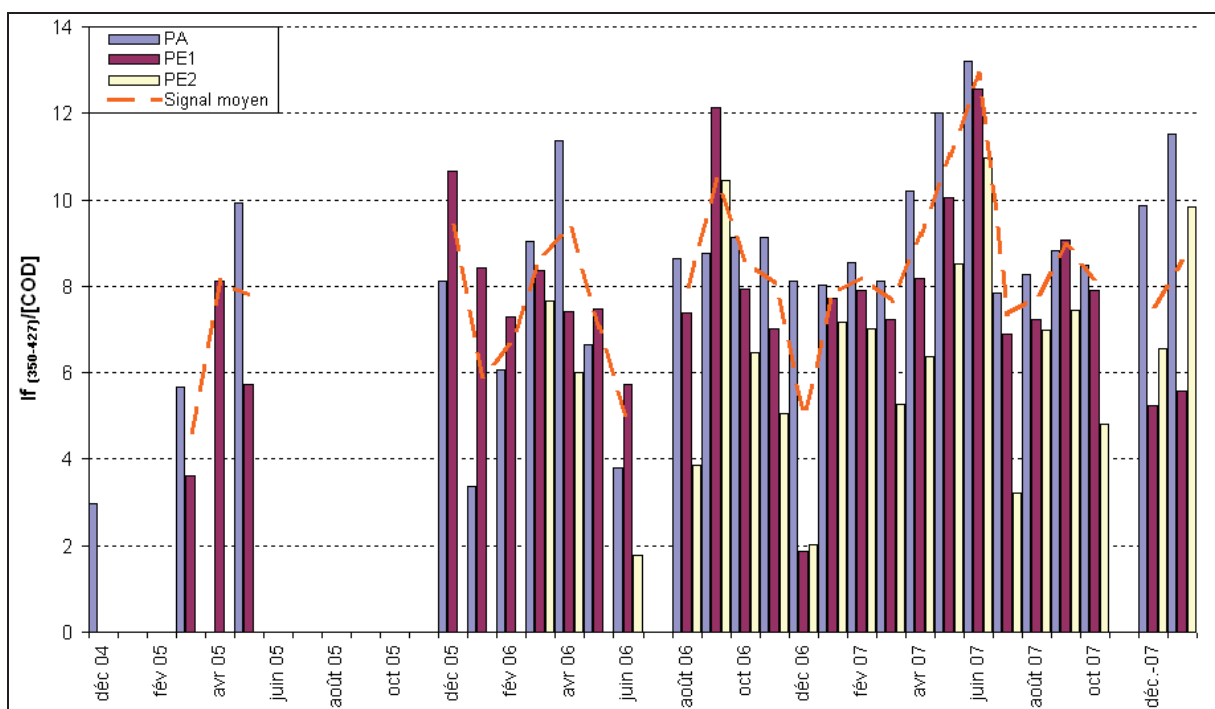


Figure III-16 : Variation de l'indice de fluorescence $I_{f(350-427)}/[COD]$ des lixiviats de sol

La Figure III-16 montre une variation intra-annuelle du rapport $\frac{If_{(350-427)}}{COD}$. En effet, nous pouvons remarquer des périodes de fortes fluorescences entre les mois de mars et mai, et les mois août et octobre. Il s'avère donc que le suivi de cet indice de fluorescence permet d'approcher la variation de la nature des MOD du sol au cours de l'année, qu'avaient décrite Guggenberger & Zech (1993) et Hongve (1999), et que les molécules fluorescentes responsables de cette variation sont bien entraînées par les eaux d'infiltration dans le système. Ainsi, le signal d'entrée de ces molécules devra être pondéré par les pluies efficaces.

III.3.1.2 Caractérisation des massifs de fluorescence des MEE

Malgré des résultats encourageants, le précédent indice ne représente pas l'ensemble des fluorophores pouvant être entraînés dans l'hydrosystème par les eaux d'infiltration. Les MEE vont nous aider à répondre à cette question, en nous donnant les grandes familles de fluorophores présents à la fois dans les sols et dans les eaux souterraines.

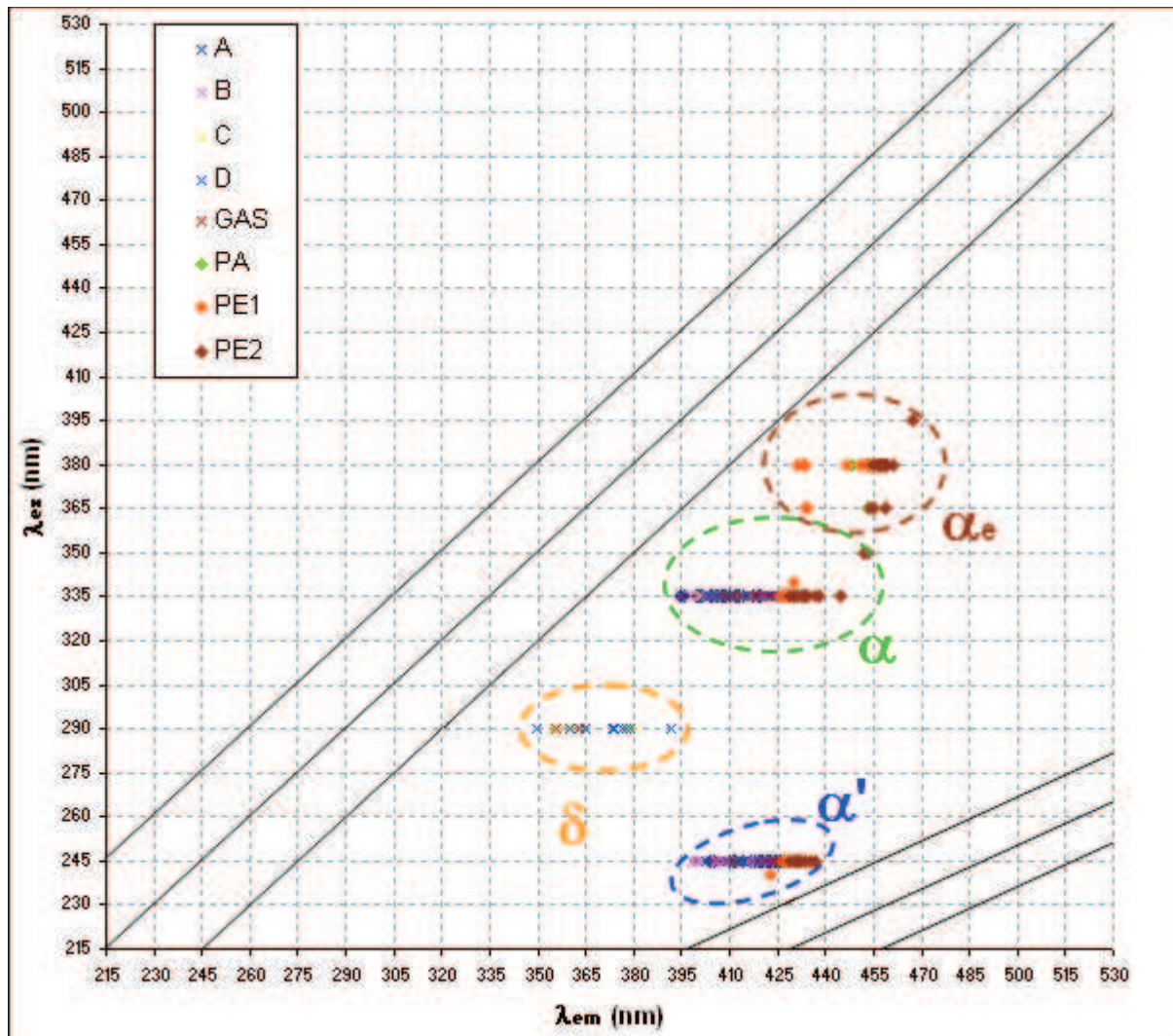


Figure III-17 : Position des maxima de fluorescence des différents massifs rencontrés dans les MEE des sols et des eaux souterraines (n = 215)

Les MEE des sols et des eaux souterraines (Figure III-17) nous permettent de caractériser quatre grandes familles de fluorophores. Certains sont présents aussi bien dans les eaux souterraines et le sol : les massifs α et α' sont représentatifs de molécules de type fulvico-humique. Contrairement à eux, le massif δ , correspondant à des molécules de type protéinique, n'est visible que dans les échantillons d'eaux souterraines. Ceci peut être expliqué par le fait que le massif α , parfois très imposant pour les lixiviats, peut masquer la possible présence du massif δ . D'autre part, ce dernier n'est visible que pour les échantillons du LSBB, possédant les plus courts temps de séjour moyens (GAS, C et D). Ceci tend à nous montrer que les molécules protéiniques, représentées par ce massif δ , ont une durée de vie très courte dans le système. Le massif α_e , le seul n'entrant pas dans la nomenclature de Parlanti *et al.* (2000), n'est présent que dans les lixiviats de sol et se présente toujours sous la forme d'un épaulement du massif α . Miano *et al.* (1988) et Senesi *et al.* (1991) ont montré que plus le degré de polymérisation d'une molécule organique fluorescente est grand, plus ses longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont grandes. Ainsi, l'épaulement α_e peut être assimilé à une MOD à très haut poids moléculaire. Les grosses molécules étant les premières à s'adsorber, il est logique de ne plus les retrouver dans les eaux souterraines. Le Tableau III-5 résume les plages de longueurs d'onde d'excitation et d'émission des différents massifs de fluorescence, ainsi que leur couple (λ_{ex} - λ_{em}) moyen, pour nos échantillons. Dans le cadre de notre problématique, il apparaît clairement que seuls les massifs α et α' ont un intérêt pour le traçage hydrogéologique, puisque ce sont les seuls que l'on peut suivre à la fois dans les sols et les écoulements souterrains.

	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Couples (λ_{ex} - λ_{em}) moyens	Caractérisation
α_e	365-410	425-470	(380-455)	MOD fulvico-humique à haut poids moléculaire
α	320-365	390-460	(335-416)	MOD fulvico-humique
α'	230-260	390-445	(245-423)	
δ	275-305	345-400	(290-345)	MOD protéinique

Tableau III-5 : Plage des longueurs d'onde d'excitation et d'émission des maxima des massifs de fluorescence

III.3.1.3 Variations des spectres de fluorescence 3D

Nous allons maintenant étudier de façon qualitative les variations de l'allure des MEE, suivant la position et les propriétés de l'écoulement dans le système karstique. Dans l'ordre des temps de séjour moyens croissants, nous avons deux écoulements transmissifs (GAS, de type drain et C, plus diffus), un écoulement « épikarstique » (D) et deux écoulements capacitifs (A et B) (cf. II.3.2).

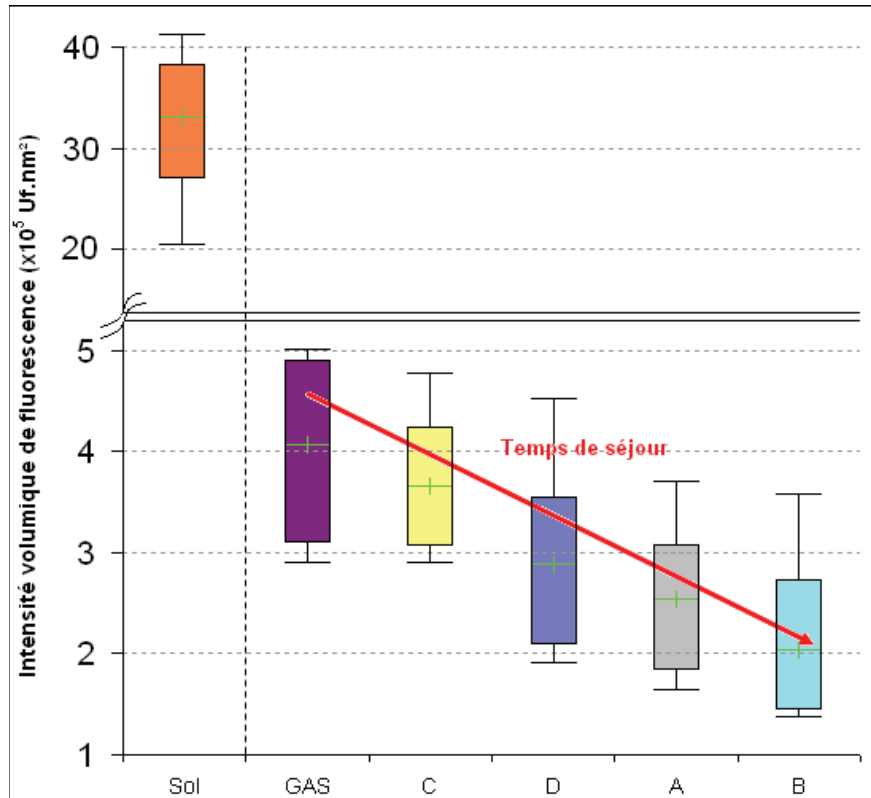


Figure III-18 : Variation de l'intensité volumique de fluorescence moyenne selon le temps de séjour relatif

La Figure III-18 nous montre l'évolution du volume, délimité par la surface des MEE correspondant à la zone de fluorescence des MOD, décrite dans la Figure III-6, et le plan origine (λ_{ex} ; λ_{em}). Nous appellerons ce volume, intensité volumique de fluorescence ($I_v f$) des MOD :

$$I_v f = \iint_{(\lambda_{ex}; \lambda_{em})} I f d\lambda_{ex} d\lambda_{em}$$

Nous pouvons remarquer que plus le temps de séjour de l'écoulement augmente, plus $I_v f$ est faible. D'autre part, la valeur de l'intensité volumique de fluorescence des sols est très nettement supérieure à celle des eaux souterraines. Cette diminution de fluorescence globale est à mettre en parallèle avec la diminution de la concentration des MOD dans un hydrosystème (cf. I.3.1.2).

Les Figure III-19a et Figure III-19b montrent le déplacement progressif du maximum de fluorescence des massifs α et α' , présents à la fois dans les sols et les eaux souterraines. Nous pouvons remarquer que, pour une longueur d'onde d'excitation donnée, la longueur d'onde d'émission correspondant au maximum de fluorescence a tendance à diminuer lorsque le temps de séjour relatif augmente. D'après les conclusions de Miano *et al.* (1988) et de Senesi *et al.* (1991), ceci peut être dû à une diminution de la taille des molécules organiques fluorescentes au cours du temps dans un système hydrogéologique.

En conclusion, les MEE peuvent rendre compte à la fois de l'évolution de la concentration des MOD et de leur dépolymérisation au cours du temps dans un hydrosystème karstique. De ce fait, le déplacement des maxima de fluorescence peut être considéré comme un traceur qualitatif des temps de

séjour, qui plus est plus sensible que le carbone organique total (COT). En effet, Garry *et al.* (2008) avait réussi à différencier les écoulements observés au LSBB selon leur temps de séjour moyen grâce au COT. Cependant, contrairement à ce nouveau marqueur, ce dernier ne permettait pas séparer C de D, et A de B.

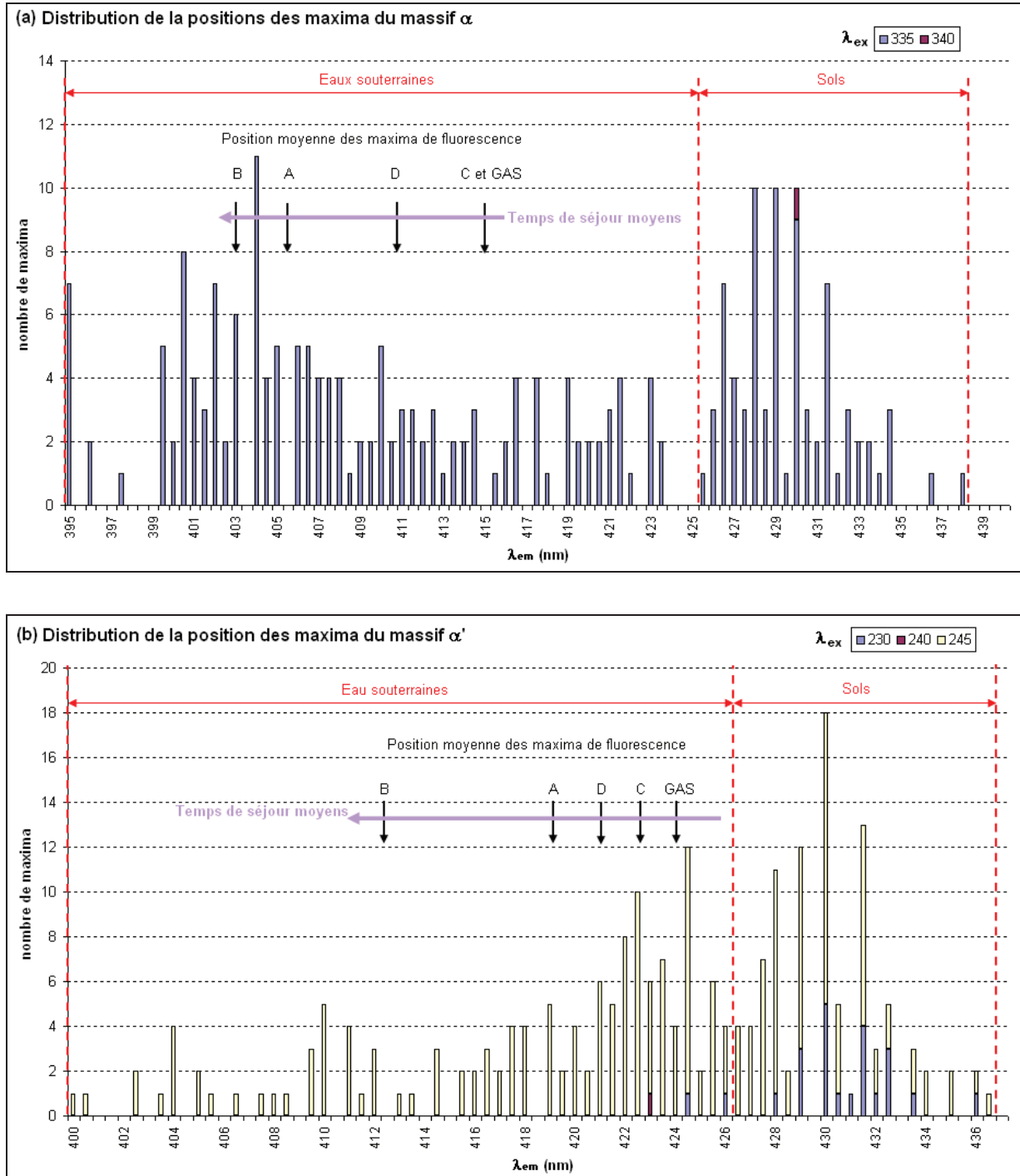


Figure III-19 : Position des maxima de fluorescence des massifs α et α' selon le temps de séjour relatif

III.3.2 *Examen qualitatifs des spectres RPE*

Nous avons pu remarquer que les MEE ne nous permettent pas de différencier nos différents types de sol les uns par rapport aux autres. C'est pourquoi, l'utilisation d'une technique de caractérisation plus sensible comme la RPE peut s'avérer fructueuse.

III.3.2.1 **Une méthode de différenciation fine des types de sol**

La Figure III-20 nous montre les spectres RPE des sols SA, correspondant au sol de la plaque lysimétrique PA, SE1, correspondant au sol de la plaque lysimétrique PE1, et SE2, correspondant au sol de la plaque lysimétrique PE2, prélevés le même jour. On remarque tout d'abord que l'allure générale des courbes de SA et SE1 sont relativement semblables comparativement à celle de SE2. Il apparaît donc que, contrairement aux MEE, la RPE permet bien de différencier le lithosol et la rendzine présents sur le site du LSBB.

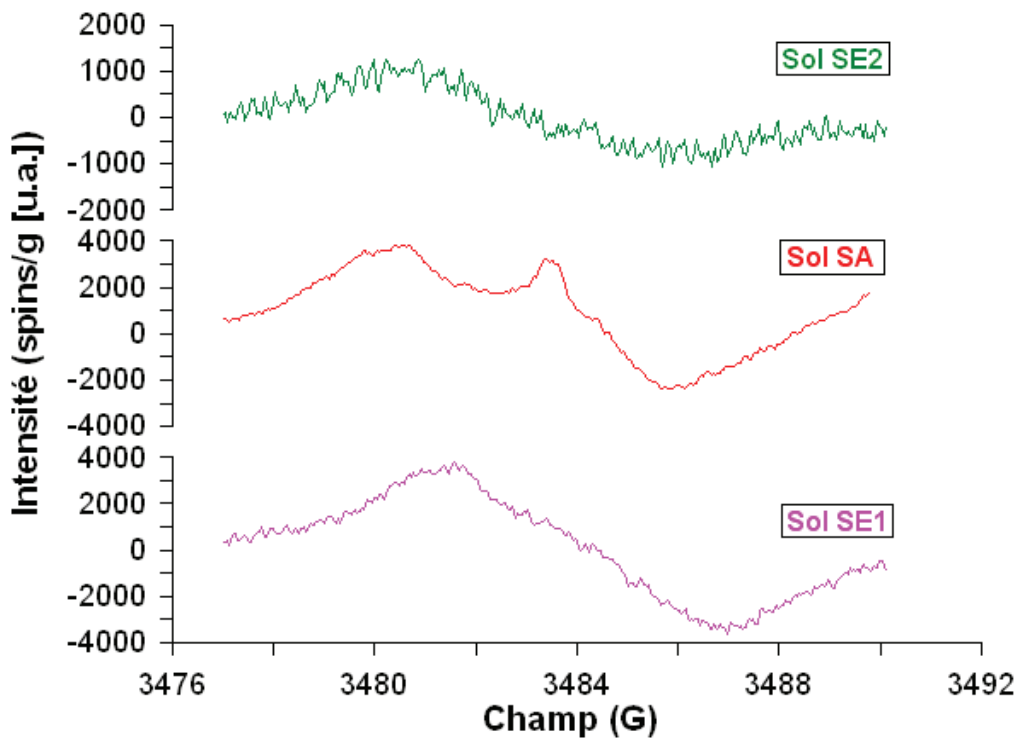


Figure III-20 : Comparaison des spectres RPE entre les trois types de sol rencontrés

La décomposition des spectres RPE (Tableau III-6) montre l'existence de deux espèces paramagnétiques différentes : une raie à 6.2 G et une autre à 5.2 G. Cependant, on peut remarquer que le sol SE2 ne contient qu'une seule espèce paramagnétique. Ainsi, la rendzine et le lithosol se différencient par la présence de la raie à 6.2 G. D'autre part, on peut remarquer que les deux lithosols se différencient par teneur relative en espèces paramagnétiques π et ω .

	Raie	Facteur g	ΔB_{pp} (G)	Champ central (G)	Intensité (u.a.)	Intensité relative (%)
SA	ω	2.0040	6.2	3485	300000	39
	π	2.0046	5.2	3484	470000	61
SE1	ω	2.0040	6.2	3485	400000	22
	π	2.0046	5.2	3484	1410000	88
SE2	π	2.0046	5.3	3483	282000	100

 Tableau III-6 : Décomposition des spectres RPE des sols [d'après Pépin-Donat *et al.* (2010)]

Les deux grands types de sol ayant une signature RPE bien différente, on peut émettre l'hypothèse selon laquelle cette technique de caractérisation fine pourra nous indiquer si l'une des deux zones de sol fait partie ou non du bassin d'alimentation. Nous verrons dans le Chapitre IV : l'intérêt de l'espèce paramagnétique ω pour le traçage spatial et temporel.

III.3.2.2 Variations temporelles du signal RPE des sols

Maintenant, il est intéressant de savoir si la RPE peut aussi décrire une évolution temporelle de la MOD des sols.

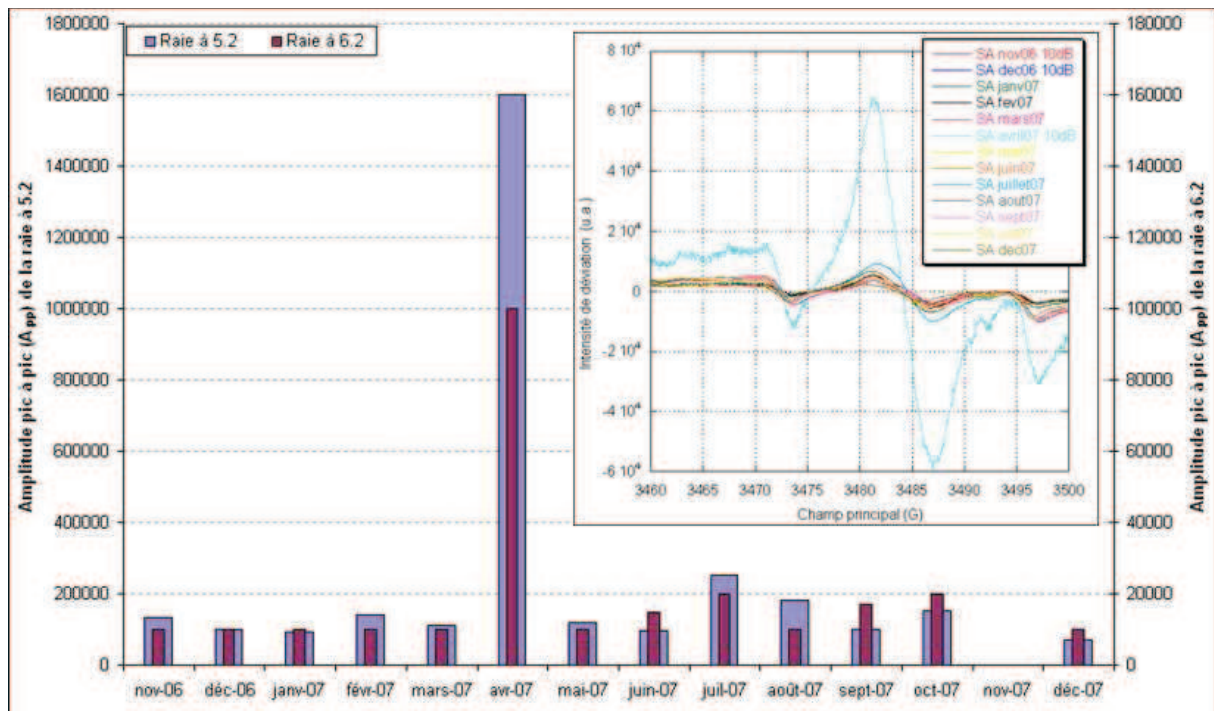


Figure III-21 : Evolution mensuelle du spectre RPE d'un sol (SA)

La Figure III-21 nous montre l'évolution de l'amplitude pic à pic (A_{pp}) des deux raies présentes dans le sol SA au cours du temps. Nous pouvons remarquer cette grandeur quantitative (elle représente la quantité de l'espèce paramagnétique) varie au cours de l'année. Il s'avère donc qu'une période donnée peut être marquée par une quantité plus grande d'une espèce paramagnétique (ici l'échantillon

du mois d'avril à un A_{pp} beaucoup plus grand que pour les autres mois de l'année). Ceci démontre encore une fois le fort potentiel de la RPE pour le traçage hydrogéologique.

CHAPITRE IV : Applications et apports hydrogéologiques des Matières Organiques Dissoutes au traçage spatial et temporel

L'objectif principal de ce chapitre est de caractériser un traceur hydrogéologique à partir de l'analyse des Matrices d'Excitation-Emission (MEE) et des spectres de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE), en prenant en compte les observations faites dans la partie III.3. Puis, nous essaierons de montrer en quoi ce nouveau traceur apporte une information nouvelle en terme de traçage hydrogéologique, mais aussi en terme de dynamique et cinétique d'évolution de la MOD au sein d'un aquifère karstique.

IV.1 Un traçage spatial

L'idée du traçage spatial est de repérer une signature particulière d'une surface donnée, de réussir à la retrouver au niveau d'un écoulement, et ainsi en déduire si cette surface marquée appartient bien au bassin d'alimentation de cet écoulement. Ces surfaces caractérisées peuvent être un sol naturel, une zone polluée ou encore des eaux de surface (dans le cas, par exemple, des systèmes binaires).

IV.1.1 Utilisation des Matrices d'Excitation-Emission

IV.1.1.1 Une technique de traçage déjà validée par de nombreuses études

Depuis leur première utilisation par Coble *et al.* (1990) pour l'étude des matières organiques des eaux marines, les MEE n'ont cessé de susciter un fort intérêt dans le domaine de l'environnement. En effet, cette technique analytique a été appliquée à de nombreux types d'échantillons (MOD marines, des estuaires, des eaux douces de surface, des eaux souterraines, des sédiments, en sortie de Station de Traitement des Eaux Polluées (STEP), ...). D'autre part, durant la dernière décennie, elle a été utilisée comme un moyen pour déterminer les différentes origines des eaux de surface et souterraines [Katsuzama & Ohte (2002) ; Stedmon *et al.* (2003) ; Alberts & Takacs (2004) ; Sierra *et al.* (2005) ; Mariot *et al.* (2007)] et suivre une contamination organique [Jiji *et al.* (1999) ; Parlanti *et al.* (2000) ; Baker & Curry (2004) ; Baker (2005)].

IV.1.1.2 Une méthode pas assez sensible pour notre secteur d'étude

Pour qu'un traçage spatial soit possible, les sources de MOD mobilisable doivent chacune être caractérisées par une signature de fluorescence bien particulière. Nous avons donc examiné les MEE des lixiviats des différents types de sol présents sur le secteur du LSBB (Figure IV-1). Nous pouvons remarquer que les massifs de fluorescence identifiés dans les lixiviats (dans notre exemple : les massifs α , α' et α_e (cf. Figure III-17)) ne permettent pas de différencier le lithosol de la rendzine, puisque ces massifs sont présents dans les MEEs des trois extraits de sol. Il s'avère donc, pour les écoulements du LSBB, que cette technique ne peut nous aider à déterminer si l'une ou l'autre zone de sol appartient bien au bassin d'alimentation des écoulements étudiés.

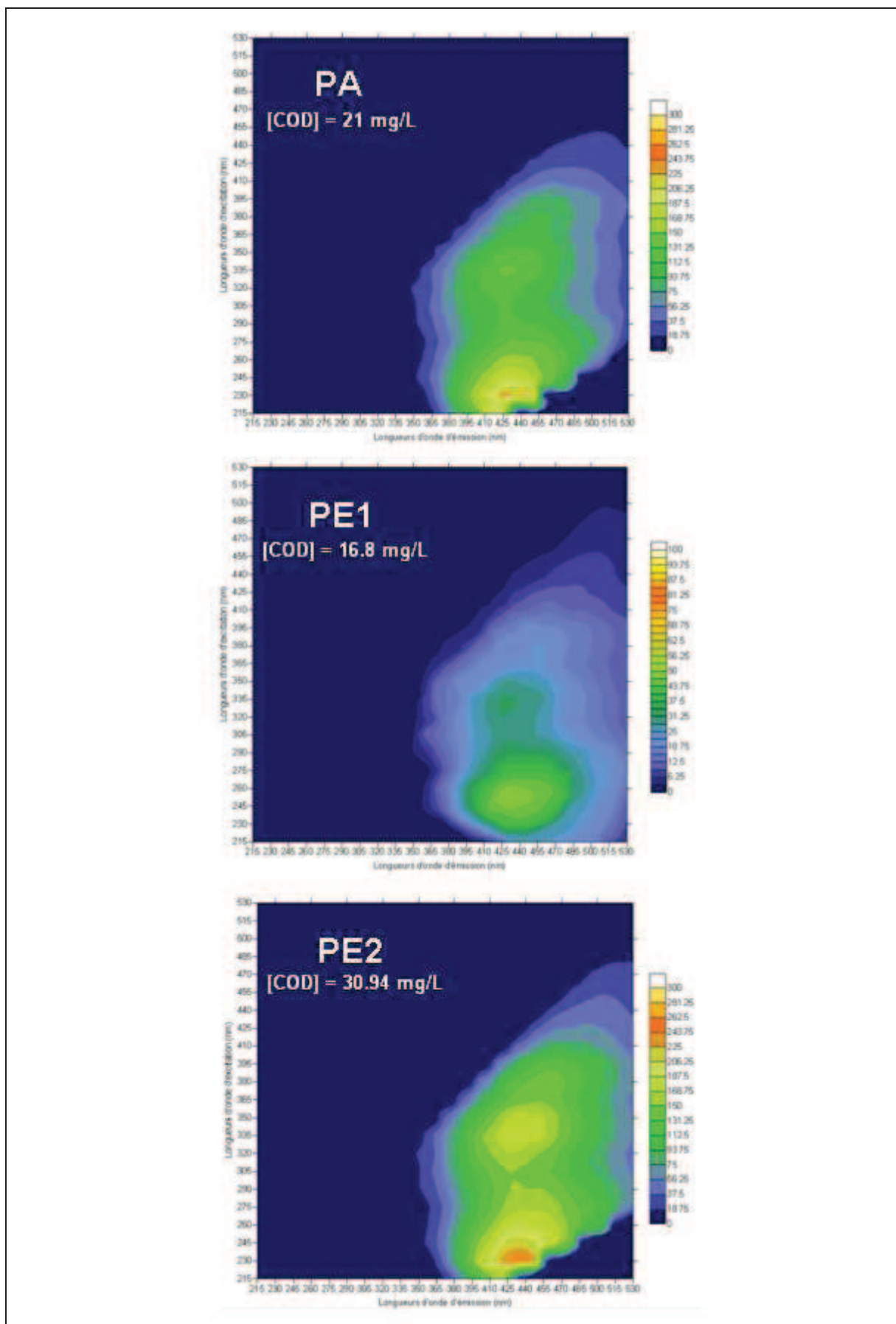


Figure IV-1 : Allure des spectres de matrice d'excitation-émission des lixiviats de sol sur le site du LSBB

Cependant, nous savons que le site présente l'intérêt de se situer dans une région où il n'y a pas d'activité humaine susceptible d'introduire une espèce fluorescente anthropique. En effet, les seules origines des MOD présentes dans les écoulements souterrains du LSBB sont les deux types de sol naturellement présents sur le site. Contrairement à cet exemple, la surface du bassin d'alimentation de la Fontaine de Vaucluse est occupée à 15.8 % par des terrains agricoles ou urbanisés (cf. II.1.4). La comparaison des eaux souterraines prélevées dans la galerie du LSBB et celles de la Fontaine de Vaucluse vont pouvoir nous indiquer si cette dernière est réellement impactée par les activités humaines. La Figure IV-2 nous permet d'identifier un massif δ plus important pour l'échantillon de Fontaine de Vaucluse, et un autre massif fluorescent de longueurs d'onde d'excitation (220 nm - 240 nm) et d'émission (335 nm - 365 nm) qui n'est présent que dans ce dernier. D'après la nomenclature résumée dans le Tableau III-4, ce massif correspond à des composés protéiniques anthropiques, montrant ainsi que le bassin d'alimentation de la Fontaine de Vaucluse contient des zones impactées par l'activité humaine. Bien qu'elles ne permettent pas de différencier les sols de notre secteur d'étude, les MEE peuvent mettre en évidence une pollution anthropique.

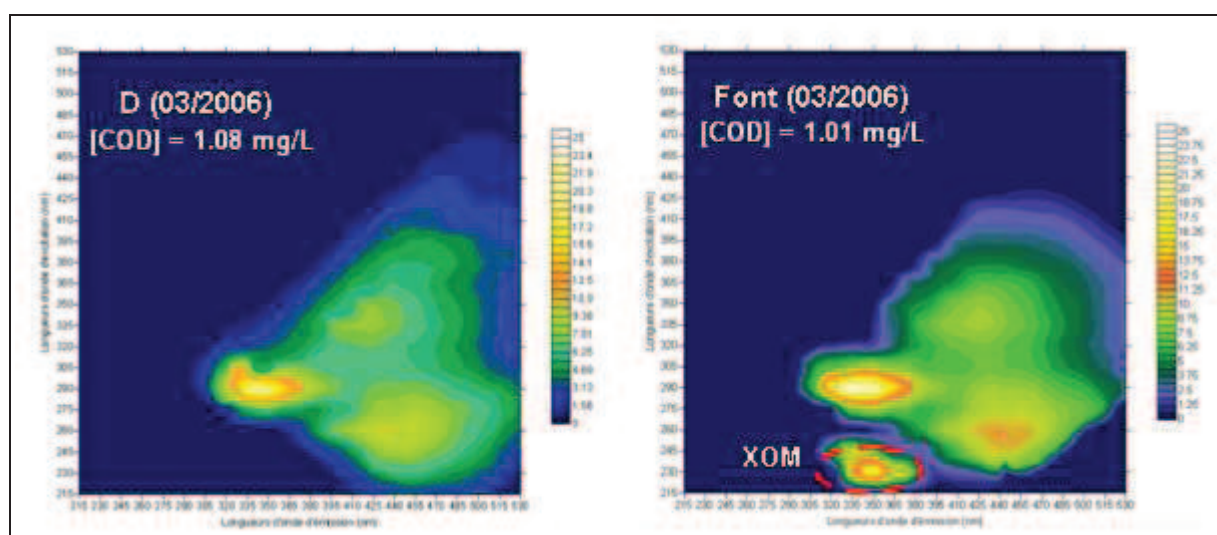


Figure IV-2 : Comparaison des spectres de MEE de la Fontaine de Vaucluse et d'une eau souterraine non anthropisée

IV.1.2 Utilisation des spectres RPE

IV.1.2.1 Une nouvelle technique de traçage des MOD non-fossiles

Les marqueurs spectrométriques usuels (Infra Rouge, UV-Visible, fluorescence) donnent de bons résultats pour distinguer des sources de MOD très contrastées (cf. IV.1.1). L'étude par RPE des radicaux semiquinones générés pendant l'humification n'a été utilisée que dans le cadre de la caractérisation des Matières Organiques Naturelles (MON) [Riffaldi & Schnitzer (1972) ; Flogeac *et al.* (2005) ; González-Peréz *et al.* (2006)], et non comme marqueur pour leur traçage, excepté dans les études des MON fossiles, présentes dans les roches carbonées (charbon, houille, pétrole)

[Doetschmann & Dwyer (1992) ; Popov *et al.* (1993) ; Silbernagel *et al.* (1993) ; Vichaidid *et al.* (2007)].

Pépin-Donat *et al.* (2010) ont pour la première fois utilisé cette technique pour le traçage des MON non-fossiles au sein d'aquifères à l'échelle du bassin versant. Ils en ont tiré une méthode permettant de caractériser les surfaces appartenant au bassin d'alimentation d'une eau souterraine.

IV.1.2.2 Application au secteur du LSBB

Nous avons donc appliqué cette technique sur le secteur d'étude du LSBB (Figure IV-3). En examinant l'allure générale des spectres RPE, nous avons constaté, dans la partie III.3.2.1, que celui du sol SE2 était très différent de ceux des sols SE1 et SA. De la même manière, nous pouvons remarquer que l'allure générale du spectre RPE de l'écoulement A (en bleu sur la figure) est très similaire à ceux obtenus pour ces deux échantillons de lithosol (SA et SE1), mais reste très différente comparativement à celle de la rendzine (SE2). Nous pouvons donc a priori émettre des doutes sur l'appartenance du sol SE2, malgré sa position à l'aplomb de l'écoulement, au bassin d'alimentation de A. Cette hypothèse peut être corroborée par l'étude de la fracturation du secteur d'étude. En effet, la matrice calcaire étant quasi imperméable, les écoulements karstiques se font au travers de fractures ouvertes, qui s'élargissent par dissolution. La carte nous montrent bien que le réseau de fractures responsable de l'écoulement A atteint la surface essentiellement à travers la zone décrite par les sols de type SA et SE1 [Pépin-Donat *et al.* (2010)].

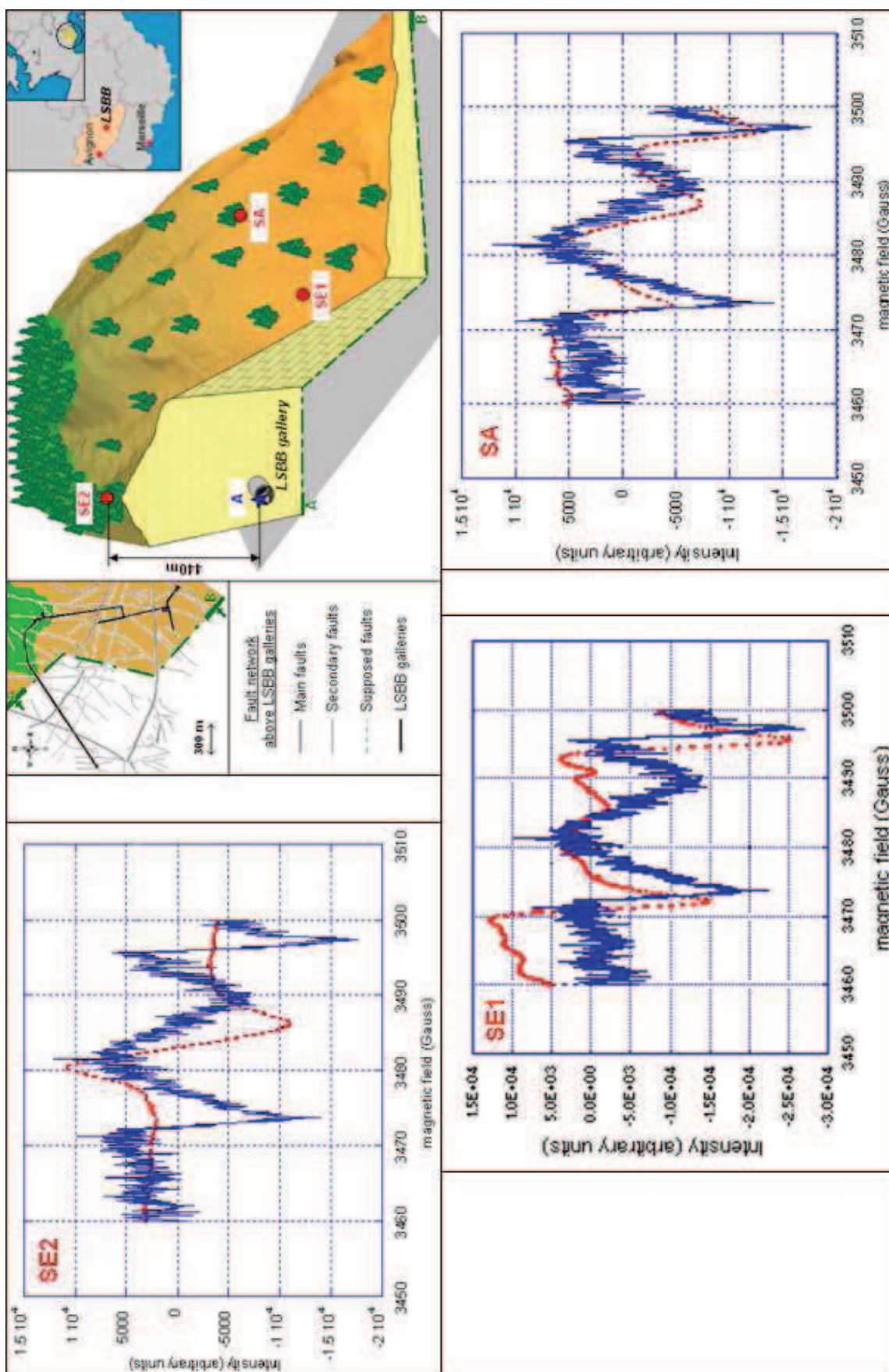


Figure IV-3 : Comparaison des spectres RPE des sols (en rouge) au spectre RPE de l'écoulement A (en bleu)

Cependant, la décomposition des spectres RPE met en évidence la présence de trois espèces paramagnétiques (Tableau IV-1), se différenciant par leur facteur g et leur largeur de raie pic à pic (ΔB_{pp}). La première π n'est présente que dans les sols ; la seconde ω est commune aux sols SE1, SA et à l'écoulement A ; enfin la troisième ζ n'est identifiée que dans l'écoulement. Cette analyse des spectres nous permet, tout d'abord, d'émettre quelques hypothèses sur la nature et les propriétés des composés paramagnétiques ainsi caractérisés :

- ◇ La molécule organique, caractérisée par la raie ω , est hydrosoluble (présente à la fois dans les sols et dans l'eau souterraine) et stable dans l'hydrosystème (son intensité reste quasiment la même dans les sols et dans l'eau).
- ◇ Contrairement à la précédente, la molécule organique, caractérisée par la raie π , n'arrive pas à l'exutoire de l'hydrosystème. Comme les sols, contenant l'espèce mobilisable (ω), contiennent aussi l'espèce π , les causes de son absence à l'exutoire sont dues soit à une solubilité faible, soit à un fort potentiel à l'adsorption, soit à sa biodégradation.
- ◇ L'espèce paramagnétique caractérisée par la raie ζ est d'origine inorganique : il s'agit de la raie du calcium. On la retrouve logiquement dans une eau souterraine karstique.

	Raie	Facteur g	ΔB_{pp} (G)	Champ central (G)	Intensité (u.a.)	Intensité relative (%)
<i>SA</i>	ω	2.0040	6.2	3485	300000	39
	π	2.0046	5.2	3484	470000	61
<i>SE1</i>	ω	2.0040	6.2	3485	400000	22
	π	2.0046	5.2	3484	1410000	88
<i>SE2</i>	π	2.0046	5.3	3483	282000	100
<i>A</i>	ω	2.0040	6.2	3485	310000	81
	ζ	2.0016	3.4	3489	71500	19

Tableau IV-1 : Décomposition des spectres RPE des sols et de l'écoulement A

La RPE nous a aussi permis d'obtenir des informations sur le bassin relatif à l'écoulement A. En effet, la présence d'une espèce paramagnétique stable et hydrosoluble à la fois dans les sols SA, SE1 et dans l'eau souterraine nous indique que la surface décrite par ces deux types de sol appartient bien à l'impluvium de A. Cependant, l'exclusion, hors du bassin d'alimentation, de la surface décrite par le sol SE2 ne peut pas être réellement envisagée à la vue des résultats obtenus. L'espèce π , malgré sa présence dans les sols SA et SE1, identifiés comme faisant partie de l'impluvium, n'apparaît pas à l'exutoire ; ce qui nous indique qu'elle ne possède pas les caractéristiques d'un bon marqueur, à savoir la stabilité, le faible potentiel à l'adsorption et la solubilité. Etant la seule espèce caractérisée dans le sol SE2, son absence au niveau de l'écoulement A ne peut valider de façon formelle l'exclusion de la zone décrite par le sol SE2 hors du bassin d'alimentation.

IV.1.3 Bilan des méthodes de traçage spatial par la MOD

Nous avons démontré dans cette première partie que la MOD peut être utilisé comme marqueur nous permettant d'inclure ou non des zones dans le bassin d'alimentation d'un écoulement. En effet, nous avons pu constater que les MEE étaient déjà utilisées par divers auteurs pour identifier une pollution, mais aussi montrer des connections entre diverses sources de signatures fluorescentes très différentes, et donc de définir les composantes d'un mélange entre plusieurs types d'eau. Il s'est avéré, pour notre secteur d'étude, que les spectres de fluorescence n'étaient pas assez discriminants et donc ne nous permettaient pas de différencier les différents types de sol pouvant faire partie du bassin d'alimentation de l'écoulement étudié.

Face à ce besoin aigu de sensibilité, la RPE peut nous apporter une solution. En effet, cette méthode d'analyse, beaucoup plus sensible, a permis de caractériser un certain nombre de composés paramagnétiques, et d'étudier leurs interactions avec le milieu (facilement adsorbé/dégrader ou mobile). Ainsi, pour le secteur du LSBB, cette technique nous a permis de différencier les lithosols SA et SE1 (composé des raies π et ω) et la rendzine SE2 (simplement composé de la raie π). Bien qu'elle ne nous ait pas permis d'affirmer si la rendzine appartient ou non à la zone d'alimentation de l'écoulement, elle nous a confirmé que la zone des lithosols appartient bien au bassin d'alimentation.

Nous pouvons donc proposer un protocole expérimental alliant la spectrométrie de fluorescence et la RPE, nous permettant de nous assurer qu'une surface donnée appartient bien au bassin d'alimentation d'un écoulement souterrain (Figure IV-4). Suivons cet organigramme dans le cadre de notre étude :

- Lors de l'étape de prospection, nous avons trouvé trois sources potentielles pour la MOD présente dans le système : deux lithosols, se différenciant par leur couverture végétale, et une rendzine (ou rendosol).
- Nous avons donc réalisé des lixiviats de ces types de sol et avons comparé leur matrice d'excitation-émission avec celle de l'écoulement (chemin rouge).
- Malheureusement, cette analyse n'étant pas assez discriminante, nous avons utilisé une autre méthode de caractérisation plus sensible : la RPE (chemin bleu).
- Le spectre RPE à l'exutoire présente deux espèces paramagnétiques, la première ω provient des lithosols, la seconde ζ a une origine inorganique. Ainsi, toutes les espèces paramagnétiques observées ont une origine identifiée (chemin bleu).
- Dans le cas où l'origine d'une raie n'est pas identifiée, il nous faut savoir s'il s'agit d'un produit de dégradation. Si ce n'est pas le cas, il nous faut recommencer la prospection sur le terrain, pour identifier la source de cette espèce (chemin vert). Si c'est le cas, nous pouvons d'ores et déjà identifier toutes les zones qui appartiennent au bassin d'alimentation (chemin noir).

- A ce niveau, le lithosol appartient donc au bassin d'alimentation. Afin, d'exclure la rendzine de ce dernier, il nous faut savoir si l'espèce paramagnétique caractéristique de ce sol est hydrosoluble et stable dans l'hydrosystème. Si c'était le cas, nous aurions pu exclure la surface de rendzine du bassin d'alimentation (chemin violet). Mais il s'avère que l'espèce π , présente aussi dans le lithosol, n'apparaît plus au niveau des exutoires. Deux hypothèses s'offrent à nous : (i) soit elle disparaît au cours de son transfert dans le système par des phénomènes de dégradation ou d'adsorption, (ii) soit n'est pas hydrosoluble. En l'état actuel des choses, nous ne pouvons donc pas exclure de manière formelle le rendosol du bassin d'alimentation (chemin orange). Afin d'obtenir plus d'informations sur l'espèce paramagnétique π , nous pourrions, en premier lieu, réaliser une analyse RPE sur un lixiviat de la rendzine et ainsi connaître le degré d'hydrophobicité du produit.

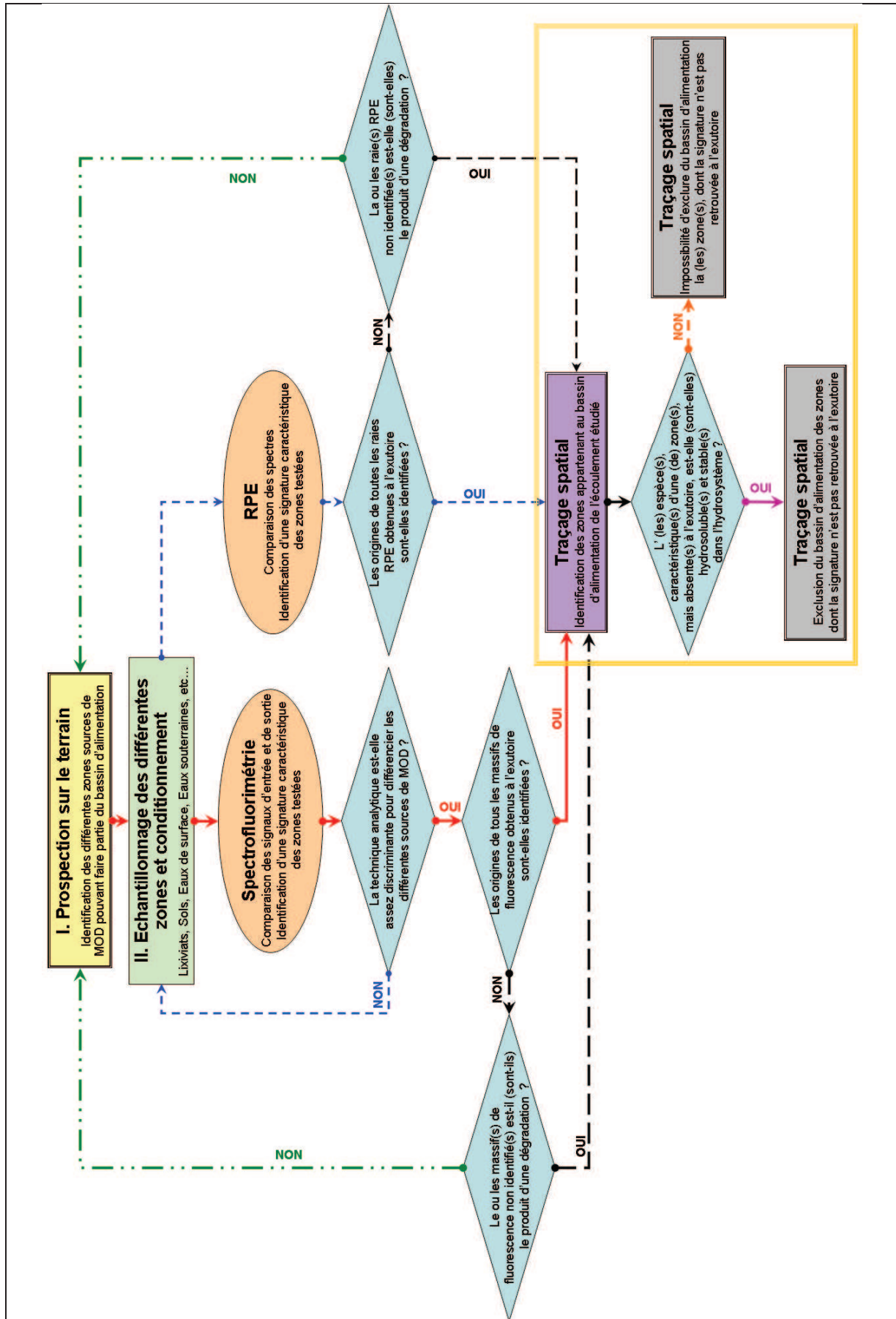


Figure IV-4 : Proposition d'un protocole expérimentale destinée au traçage spatial par la MOD

IV.2 Un traçage temporel

Batiot (2002) et Garry (2007) ont déjà montré l'intérêt de l'utilisation du Carbone Organique Total et Dissous pour le traçage qualitatif (marqueur de l'infiltration rapide) et quantitatif (minéralisation du COD) du temps de séjour. En effet, ils nous ont fourni une relation entre le temps de séjour moyen d'un écoulement et sa concentration en COD, nous permettant d'approcher le temps de résidence des écoulements du LSBB (cf. II.3.2.2). Cependant, cette relation de type hyperbolique est rapidement limitée par une pente très faible.

Dans la partie III.3, nous avons pu remarquer que la spectrofluorimétrie (notamment les massifs de fluorescence α et α') et la RPE nous permettaient d'une part de suivre des variations au cours du temps de la MOD du sol, mais aussi d'approcher l'évolution de celle-ci au sein du système. Nous allons donc essayer d'obtenir, à l'aide de ces techniques analytiques, appliquées à la MOD, un traceur quantitatif des temps de séjour.

IV.2.1 *Traçage ponctuel des temps de séjour à l'échelle saisonnière*

Nous entendons par traçage temporel ponctuel, la quantification du temps de séjour d'un écoulement à une période particulière, pendant laquelle il possède une signature distincte dont on connaît la date d'entrée dans l'hydrosystème. Il nous faut donc définir des marqueurs dont les variations en amont du système peuvent être suivies à l'exutoire. Nous savons que la nature de la MOD dans les sols varie au cours des saisons (cf. III.1.1.2). Nous allons donc essayer d'utiliser des indices nous permettant de suivre cette évolution saisonnière à la fois dans le sol et au niveau des écoulements à la manière des travaux de Baker *et al.* (1999).

IV.2.1.1 Définition des signaux fluorescents d'entrée et de sortie

L'idée est donc de définir un indice de fluorescence capable de représenter qualitativement et quantitativement le flux d'entrée et de sortie des MOD fluorescentes dans l'hydrosystème. Tout d'abord, nous savons que l'intensité de fluorescence d'un couple ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) donné est fonction de la concentration de l'espèce fluorescente décrite par ces longueurs d'onde. Par conséquent, afin de s'affranchir du bruit causé par les variations des teneurs en MOD, nous avons décidé d'utiliser le rapport entre l'intensité de fluorescence et la concentration en COD, définissant ainsi un indice de fluorescence du couple ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) :

$$\mathfrak{F}(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) = \frac{If(\lambda_{ex}/\lambda_{em})}{[COD]}, \text{ avec } If(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) : \text{intensité de fluorescence du couple } (\lambda_{ex}/\lambda_{em}).$$

A cela, il faut ajouter le fait que l'existence et l'amplitude du signal d'entrée ou de sortie, relatif à cet indice, va dépendre, pour le premier, de la quantité de pluie infiltrée et, pour le deuxième, du débit à l'exutoire. C'est pourquoi, l'indice $\mathfrak{F}(\lambda_{ex}/\lambda_{em})$ devra être pondéré par les pluies efficaces

(calculées selon la méthode décrite en II.1.5.2) pour le signal d'entrée et le débit de l'écoulement pour le signal de sortie, définissant ainsi un indice de « flux de fluorescence » ($\mathfrak{F}f$) du couple $(\lambda_{ex}/\lambda_{em})$:

$$\mathfrak{F}f_e(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) = \mathfrak{F}f(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) \times P_{eff}, \text{ pour le signal d'entrée avec } P_{eff} = \text{pluies efficaces}$$

$$\mathfrak{F}f_s(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) = \mathfrak{F}f(\lambda_{ex}/\lambda_{em}) \times Q, \text{ pour le signal de sortie avec } Q = \text{débit de l'écoulement}$$

Dans notre cas, les sols étant la seule source de MOD, les indices de flux de fluorescence entrant seront calculés à partir des lixiviats.

IV.2.1.2 Traçage ponctuel par les indices de flux de fluorescence

IV.2.1.2.1 *Utilisation des maxima de fluorescence des massifs α et α'*

Les massifs α et α' étant les seuls identifiables à la fois dans les sols et dans tous les écoulements, nous avons tenté de suivre leur flux d'entrée dans le système et donc de définir des périodes particulières de fluorescence, pouvant s'observer jusqu'aux exutoires. La Figure IV-5 nous montre l'évolution des flux de fluorescence maximale aux longueurs d'onde d'excitation caractéristiques de ces massifs, à savoir 245 nm et 335 nm. Les flux entrants ($IFf_{maxe}(245 \text{ nm})$ et $IFf_{maxe}(335 \text{ nm})$) nous montrent plusieurs périodes, au cours desquelles leur intensité est particulièrement élevée, alternant avec d'autres où ils sont plus faibles. Ces différentes plages de fort flux de fluorescence forment donc une signature particulière qui peut se suivre au niveau des écoulements. En effet, l'examen des différents indices de flux de fluorescence maximale sortant nous permet d'approcher à l'échelle plurimensuelle un temps de séjour moyen des écoulements permanents de la galerie du LSBB, à un moment donné, caractérisé par l'arrivée aux exutoires d'une plage de forte fluorescence.

La détermination de ce temps de résidence n'est pas directe, notamment pour les écoulements A et B. En effet, les périodes de fort flux de fluorescence à l'entrée semblent a priori correspondre à celles observées au niveau des écoulements, nous permettant au premier abord à conclure à une restitution du signal simultanée. Cependant, nous avons remarqué dans la partie II.3.2.1, grâce aux variations de conductivité et de teneurs en Mg^{2+} , que ces deux points ont globalement un fonctionnement hydrologique par effet piston. Fort de cette information essentielle, nous pouvons alors conclure au déphasage des signaux d'entrée et de sortie, et associer le signal fluorescent sortant à celui entré pendant la précédente période où on observe une forte intensité du flux. Nous obtenons ainsi, pour l'écoulement A, un Temps de Transit (TdT) de 5 à 7 mois entre avril et juin 2007, et de 7 à 8 mois entre janvier et février 2008. De la même manière, pour B, on obtient un TdT de 6 à 9 mois entre avril et mai 2007, et de 7 à 8 mois entre janvier et février 2008. Malgré sa complexité, l'écoulement D peut être doté d'un TdT de 2 à 3 mois entre décembre 2006 et janvier 2007. On ne peut cependant pas retrouver, comme pour les écoulements précédents, le signal entré en avril – mai 2007.

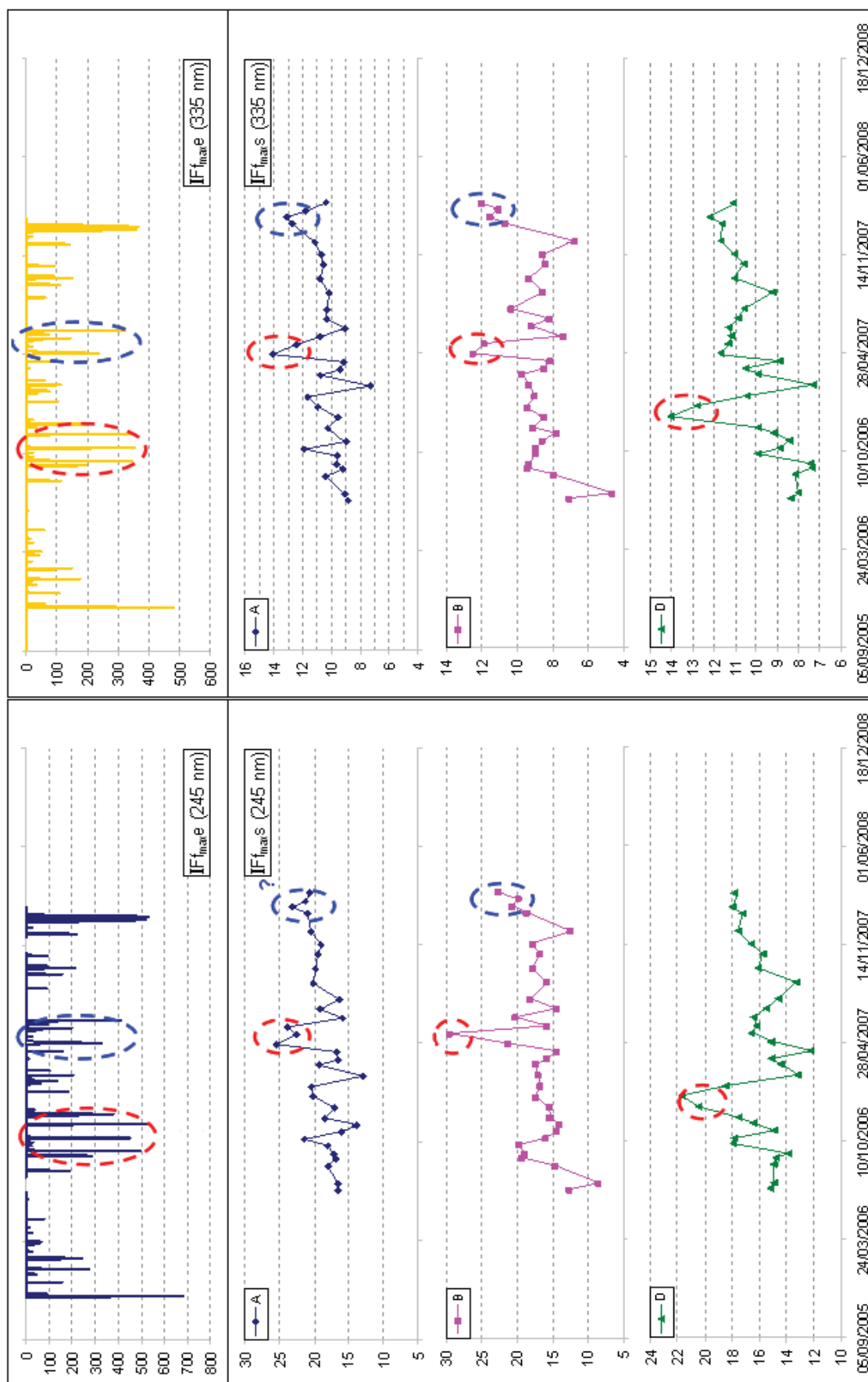


Figure IV-5 : Evolution des indices de flux de fluorescence maximale aux longueurs d'onde d'excitation 245 nm (massif α') et 335 nm (massif α) à l'entrée et à la sortie des écoulements permanents du LSBB

IV.2.1.2.2 Utilisation du couple ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) mesuré par les fluorimètres GGUN-FL30

Une autre possibilité d'utilisation des signaux de fluorescence comme traceur temporel consiste à suivre en continu l'intensité de fluorescence d'un couple ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) relatif à un massif de fluorescence de la MOD. Les fluorimètres GGUN-FL30 d'Albillia®, ordinairement utilisés pour le traçage artificielle fluorescent, permettent le suivi de l'intensité d'une plage de fluorescence centrée sur le couple (350 nm/427 nm). Bien que légèrement décalé, ce couple se situe dans les environs immédiats du maximum de fluorescence, caractéristique du massif α . Ces signaux de fluorescence peuvent, eux aussi, être traduits en indice de flux de fluorescence tel que décrit précédemment.

La Figure IV-6 nous montre, comme précédemment, des périodes de fort et de faible flux de fluorescence, alternant de façon quasi saisonnière, au niveau de l'écoulement B. De la même manière, les augmentations quasi simultanées des teneurs en Mg^{2+} et de l'indice de flux de fluorescence nous permettent de conclure au déphasage entre les signaux d'entrée et de sortie, attestant d'un fonctionnement hydrologique par effet piston. Nous obtenons donc plusieurs temps de transit : 7 à 8 mois pour les eaux de juillet à septembre 2006 et d'avril à mai 2007 ; 6 à 7 mois pour les eaux de novembre 2007.

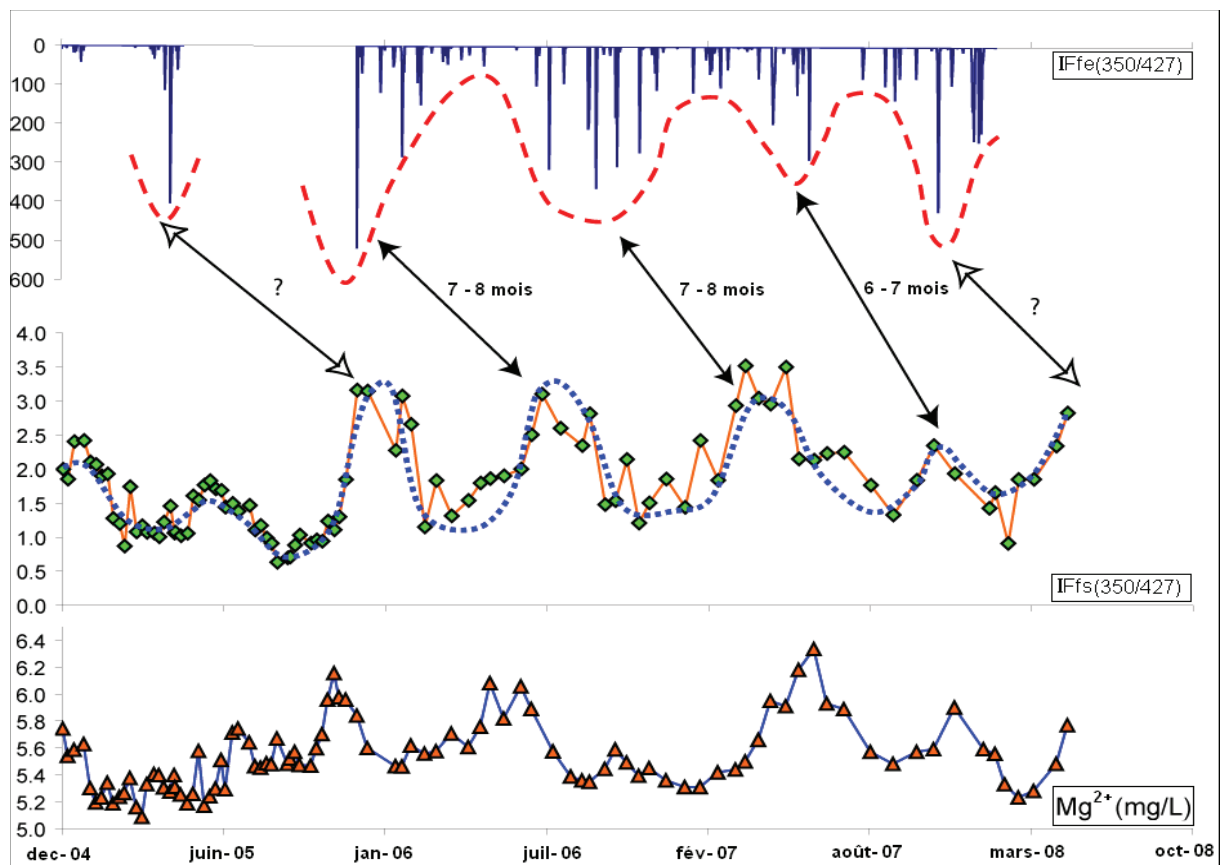


Figure IV-6 : Evolution des indices de flux de fluorescence entrant et sortant du couple (350 nm/427 nm) au niveau de l'écoulement B et ses variations de teneurs en Mg^{2+}

La Figure IV-7 nous montre l'évolution de ce même indice au niveau de l'écoulement D. Nous pouvons déjà remarquer que l'observation des plages de fort flux de fluorescence est plus difficile que

pour l'écoulement précédent. En effet, mis à part en juin et octobre 2005, les autres pics particuliers sont beaucoup moins identifiables à l'exutoire. Plusieurs causes peuvent en être à l'origine :

- tout d'abord, nous savons que globalement le temps de transit de l'écoulement D est plus faible que celui de l'écoulement B (cf. II.3.2.2), et a priori peut être même inférieur à la durée du flux de fluorescence d'entrée correspondant. Par conséquent, ce dernier doit être plus discrétisé : par exemple, la période marquée allant de juillet à novembre 2006 peut être divisée en deux parties, la première assez courte entre juillet et août 2006, et la seconde plus importante entre octobre et novembre 2006. Ainsi, contrairement à B, la restitution du signal fluorescent sera moins lissée, ayant pour effet une évolution plus accidentée de l'indice.
- D'autre part, les variations de Mg^{2+} attestent d'un mélange beaucoup plus important. En effet, contrairement à D, l'écoulement B a quasiment un fonctionnement de type piston (c'est-à-dire avec très peu de mélange). Pour ce genre d'écoulement, les variations du signal d'entrée sont mieux conservées et même intensifiées si le temps de transit de l'eau dans l'hydrosystème est suffisamment important.
- Enfin, il faut rappeler que D se situe à la base d'une zone fortement remaniée (d'où une diffusion du signal d'entrée plus importante) dans laquelle la phase argileuse est très importante, augmentant ainsi le phénomène d'adsorption des molécules fluorescentes (cf. IV.3.2.3).

Malgré ces difficultés, nous pouvons tout de même estimer un temps de transit de l'eau s'écoulant entre janvier et février 2008 d'environ 2 à 3 mois.

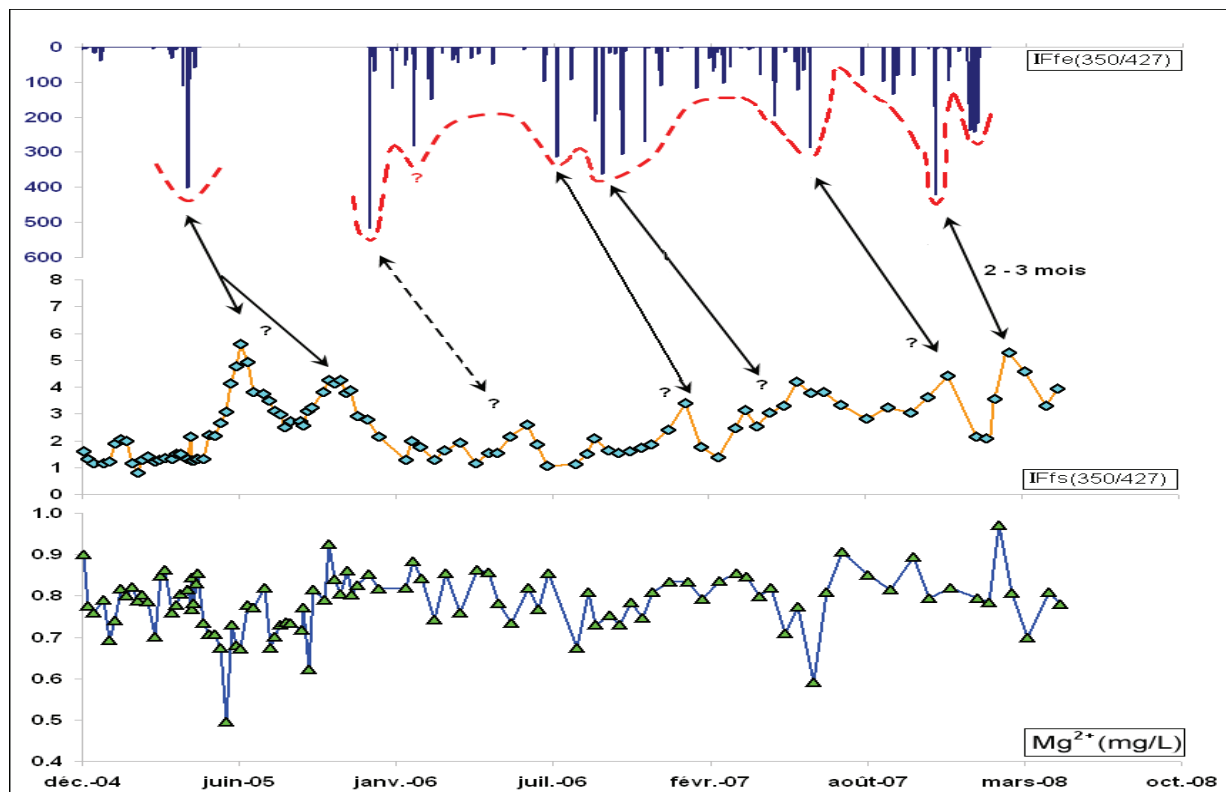


Figure IV-7 : Evolution des l'indices de flux de fluorescence entrant et sortant du couple (350 nm/427 nm) au niveau de l'écoulement D et ses variations des teneurs en Mg^{2+}

Nous pouvons enfin remarqué que les résultats obtenus par les fluorimètres de terrain sont semblables à ceux obtenus par les précédents indices. D'un point de vue opérationnel, il est donc possible de suivre des indices de fluorescence directement au niveau des écoulements, capables de nous donner une approximation des temps de transit moyens de ces derniers.

IV.2.1.3 **Utilisation de la RPE**

Dans la partie III.3.2.2, nous avons pu observer des variations quantitatives des espèces paramagnétiques présentes dans les sols, caractérisées par les raies ω et π . Puis, dans la partie IV.1.2.2, nous avons pu constater que seule la raie à 6.2 G était à la fois présente dans les sols (SA et SE1) et l'écoulement étudié (A). Et nous avons pu remarquer que l'échantillon d'avril 2007 présentait une intensité, notamment pour cette raie, largement supérieure par rapport aux autres périodes d'échantillonnage.

La Figure IV-8 récapitule le suivi des intensités de la raie ω présentes à la fois dans le sol et l'écoulement A. Nous pouvons noter que pour l'écoulement celle-ci a une intensité beaucoup plus forte en décembre 2007, comparativement aux autres périodes. Ainsi, cette signature remarquable dans l'eau souterraine est à rapporter à celle identifiée dans le sol. En effet, à la fin du mois d'avril 2007, une série de précipitations efficaces sur le secteur d'étude a entraîné l'espèce paramagnétique ω dans l'hydrosystème. Il s'avère que c'est à cette même période que le sol était marqué par une forte amplitude de la raie à 6.2 G. Par conséquent, cette signature remarquable a pu entrer dans l'hydrosystème pour en ressortir en décembre 2007 au niveau de l'exutoire. De ce fait, la RPE nous permet d'approcher un temps de transit de l'écoulement A en décembre 2007 d'environ 8 mois. Avec une fréquence de prélèvement plus importante, nous pourrions, comme pour les indices de fluorescence, utilisé un indice de flux entrant et sortant de l'espèce paramagnétique ω .

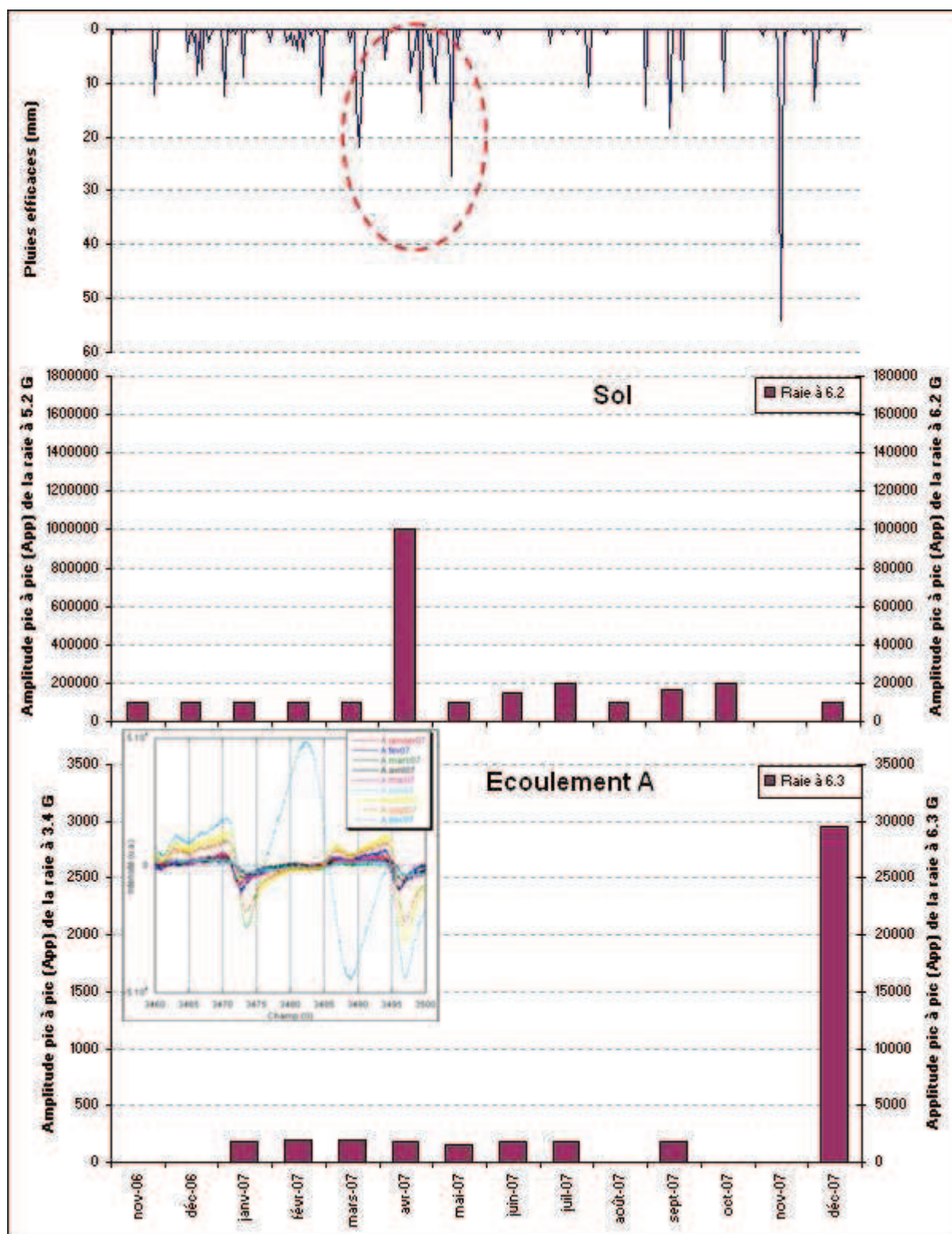


Figure IV-8 : Comparaison des évolutions mensuelles de la raie ω du sol et de l'écoulement A

IV.2.1.4 **Bilan de la technique de quantification ponctuelle des temps de transit**

Nous avons pu constater que les différents indices de fluorescence, ainsi que le suivi de la raie ω par RPE, nous permet d'approcher un temps de transit moyen à l'échelle mensuelle, voire saisonnière, des eaux souterraines karstiques marquées par une variation particulière (forte présence d'une espèce paramagnétique ou fort flux de fluorescence périodique) à un moment donné. Les valeurs ponctuelles du temps de transit ainsi obtenues sont de plus assez similaires d'un traceur à un autre.

Cependant, cette technique possède plusieurs inconvénients. En effet, le mode de fonctionnement hydrologique de l'écoulement semble être un facteur prépondérant dans la possibilité d'utilisation de ce type de traceur. Tout d'abord, il faut noter que son intérêt devient discutable pour des écoulements dont le temps de transit moyen est nettement inférieur à la durée du signal d'entrée correspondant : c'est le cas pour l'écoulement D, pour lequel il est difficile d'identifier une réelle tendance dans les variations des indices de fluorescence. D'autre part, ces mêmes problèmes peuvent survenir, si l'écoulement étudié présente une forte diffusion ou un fort mélange. En ce qui concerne les écoulements temporaires tels que C et GAS, leur rapide tarissement ne nous permet pas d'utiliser ce type de traçage. Malgré ces quelques déconvenues, ces traceurs ponctuels nous ont permis d'obtenir un certain nombre de valeurs du temps de transit, qui pourront nous être ensuite utiles pour valider un traceur continu, développé dans les paragraphes suivants.

IV.2.2 Traçage continu des temps de transit

L'idée est maintenant de développer un traceur pouvant être appliqué à un grand nombre de types d'écoulement. Ce dernier ne devra donc plus être caractéristique d'un signal d'entrée particulier, mais être lié à l'évolution des MOD au sein de l'hydrosystème. Dans la partie III.3.1.3, nous avons pu constater un déplacement vers les longueurs d'onde d'émission plus faibles des maxima de fluorescence des massifs α et α' , nous permettant de classer qualitativement les écoulements du LSBB selon leur temps de transit. L'objectif est donc de développer un indice permettant de mesurer cette évolution des matrices d'excitation-émission.

IV.2.2.1 **Définition des indices utilisés**

Nous nous sommes inspirés du HIX, développé par Zsolnay *et al.* (1999). Cet indice d'humification de type surfacique correspond au rapport d'intensité de fluorescence entre les molécules dont la longueur d'onde d'émission se situe dans le quart supérieur du massif, et les molécules dont la longueur d'onde d'émission se situe dans le quart inférieur du massif, pour une longueur d'onde d'excitation de 254 nm (cf. Figure III-7). Il va donc dépendre de la position en longueur d'onde d'émission du maximum de fluorescence du massif étudié et a fortiori de la taille moyenne des molécules mesurées. Ainsi, ce type d'indice va nous permettre de quantifier la diminution de la taille des molécules fluorescentes, observées précédemment et donc de suivre leur

évolution au sein de l'hydrosystème. Nous avons adapté cet indice aux massifs α et α' identifiés comme étant les seuls utilisables pour le traçage temporel, pour créer deux indices d'humification, que l'on nommera HIX_{α} et $HIX_{\alpha'}$ (Figure IV-9). On remarquera que le second correspond en fait au HIX défini plus haut la différence étant la longueur d'onde d'excitation qui a été définie à 260 nm à cause du paramétrage du spectrofluorimètre pour obtenir les MEE.

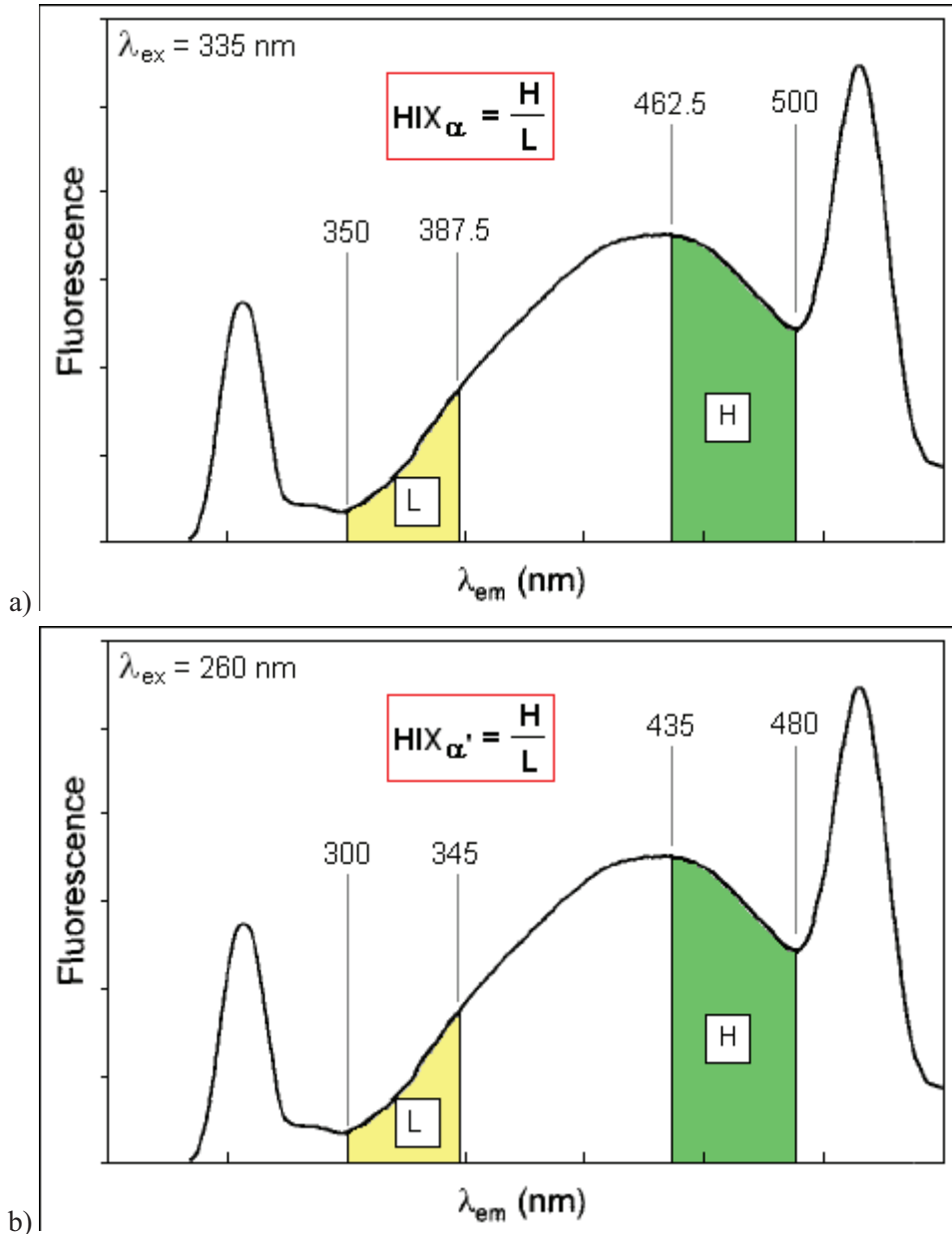


Figure IV-9 : Méthode de calcul des indices HIX_{α} (a) et $HIX_{\alpha'}$ (b)

IV.2.2.2 Etablissement de la relation $HIX = f(TdT)$, précision et limites de validité

Nous avons vu que Batiot (2002) et Garry (2007) ont pu, grâce à une relation établie entre le temps de séjour moyen d'écoulements karstiques et leur teneur moyenne en COD, obtenir une approximation des temps de transit moyens des écoulements du LSBB à l'échelle du cycle hydrologique. L'utilisation de cette relation s'avère très limitée car la pente de sa courbe représentative

devient rapidement très faible, ne permettant pas une bonne différenciation des écoulements. Nous pouvons tout de même utiliser les valeurs moyennes calculées sur un cycle hydrologique. A partir d'elles, nous avons pu établir deux relations logarithmiques entre ces dernières et la valeur moyenne du $HIX\alpha$ et $HIX\alpha'$ de plusieurs écoulements du LSBB sur deux cycles hydrologiques (Figure IV-10 et Figure IV-11). On obtient alors :

$$(1) HIX\alpha = -0.2152 \ln(TdT) + 1.6485$$

avec $r = -0.99$ pour 8 échantillons, soit significatif au seuil de 1 %

$$(1') HIX\alpha' = -3.0868 \ln(TdT) + 20.336$$

avec $r = -0.96$ pour 8 échantillons, soit significatif au seuil de 1 %

Si nous plaçons les lixiviats de sol sur les graphiques, nous pouvons déjà remarquer que les valeurs de HIX des relations (1) et (1') à l'origine correspondent bien aux valeurs mesurées, ce qui renforce la validité de la relation.

Afin de tenir compte de la distribution totale des échantillons d'eau souterraine autour des courbes représentatives de (1) et (1'), nous avons choisi d'encadrer ces relations par deux autres courbes correspondant à l'intervalle de confiance à 85% tiré de la relation de Yevjevich (1982) :

$$HIX_{(2,3)} = HIX_{(1)} \pm t_{85\%} \cdot \sigma_{HIX} \cdot \sqrt{(1-r^2) \frac{(n-1)^2}{n(n-2)}} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(\ln(TdT) - \overline{\ln(TdT)})^2}{\sigma_{\ln(TdT)}^2 (n-1)}}$$

avec $t_{85\%}$ la variable associée à la loi de Student à $(n-1)$ degré de liberté, $n = 8$ et σ_{HIX} et $\sigma_{\ln(TdT)}$ les écarts-types respectifs des valeurs HIX et $\ln(TdT)$ déterminées par les 8 valeurs observées.

L'espace délimité par ces deux courbes (en jaune sur les Figures) va donc nous permettre de donner un intervalle de temps de transit correspondant à une valeur de HIX. On obtient alors :

$$(2) HIX\alpha_{sup} = -0.1963 \ln(TdT) + 1.623 \quad \text{et} \quad (3) HIX\alpha_{inf} = -0.2229 \ln(TdT) + 1.5918$$

$$(2') HIX\alpha'_{sup} = -3.2795 \ln(TdT) + 22.116 \quad \text{et} \quad (3') HIX\alpha'_{inf} = -3.2105 \ln(TdT) + 20.232$$

Nous pouvons, ainsi, définir le domaine de validité des relations (1) et (1'). La borne inférieure de validité est obtenue par l'application de (1) ou (1') à la valeur maximale du HIX correspondant, observée dans la population des échantillons. La borne supérieure sera définie selon la précision voulue pour les temps de séjour calculés. Nous allons prendre pour exemple le cas où nous souhaiterions obtenir une approximation du temps de transit à plus ou moins 1.5 mois. Dans ce cas, nous allons d'abord déterminer le HIX_{min} pour lequel l'écart entre la valeur du temps de séjour calculée par la relation (2) ou (2') et celle calculée par la relation (3) ou (3'), est supérieure à notre précision. La limite supérieure de validité correspondra donc à la valeur du temps de séjour calculée pour le HIX_{min} par la relation (1) ou (1').

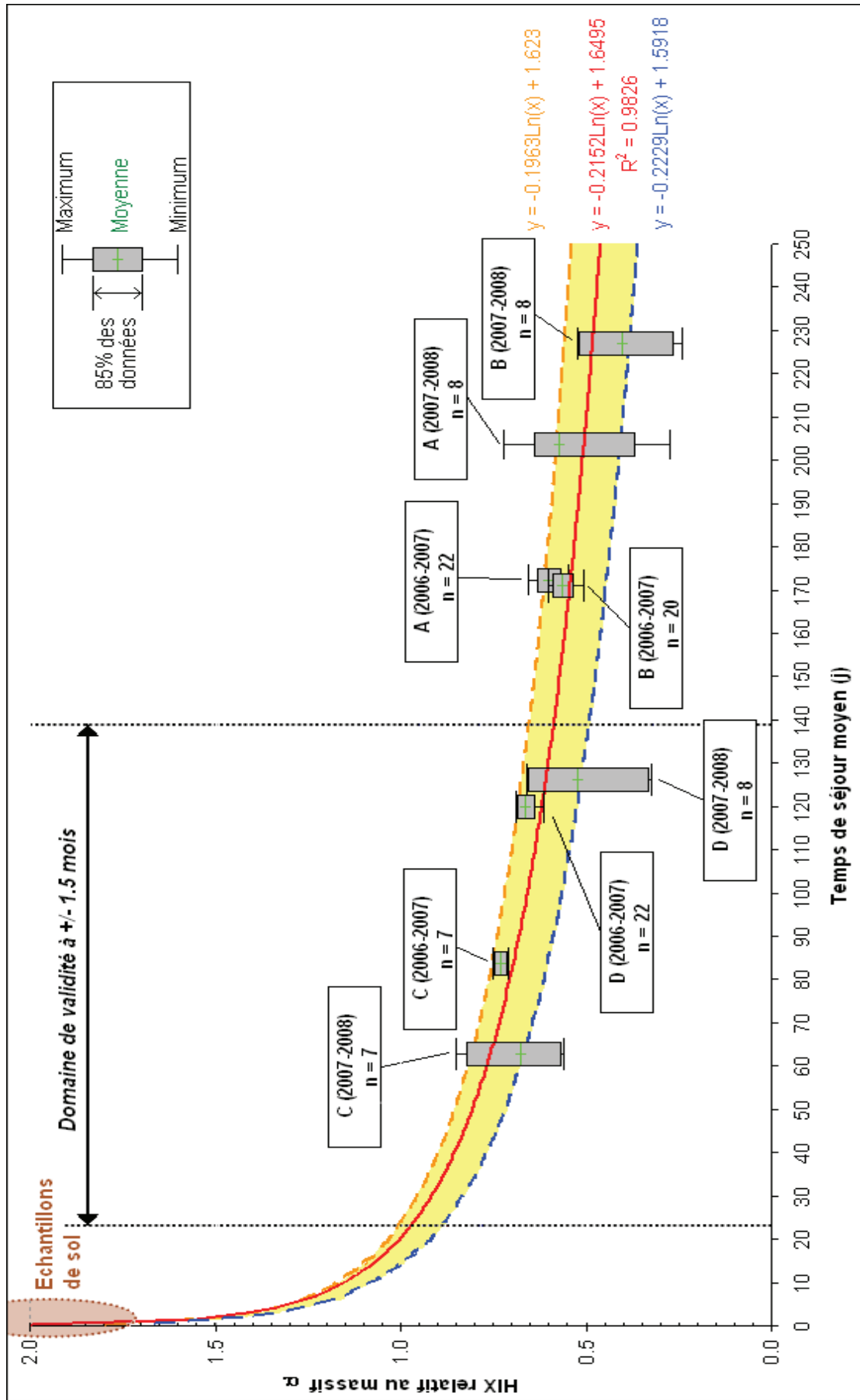


Figure IV-10 : Relation entre le temps de séjour moyen à l'échelle du cycle hydrologique et le HIXα

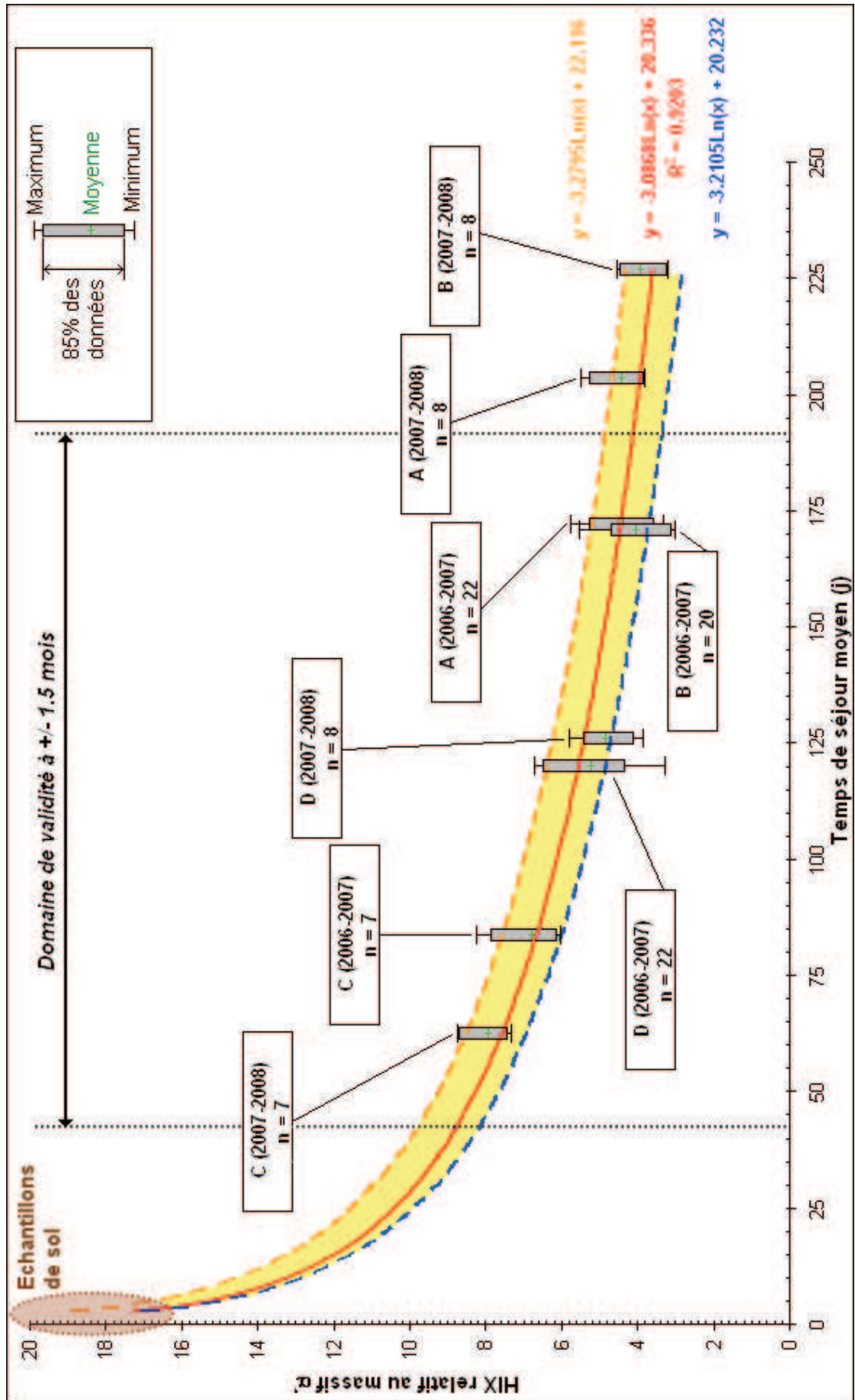


Figure IV-11 : Relation entre le temps de transit moyen à l'échelle du cycle hydrologique et le HIXα'

Lorsque nous comparons les deux courbes obtenues, nous pouvons d'ores et déjà remarquer que la relation relative au $HIX\alpha'$ est meilleure que celle relative au $HIX\alpha$. Tout d'abord, à la vue des coefficients de détermination, la dispersion des mesures du premier indice est beaucoup moins forte que celle du second. De ce fait, l'espace délimité par les deux courbes encadrant la relation est plus important pour le $HIX\alpha$ que pour le $HIX\alpha'$. De plus, la pente de la courbe représentative des variations du $HIX\alpha$ s'affaiblit rapidement n'apportant pas réellement une nette amélioration par rapport à la relation de Batiot (2002) avec le COD.

D'autre part, le Tableau IV-2 résume les différents domaines de validité des relations (1) et (1') selon la précision voulue et le pourcentage d'extrema enlevés au départ. Nous pouvons remarquer que l'indice $HIX\alpha'$ possède un domaine d'utilisation plus étendu que l'indice $HIX\alpha$. En effet, dans l'exemple au dessus, pour une précision de plus ou moins 1.5 mois, le premier nous permet de quantifier un temps de séjour variant de 43 à 193 jours, au lieu de 23 à 138 jours pour le second. Cette remarque corrobore encore une fois le fait que la courbe relative au $HIX\alpha$ montre une plage de variation utilisable très restreinte. Les causes de cette restriction proviennent du degré de réactivité des molécules fluorescentes du massif α et seront discutées dans la partie IV.3.2.3. Cependant, le principal intérêt de ce tableau est de déterminer, selon le temps de transit calculé, la précision de la valeur obtenue (± 1 , 1.5 ou 2 mois).

Pourcentage d'extrema enlevés	Type HIX	Domaine de validité								
		+/- 1mois			+/- 1.5mois			+/- 2mois		
		TdS min	TdS max	Δ HIX	TdS min	TdS max	Δ HIX	TdS min	TdS max	Δ HIX
5%	alfa	23j	77j	0.260	23j	117j	0.350	23j	158j	0.415
	alfa'	43j	95j	2.447	43j	144j	3.731	43j	193j	4.635
10%	alfa	23j	91j	0.296	23j	135j	0.381	23j	175j	0.437
	alfa'	43j	108j	2.843	43j	170j	4.243	43j	227j	5.136
15%	alfa	23j	95j	0.305	23j	138j	0.386	23j	182j	0.445
	alfa'	43j	123j	3.244	43j	193j	4.635	43j	266j	5.625
20%	alfa	23j	97j	0.310	23j	144j	0.395	23j	186j	0.450
	alfa'	43j	140j	3.644	43j	219j	5.025	43j	302j	6.017

Tableau IV-2 : Récapitulatif des différents domaines de validité des relations $HIX=f(TdT)$ selon la précision voulue et le taux d'extremum enlevé

IV.2.3 Validation et application de la relation au calcul du temps de transit

IV.2.3.1 **Confrontation des résultats obtenus par le traçage ponctuel et continu**

Nous avons donc réussi à développer un certain nombre de traceur du temps de transit. Certains peuvent nous donner des informations ponctuelles (c'est-à-dire à certaines périodes particulières), alors que d'autres peuvent nous permettre d'obtenir un temps de transit moyen en continu. Le Tableau

IV-3 confronte les divers résultats obtenus par le traçage ponctuel à ceux calculés par les relations précédemment définies, liant les indices HIX au temps de transit.

Données du traçage ponctuel				Plage des valeurs du traçage continu correspondante			
Sources	Echantillons	Périodes	Temps de séjour (TdS)	HIX α		HIX α'	
				TdS calculés (j)	TdS (mois)	TdS calculés (j)	TdS (mois)
<i>lf(245) et lf(335)</i>	A	avr-07/juin-07	≈ 5-7 mois	129 - 157	4.3 - 5.1	164 - 215	5.4 - 7.1
<i>RPE</i>	A	déc-07	≈ 7-8 mois	159	5.2	206	6.8
<i>lf(245) et lf(335)</i>	A	janv-08	≈ 7-8 mois	163	5.4	209	6.9
<i>lf(terrain)</i>	B	juil-06/sept06	≈ 7-8 mois	n.a	n.a	n.a	n.a
<i>lf(terrain)</i>	B	mars-07/mai-07	≈ 6-8 mois	125 - 146	4.1 - 4.8	202 - 274	6.6 - 9.0
<i>lf(335)</i>	B	avr-07/mai-07	≈ 7-8 mois	130 - 153	4.3 - 5.0	198 - 213	6.5 - 7.0
<i>lf(245)</i>	B	mai-07	≈ 6-9 mois	138	4.5	274	9.0
<i>lf(terrain)</i>	B	nov-07	≈ 5 mois	194	6.4	194	6.4
<i>lf(245) et lf(335)</i>	B	janv-08/fev-08	≈ 7-8 mois	187 - 194	6.1 - 6.4	180 - 256	6.0 - 8.4
<i>lf(245) et lf(335)</i>	D	dec-06/janv-07	≈ 2-3 mois	56 - 115	1.8 - 3.8	112 - 132	3.7 - 4.3
<i>lf(terrain)</i>	D	fev-08	≈ 2-3 mois	93	3.1	143	4.7

Tableau IV-3 : Comparatif des temps de transit calculés par le traçage ponctuel et continu

Nous pouvons remarquer que dans la majorité des cas, le HIX relatif au massif α' donne une meilleure approximation des temps de transit. En effet, huit sur les dix temps de transit obtenus par le traçage ponctuel valident cette relation. Cependant, nous pouvons noter que pour des temps de transit relativement courts (entre 2 et 5 mois) le HIX relatif au massif α semble donner de meilleurs résultats. Ainsi, il nous est possible d'améliorer le calage des courbes de traçage temporel continu en ajoutant les données obtenues par le traçage temporel ponctuel.

IV.2.3.2 Application sur les systèmes de Fontaine de Vaucluse et St Trinit

Afin d'améliorer la validation de la relation relative au HIX α' , nous avons appliqué cette dernière à une source pérenne du plateau d'Albion (St Trinit) et à l'exutoire principal du système de Fontaine de Vaucluse, présentant les mêmes caractéristiques climatiques et morphologiques que les écoulements du LSBB, mais impactés par une pollution anthropique. Le HIX α' de St Trinit varie de 4.73 à 5.67, donnant par calcul un temps de transit variant de 115 jours \pm 1 mois à 157 jours à \pm 1.5 mois, correspondant bien aux valeurs moyennes du temps de transit définies par Batiot (2002). En revanche, les valeurs du HIX α' de la Fontaine de Vaucluse correspondent à un temps de transit variant de 93 jours \pm 1mois à 124 jours \pm 1.5 mois, ce qui est très faible, d'autant plus que la période des prélèvements se situait au cours d'un étiage exceptionnel (Débit minimal de 2.1 m³/s).

Par conséquent, alors qu'une pollution anthropique (St Trinit) ne semble pas affecter la qualité de notre traceur du temps de transit, des difficultés apparaissent lorsqu'il est utilisé pour des hydrosystèmes ayant des réserves importantes, dans lesquelles des eaux pluriannuelles (où la signature organique présente une maturation très importante) sont mélangées avec des eaux récemment infiltrées (Fontaine de Vaucluse).

IV.3 Apport à la dynamique de la MOD dans les hydrosystèmes karstiques

Nous avons vu, dans la partie I.3.2, les principaux phénomènes naturels responsables des variations de la concentration et de la nature des matières organiques naturelles depuis le sol jusqu'à l'exutoire. Comme nous utilisons un traceur réagissant avec son environnement, il est intéressant de connaître les modalités du devenir du traceur organique (MOD) dans le karst et dans quelles mesures les types de molécules utilisées sont touchés par ces phénomènes. Pour cela, un ensemble d'expérimentations a été mené concernant l'extraction de la matière organique des sols, la lixiviation et le suivi d'un réacteur de simulation du karst en laboratoire.

IV.3.1 *Signal d'entrée : comparaison des MOD lixiviées et extraites*

IV.3.1.1 Protocole d'extraction des matières organiques du sol

L'extraction des MOD de sol a été réalisée en quatre étapes (Figure IV-12). Tout d'abord, un mélange grossier est effectué entre 100 g de sol, préalablement broyé, et 200 g d'eau Milli-Q (18 M Ω .cm ; [COD] < 0.1 mg/L). L'échantillon obtenu est ensuite placé dans un agitateur à bascule REAX2 de @Heidolph pendant 1 h à 35 tr/min. Puis, afin de faciliter la récupération de la solution de sol, les échantillons sont placés dans une centrifugeuse SIGMA 6K15 de @Biolock pendant 10 min à une vitesse de 5000 tr/min. Enfin, l'extrait est obtenu par filtration à 0.7 μ m sur filtre en fibre de verre (préalablement chauffé à 500 °C). La MOD extraite par cette méthode représente la quantité totale de MOD du sol.

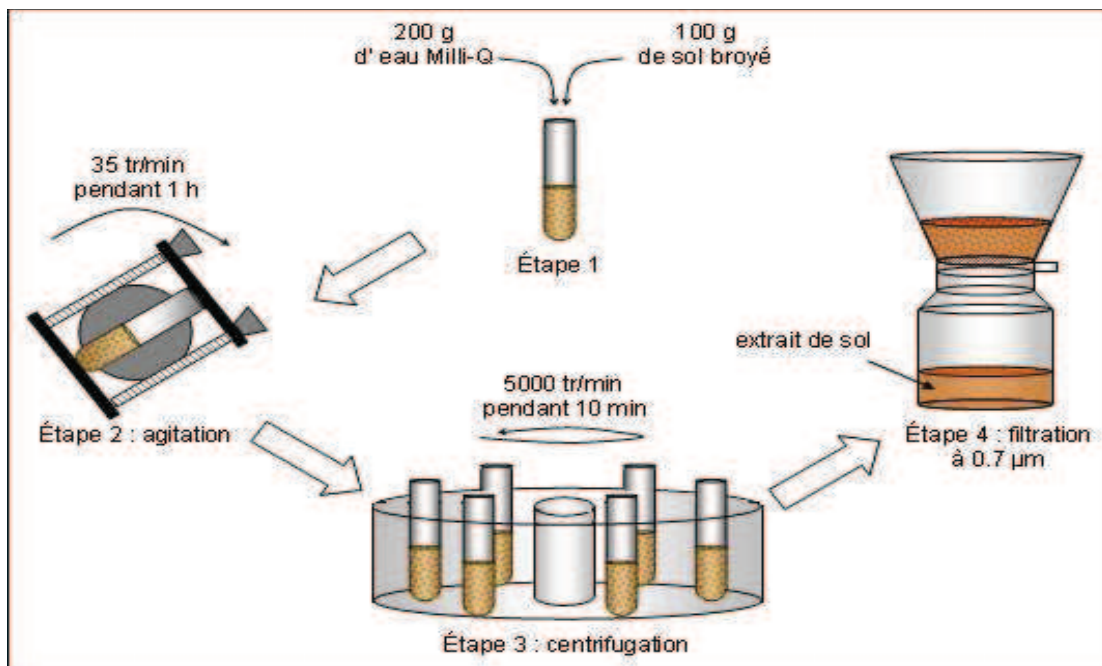


Figure IV-12 : Protocole d'extraction de la MOD des sols

IV.3.1.2 La lixiviation, un premier tri des MOD du sol

Il est intéressant de savoir quelle est la proportion de la MOD du sol qui est entraînée par les eaux de pluie dans l'hydrosystème. Pour cela, nous avons suivi le rapport entre la concentration en MOD des lixiviats et celle des extraits correspondants. La Figure IV-13 nous montre la fraction moyenne de la MOD transportable par les eaux d'infiltration des différents sols, par rapport à la quantité présente dans ceux-ci. Nous pouvons tout d'abord remarquer que la proportion de la MOD mobilisable par l'infiltration des précipitations reste faible (en moyenne sur les trois sols environ 25 %). Cependant, il existe tout de même des différences notables suivant la couverture des sols. En effet, il apparaît que le sol nu (SE1) possède une fraction mobilisable par les eaux d'infiltration plus importante que les sols sous couvert végétal (SA et SE2). Ceci peut s'expliquer par le fait que les sols nus sont beaucoup plus sujets à l'érosion [Roose (1994)]. Ainsi, les structures organiques qui les composent sont beaucoup plus fragmentées et/ou fragiles, et libèrent donc plus facilement leurs composés organiques dans l'eau.

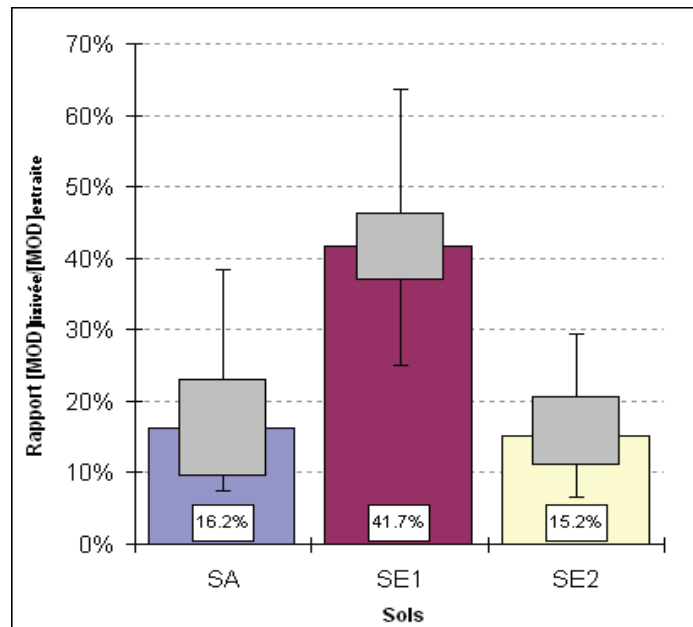


Figure IV-13 : Fraction de la MOD entraînée par les eaux d'infiltration (pour chaque sol n = 14)

L'examen des MEE des extraits de sol (Figure IV-14), notamment la position en longueur d'onde d'émission du maximum de fluorescence, corrobore cette observation. En effet, les MOD extraites du sol SE1 (sans couvert végétal) possèdent des massifs de fluorescence légèrement décalé vers des longueurs d'onde d'émission plus petites que ceux des sols SA et SE2 (sous couvert végétal). On passe par exemple d'une longueur d'onde d'émission maximale du massif α de 470 nm pour le lithosol sols sous couvert végétal, à 446 nm pour le lithosol nu. Les MOD fluorescentes de SE1 ont donc un poids moléculaire légèrement plus faible que celles extraites des sols SA et SE2.

De la même manière, on montre que la MOD lixiviée des sols correspondants ont une taille plus petite que celle extraite. Ceci rejoint le discours tenu dans la partie I.3.2.1, selon lequel la solubilité de

la MOD dépend de son degré de polymérisation : l'eau météoritique en s'infiltrant dans le sol rencontre des structures organiques plus ou moins polymérisées suivant le contexte climatique, mais aussi suivant le degré d'érosion du sol. Ainsi, plus ces polymères organiques seront fragiles ou fragilisés, plus ils vont libérer de substances organiques d'un poids moléculaire beaucoup plus faible que ces derniers.

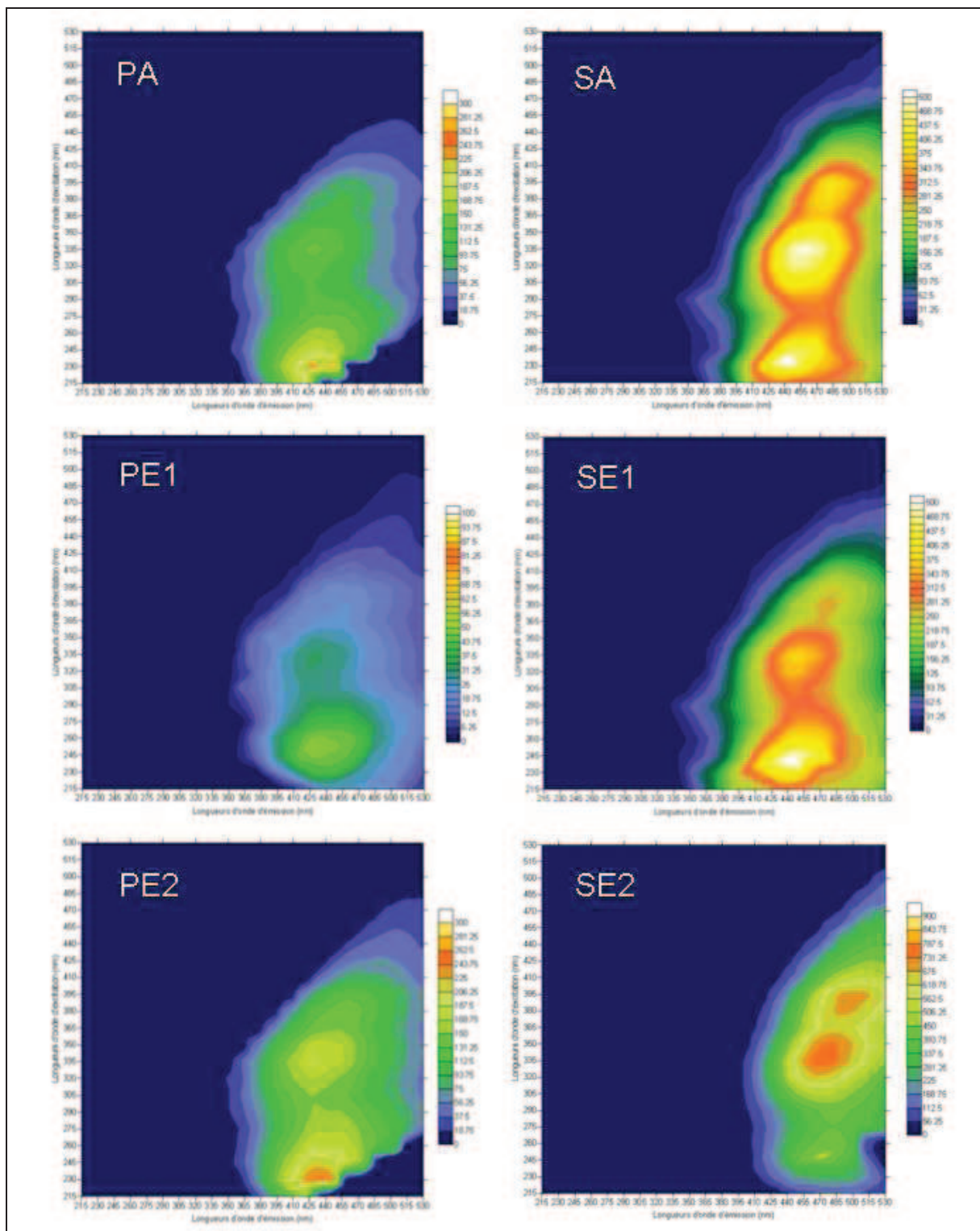


Figure IV-14 : Comparaison des spectres de fluorescence 3D des lixiviats (colonne de gauche) et des extraits (colonne de droite) de sol correspondants

IV.3.2 *Evolution de la MOD dans l'hydrosystème*

Une fois la MOD entrée dans le système, nous avons vu qu'elle subit deux principaux phénomènes : la biodégradation et l'adsorption. Nous allons donc essayer de caractériser dans quelles mesures ces phénomènes agissent sur la MOD globale et celle fluorescente.

IV.3.2.1 **Caractéristiques du réacteur « mini-karst »**

Afin de caractériser les phénomènes responsables de la diminution de la concentration (cf. I.3.1.2), mais aussi de la taille (cf. III.3.1.3) de la MOD dans un hydrosystème karstique, nous avons mis en place en laboratoire un réacteur carbonaté dans lequel un lixiviat de sol a pu évoluer pendant 6 mois.

IV.3.2.1.1 *Préparation d'une solution se rapprochant d'une eau d'infiltration*

Puisque nous voulons nous rapprocher le plus possible du signal d'entrée de notre site d'étude (LSBB), nous avons prélevé les deux principaux types de sol présents sur le bassin d'alimentation des écoulements étudiés, à savoir les sols SA et SE1. Pour chacun d'eux, nous avons arrosé, à l'aide d'un diffuseur à air comprimé, une colonne de sol de 27 cm d'épaisseur sur une surface de 0.1 m², avec de l'eau distillée (2.5 µS/cm et [COD] < 0.1 mg/L). Le débit de la « précipitation » simulée a été surveillé de façon à ce qu'il n'y ait pas de submersion, et correspond à une intensité de 100 mm/h (Figure IV-15). Les lixiviats obtenus ont été mélangés en respectant les proportions de la couverture des sols sur le terrain : 55 % (SA) – 45 % (SE1). Une fois le mélange homogénéisé, il est placé dans le réacteur.

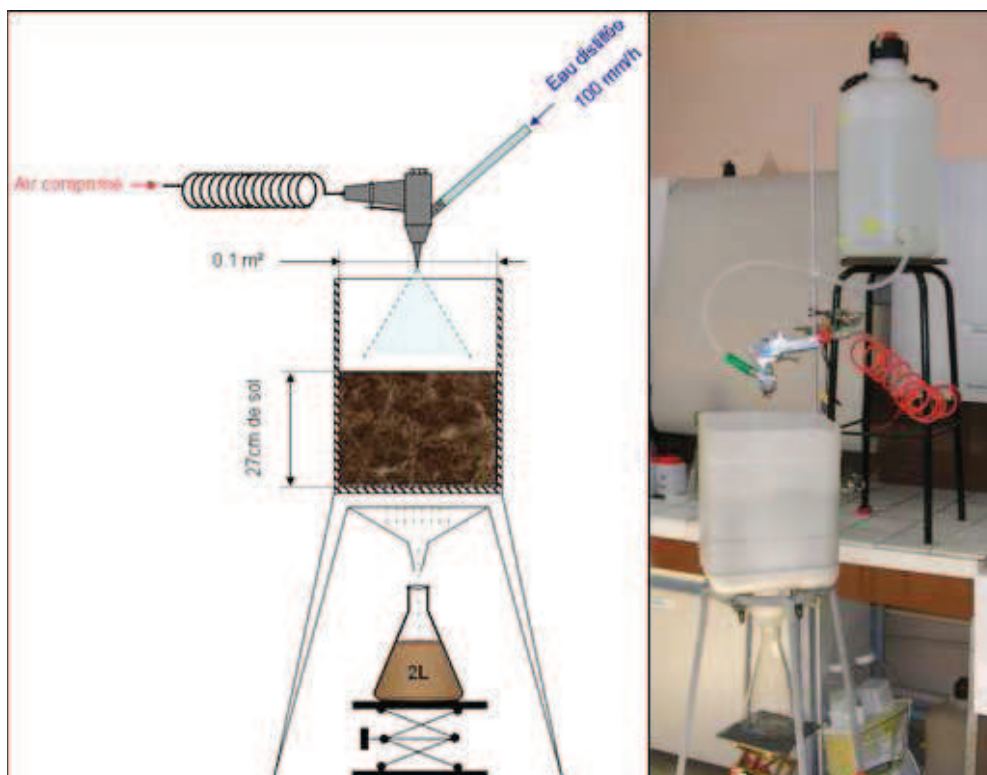


Figure IV-15 : Montage de percolation équivalent à une pluie de 100 mm/h

IV.3.2.1.2 *Mise en place du réacteur « mini-karst »*

Toujours dans un souci de se rapprocher le plus possible de l'hydrosystème karstique de notre site d'étude, la précédente solution de sol est versée dans un aquarium rempli de fragments de calcaire, prélevés dans la galerie anti-souffle du LSBB. Ce même aquarium est placé dans un bain thermostaté à une température d'environ 16 °C, et une pompe d'aquarium a été installée à sa base pour que l'eau puisse circuler dans tout le réacteur (Figure IV-16). L'ensemble du système est placé dans une pièce climatisée et dans l'obscurité.

Les échantillons sont prélevés grâce à une dérivation du circuit sortant de la pompe. La conductivité, la température et le pH de la solution ont été mesurés en continu afin de vérifier la stabilité du système et une sonde de mesure de l'oxygène dissout permet la mesure de ce paramètre au moment de chaque prélèvement.

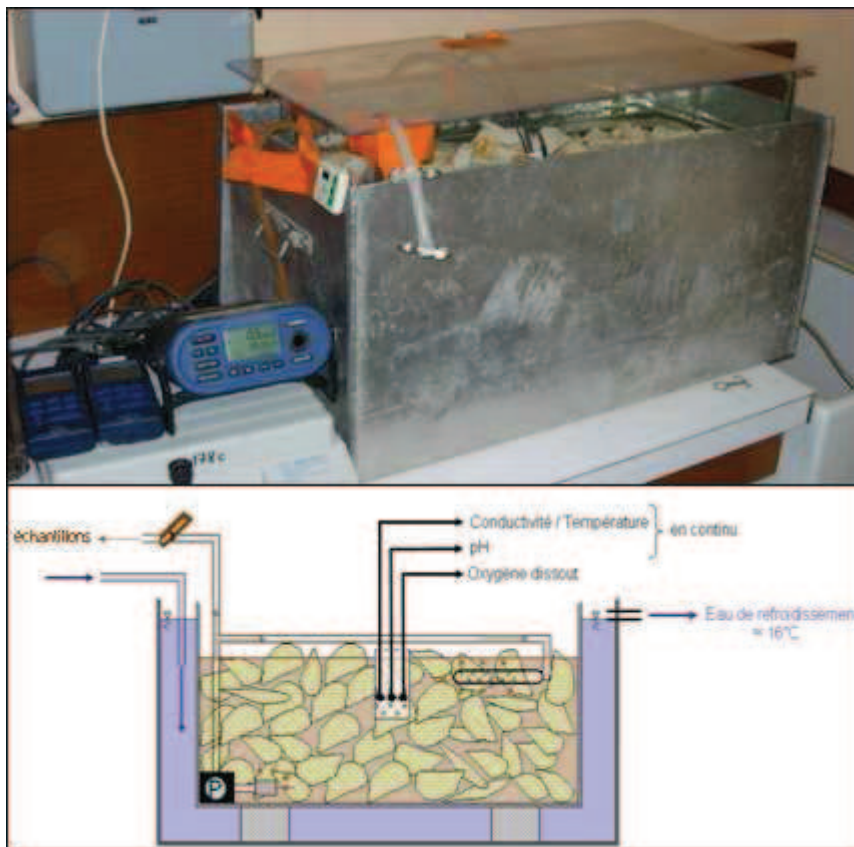


Figure IV-16 : Montage du réacteur « mini-karst »

L'objectif de cette expérience est de comparer les cinétiques de disparition de la MOD entre l'hydrosystème naturel et le réacteur et de caractériser dans quelle proportion les phénomènes responsables de cette disparition agissent sur les MOD.

IV.3.2.2 **Dynamique évolutive de la MOD globale**

Nous avons vu dans la partie II.3.2.2 que Batiot *et al.* (2000) avait déjà réalisé ce genre d'expérimentation dans un réacteur fermé vis-à-vis de l'atmosphère contrairement au nôtre, et avait

suivi l'évolution de la concentration en MOD en fonction du temps de séjour. La Figure IV-17 nous permet de comparer l'évolution de cette dernière pour le système naturel, le réacteur en milieu aérobie et le réacteur en milieu anaérobie de Batiot *et al.* (2000).

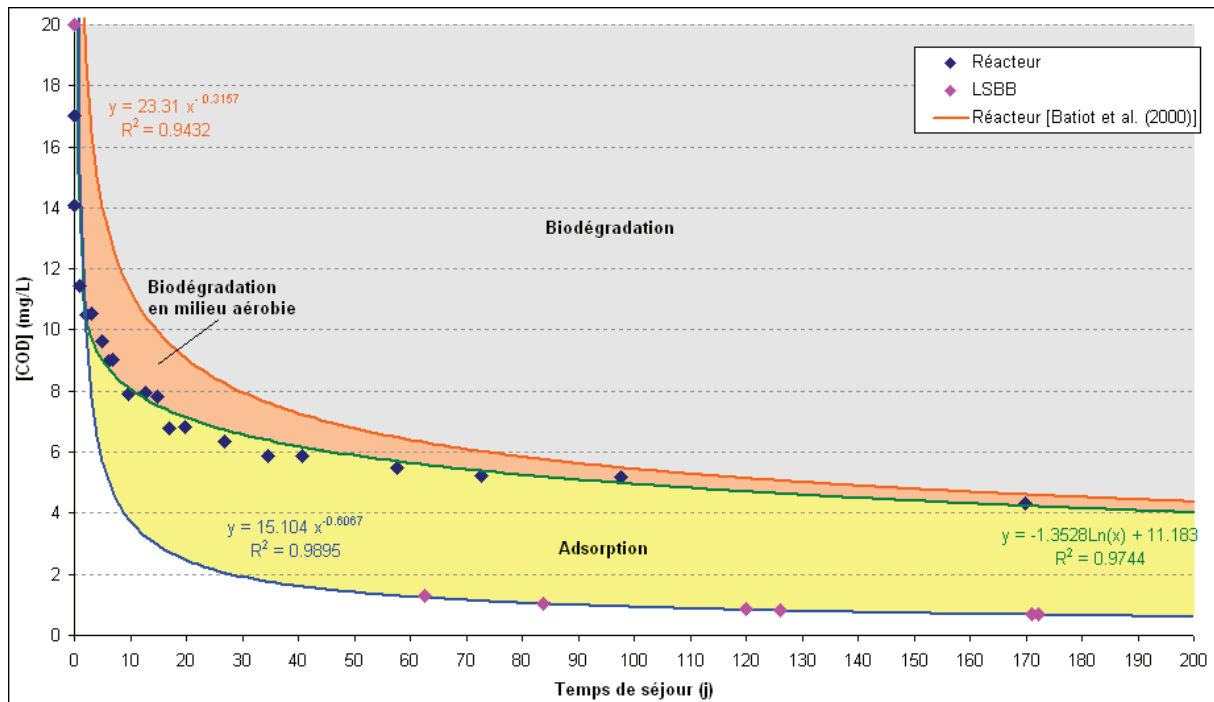


Figure IV-17 : Comparaison des évolutions de la concentration en MOD en fonction du temps de séjour pour le système naturel, le réacteur « mini-karst » et le réacteur de Batiot *et al.* (2000)

Il est à noter tout d'abord que la cinétique de disparition de la MOD « mobile » (c'est-à-dire présentes dans l'eau) est plus rapide dans le milieu naturel que dans les réacteurs, qu'ils soient oxygénés ou non. L'activité bactérienne n'est donc pas totalement responsable de la dynamique globale des MOD mobiles. Nous mettons ainsi en évidence le rôle non négligeable de la capture de celles-ci par adsorption. En effet, la surface de contact du calcaire, contenu dans les réacteurs, est nettement plus faible que dans un système naturel, qui contient, par conséquent, beaucoup plus d'agiles de décalcification et a fortiori plus de sites d'adsorption. D'autre part, les expériences de Morrissey & Grismer (1999) ont montré que le phénomène d'adsorption des composés organiques sur différents types d'argiles est relativement rapide et quasiment irréversible. Nous pouvons donc postuler que, dans les réacteurs, ces sites d'adsorption de la MOD sont rapidement saturés et ainsi, l'évolution de leur concentration n'est due, très vite, qu'à la biodégradation.

La différence, relativement faible, entre le réacteur mini-karst et le réacteur de Batiot *et al.* (2000) est probablement due à la différence d'oxygénation du système. En effet, ce dernier opérait en milieu fermé et il est probable que le manque d'oxygène ait pu limiter les cinétiques de biodégradation. Par contre, à 200 jours, les métabolites aérobie ou anaérobie parviennent au même taux de COD minéralisé. Ainsi, seule la vitesse de biodégradation a été impactée par la différence d'oxygénation.

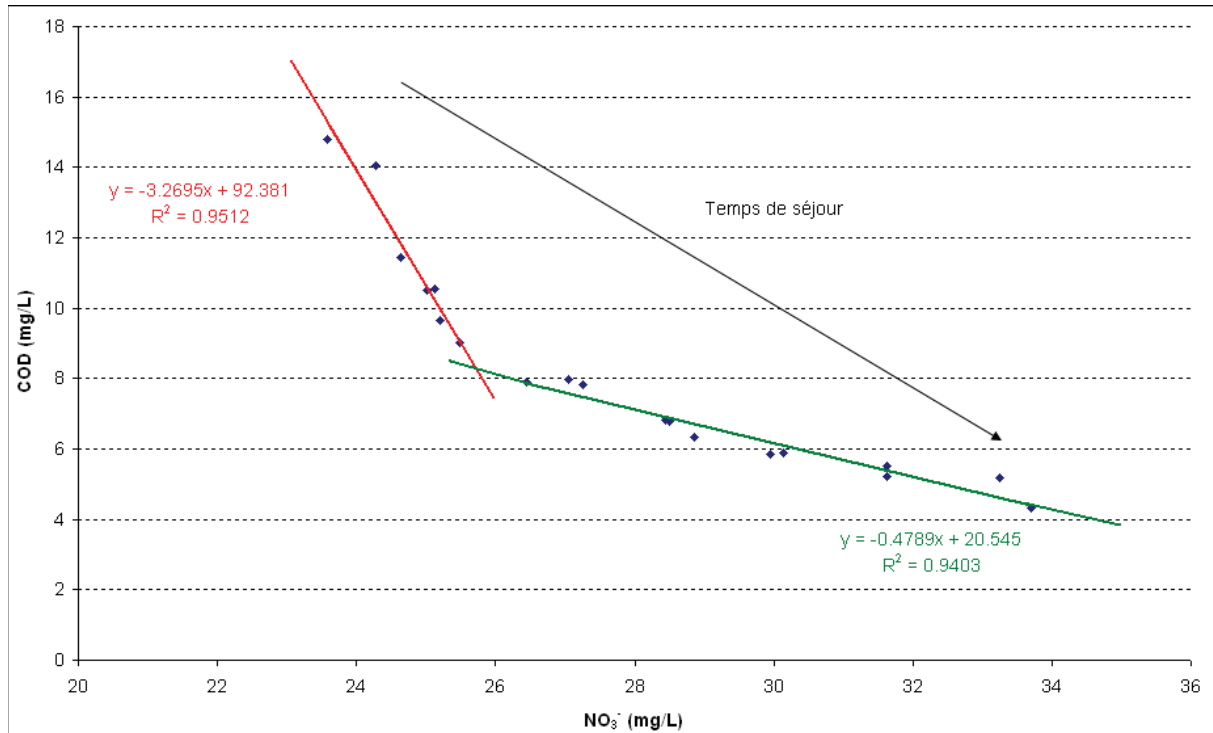


Figure IV-18 : Evolution comparée des concentrations en MOD et du nitrate dans le réacteur « mini-karst »

Au cours de l'expérimentation, nous avons remarqué une augmentation des nitrates. Comme la seule source d'azote dans le réacteur est la MOD, ces nitrates ne peuvent qu'avoir pour origine la biodégradation des MOD azotées. La Figure IV-18 nous montre que la minéralisation de ces molécules organiques azotées est moins importante au début de l'expérience, qu'à la fin. En effet, à partir du 26^{ème} jour, nous pouvons observer une forte augmentation de l'apparition des nitrates dans le réacteur. Emblanch *et al.* (2008) ont observé le même déphasage entre la production de nitrates et la minéralisation du COD. Ceci nous indique donc que la population bactérienne a tendance à s'attaquer d'abord à des substances carbonées labiles contenant peu d'azote. Puis, à cause de la diminution de concentration de ces molécules, elles commencent à consommer des molécules contenant plus de groupements azotés. Par conséquent, la minéralisation des MOD labiles n'est pas aléatoire. Les composés biodégradables formés de liaisons simples entre atomes de carbone seront les premiers à être minéralisés, puis les bactéries commencent à dégrader des groupements azotés, qui par nitrification vont augmenter de façon drastique les teneurs en nitrates.

IV.3.2.3 Dynamique évolutive des traceurs organiques fluorescents

Intéressons-nous maintenant aux phénomènes responsables de la diminution de la taille des composés fluorescents. En effet, dans la partie III.3.1.3, nous avons remarqué un déplacement vers de plus petites longueurs d'onde d'émission des massifs de fluorescence en fonction du temps de séjour. Cette intéressante observation nous a permis d'obtenir un bon traceur du temps de séjour par

l'intermédiaire du HIX (cf. IV.2), qui peut être considéré comme le rapport entre des molécules de taille importante et des molécules de taille plus petite.

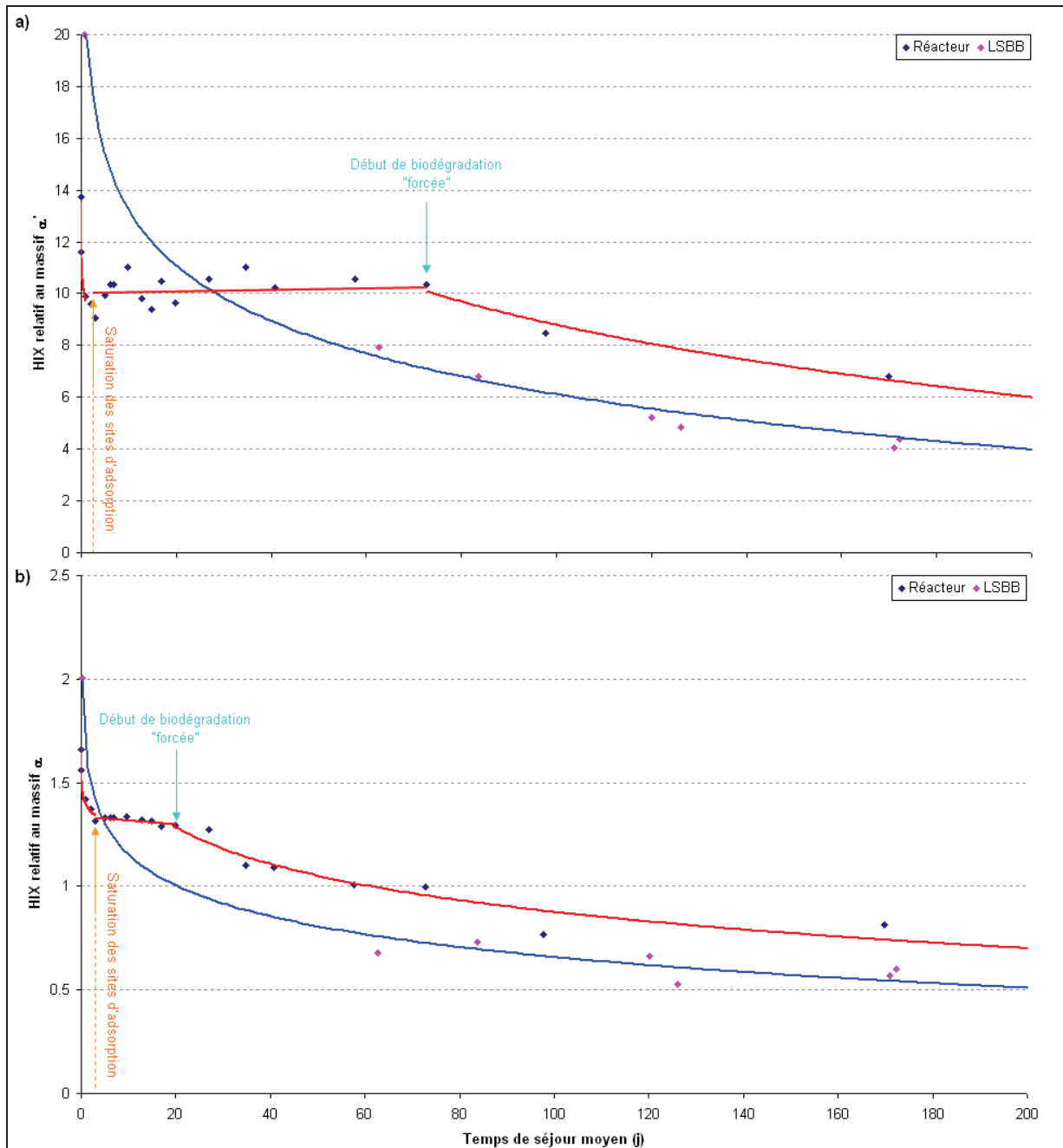


Figure IV-19 : Comparaison de l'évolution du HIX α (a) et HIX α' (b) dans le réacteur et le système naturel (LSBB). La courbe rouge montre seulement l'allure générale de l'évolution des HIX dans le réacteur (ce n'est pas une régression)

La Figure IV-19 nous montre une évolution du HIX structurée différemment entre le réacteur et le système naturel. En effet, si nous examinons l'allure générale des courbes (rouges et bleues sur la Figure) obtenues, nous remarquons que le HIX relatif au réacteur atteste d'une diminution en palier alors que celui relatif au système naturel observe une diminution continue. Sachant que dans le réacteur les MOD ne subissent que la biodégradation, cette différence nous indique que les substances

organiques fluorescentes sont assez réfractaires vis-à-vis de la minéralisation. Par conséquent, le principal phénomène responsable de la diminution de la taille des molécules fluorescentes ne peut être que l'adsorption. Aussi, si nous regardons de plus près les variations du HIX dans le réacteur, nous pouvons voir d'abord une diminution qui se stoppe au bout de quelques jours. Nous pouvons attribuer ceci à la saturation des sites d'adsorption. Puis, l'indice se stabilise, ce qui atteste de la résistance des molécules fluorescentes à la biodégradation. Enfin, les MOD labiles se faisant de plus en plus rares, les bactéries doivent mettre en place un système enzymatique compétent pour s'attaquer à des molécules plus résistantes et de ce fait vont commencer à dégrader les substances fluorescentes, ce qui cause la reprise de diminution du HIX que l'on observe après 75 jours pour les molécules relatives au massif α' et après 20 jours pour les molécules relatives au massif α . Nous pouvons encore remarquer que les molécules du massif α sont beaucoup plus facilement dégradées par les bactéries, puisque la reprise de dégradation est plus rapide, ce qui explique le fait que le domaine de validité de la relation $HIX\alpha$ en fonction du temps de séjour soit beaucoup plus restreint que celui de la relation $HIX\alpha'$ en fonction du temps de séjour.

Cette analyse démontre encore le potentiel des traceurs fluorescents, notamment les molécules fluorescentes relatives au massif α' . En effet, elles sont extrêmement résistantes à la biodégradation, et ainsi leurs signaux ne seront pas ou très peu altérés au cours de leur trajet. Par conséquent, dans un hydrosystème, le seul phénomène subit par ces MOD fluorescentes est l'adsorption, qui va capturer, progressivement et de façon quasi irréversible, les plus grosses molécules fluorescentes, diminuant ainsi petit à petit la taille moyenne de celles qui restent mobiles dans l'eau souterraine.

IV.4 Contributions des traceurs organiques aux traçages naturels habituellement utilisés dans les hydrosystèmes karstiques

Dans la partie III.1.1.2, nous avons discuté du besoin de développer un traceur hydrogéologique temporel pour quantifier des temps de transit inférieur à l'année. Nous avons alors démontré, dans les parties IV.2 et IV.3, l'intérêt des MOD, et plus particulièrement leur fluorescence et leur spectre RPE, pour obtenir une quantification satisfaisante des courts temps de séjour moyens des écoulements de la zone non saturée du LSBB. Il existe tout de même d'autres traceurs capables, dans certaines conditions, de marquer précisément une masse d'eau, pouvant être suivie jusqu'à l'exutoire, à une période donnée, et ainsi répondre à cette même problématique : les isotopes de la molécule d'eau, et plus précisément l' ^{18}O [Celle (2000)]. Nous allons donc démontrer dans quelles mesures l'indice du flux de fluorescence ($I_{f(350/427)}/[\text{COD}]$) et l' ^{18}O sont deux traceurs complémentaires et non redondants du temps de séjour. Cette partie a fait objet d'une conférence invitée au JESIUM 2008 [Blondel *et al.* (2008)] et à la suite du congrès d'une note spéciale dans le journal *Isotopes in Environmental and Health Studies* à paraître.

IV.4.1 Rappels sur les modes d'utilisation de l' ^{18}O

IV.4.1.1 La méthode d'analyse isotopique

Les mesures en isotopes stables, notamment en ^{18}O , se font généralement de façon différentielle à l'aide du rapport d'abondance R puis par comparaison avec un standard. Ce standard VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water), accepté comme référence internationale depuis une quarantaine d'années, représente la composition moyenne des eaux océaniques. Les résultats d'analyse isotopique s'expriment donc en δ ou parts pour mille de différence par rapport au VSMOW.

$$R = \frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}}$$

$$\delta \text{‰} = \left[\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{VSMOW}}} - 1 \right] \times 1000$$

Toutes les mesures se font donc grâce à un spectromètre de masse du type « Isoprime » de dernière génération, couplé à un automate « Aquaprep » de préparation de l'oxygène de l'eau par méthode d'équilibration avec CO_2 gazeux en mode Dual Inlet, de ®GV instrument situé au Laboratoire Mutualisé d'Analyse des isotopes stables de l'eau (LAMA).

IV.4.1.2 **Principaux effets causant les variations du signal $\delta^{18}\text{O}$**

Le principal phénomène physique responsable des variations du signal $\delta^{18}\text{O}$ est le fractionnement isotopique. Notamment lors des changements de phase, les isotopes lourds vont être plus ou moins séparés des isotopes légers, augmentant, ou diminuant le cas échéant, le rapport d'abondance R. Il existe différents effets (décrits de façon plus détaillée en Annexe 2 p.185) associés à ce phénomène physique :

- ◇ à l'échelle globale, l'effet de continentalité et latitudinal
- ◇ à l'échelle régionale, l'effet altitudinal, de saisonnalité et les événements pluvieux particulier.

Pour notre problématique du traçage des temps de séjour inférieurs à 1 an, il s'avère que ce sont les phénomènes liés à la saisonnalité et à l'apparition d'événements pluvieux à signature particulière qui pourront être utilisés.

IV.4.2 *Applications du traçage isotopique à un écoulement du LSBB*

IV.4.2.1 **Difficile estimation du temps de séjour de l'écoulement B par l' ^{18}O**

Pour se placer dans les meilleures conditions, nous nous sommes intéressés à l'écoulement B, dont le fonctionnement hydrologique est assez bien défini, puisqu'il s'agit d'un mode par effet piston (cf. II.3.2.1). La Figure IV-20 nous montre les précipitations et les variations du signal $\delta^{18}\text{O}$ des pluies et de l'écoulement. Nous pouvons noter, tout d'abord, la très grande irrégularité du signal $\delta^{18}\text{O}$ des précipitations, dans lequel on peut tout de même envisager une saisonnalité. D'autre part, il est à signaler une très grande atténuation du signal au niveau de l'exutoire. En effet, les variations sont au maximum de $0.3 \delta^{18}\text{O}\text{‰}$, et donc très proches de l'erreur analytique. Malgré cela, nous pouvons tout de même remarquer des événements pluvieux exceptionnels caractérisés par leur intensité et leur signature $\delta^{18}\text{O}$. Nous pouvons alors essayer, avec toutes les précautions qui s'imposent, de trouver l'arrivée de l'eau issue de ces événements pluvieux particuliers au niveau de l'exutoire. Nous obtenons alors un temps de séjour de 5 à 8 mois, ce qui est tout à fait conforme à ce que nous avons pu voir dans la partie IV.2.

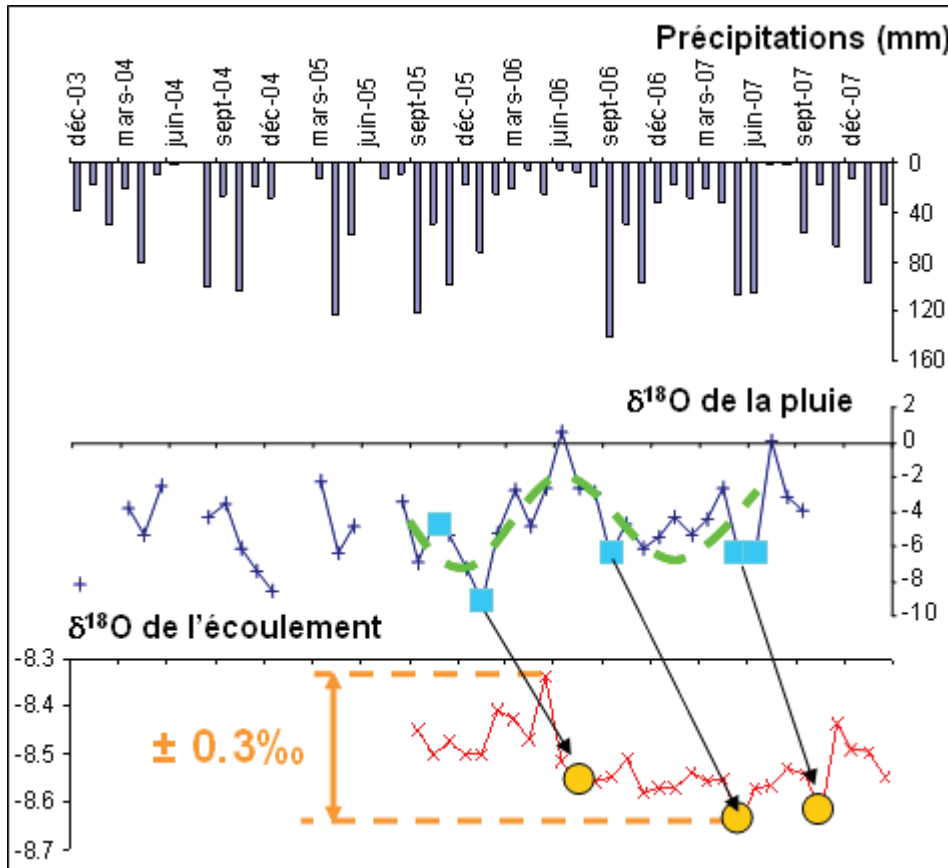


Figure IV-20 : Estimation du temps de séjour de l'écoulement B par l' ^{18}O

Face à ces difficultés d'interprétation, il nous faut déterminer les causes principales de l'irrégularité du signal $\delta^{18}\text{O}$.

IV.4.2.2 Les causes de l'irrégularité des variations en ^{18}O

Tout d'abord, il faut rappeler les conditions hydrologiques et climatiques de notre secteur d'étude durant la période de nos travaux (2005 – 2008). Dans la partie II.1.5.2, nous avons noté l'aspect exceptionnel du climat de la région. En effet, il existe une alternance de saisons humides et sèches au cours de l'année et l'évapotranspiration devient excédentaire entre mars et septembre. De plus, depuis 2003, le régime hydrique annuel est largement déficitaire.

D'autre part, grâce aux informations fournies par le bulletin hebdomadaire d'études et de renseignements publié par Météo-France, Celle (2000) a défini trois principales origines pour les pluies affectant la région avignonnaise (Figure IV-21) : méditerranéenne (flux de Sud), atlantique nord (flux de Nord-Ouest) ou mixte (flux d'Ouest). Les précipitations d'origine mixte correspondent à un flux venant d'Atlantique central ou à un mélange chronologique entre les deux types méditerranéen et atlantique.

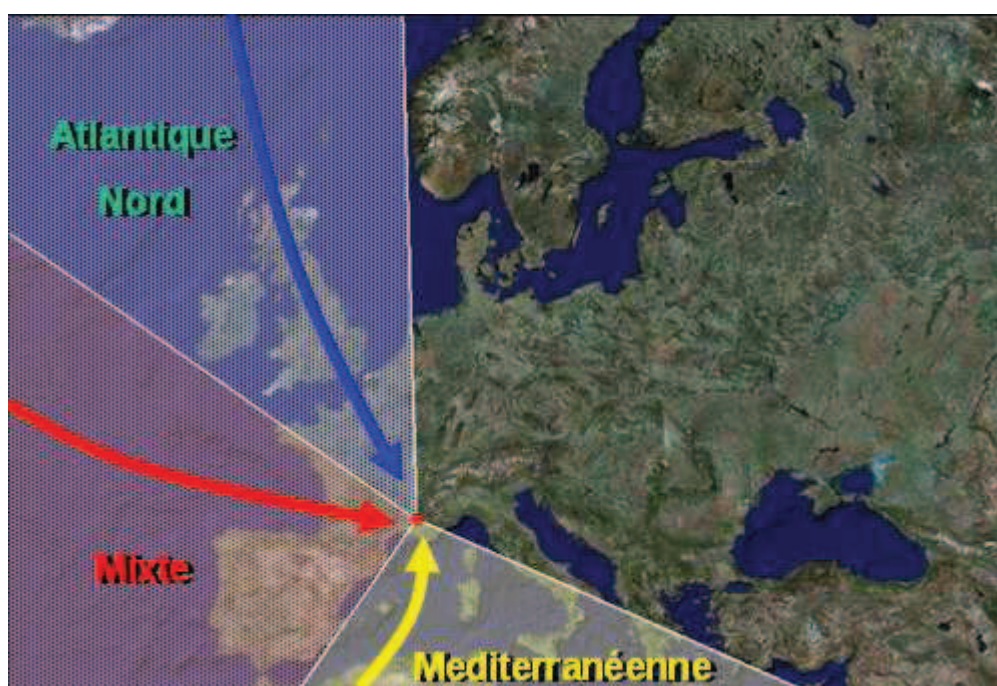


Figure IV-21 : Origine des masses d'air sur le bassin méditerranéen occidental [d'après Celle (2000)]

Celle (2000) a ensuite montré que ces trois origines possèdent une signature $\delta^{18}\text{O}$ différente les unes par rapport aux autres. Il s'avère cependant que l'origine méditerranéenne fournit la moitié du volume d'eau précipité sur la région et donc participe de manière essentielle à la recharge des aquifères locaux (Tableau IV-4).

		Méditerranéenne	Atlantique nord	Mixte
<i>Avignon</i>	Proportion représentative	54 %	12.4 %	33.6 %
	Signature moyenne	-4.62 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	-8.48 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	-7.01 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$
<i>Carpentras</i>	Proportion représentative	53.2 %	22.7 %	24.1 %
	Signature moyenne	-4.86 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	-7.53 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	-6.25 $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$

Tableau IV-4 : Distribution des événements pluvieux selon leur origine et signature moyenne en $\delta^{18}\text{O}$ [d'après Celle (2000)]

Du fait de cette grande hétérogénéité dans la signature isotopique des pluies et des conditions hydrologiques extrêmes de la région, il est logique de s'attendre à des difficultés d'interprétation des variations en $\delta^{18}\text{O}$. Afin de s'affranchir des variations dues aux différences d'origine des masses d'air, il nous faut un nouveau traceur indépendant de la nature des précipitations et capable de mesurer des temps de séjour inférieur à l'année, d'où l'utilisation des MOD.

IV.4.3 Complémentarité du traceur organique et du traceur isotopique

D'après nos récents développements dans le domaine du traçage temporel par les matières organiques dissoutes, le traceur $\text{If}_{(350/427)}/[\text{COD}]$ semble être le plus intéressant à exploiter pour nous

aider à valider les précédentes interprétations du signal $\delta^{18}\text{O}$. En effet, tout comme l'oxygène 18, il s'agit d'un traceur à marquage saisonnier qui se répète tous les ans.

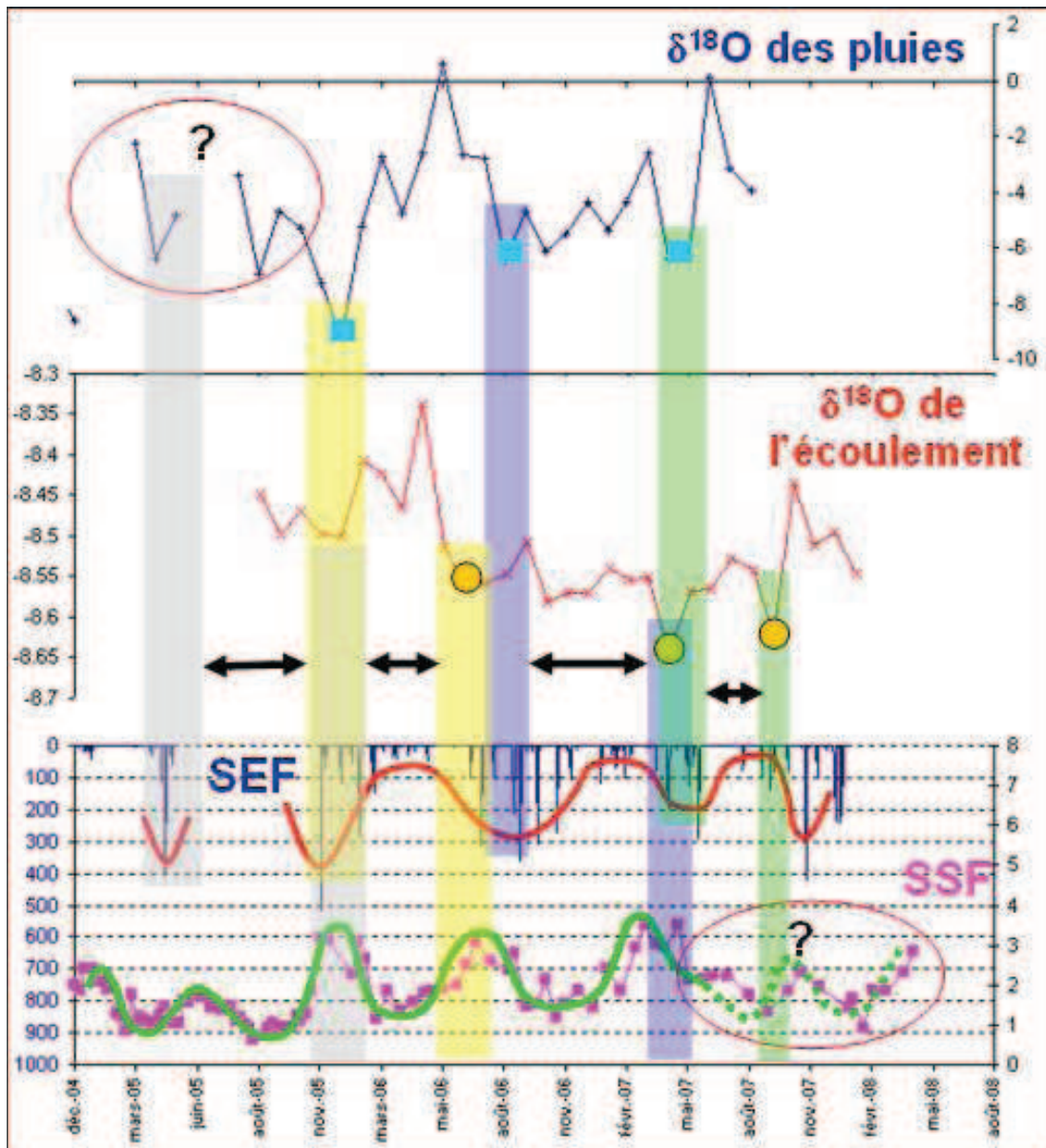


Figure IV-22 : Evolutions conjointes des signaux de fluorescence (SEF = Signal d'Entrée de Fluorescence ; SSF = Signal de Sortie de Fluorescence) et de l'oxygène 18

La Figure IV-22 résume les résultats obtenus à la fois avec le traceur isotopique et le traceur organique. Dans la première partie du suivi, le signal $\delta^{18}\text{O}$ est extrêmement bruité, alors que l'indice de fluorescence au contraire nous permet d'estimer un temps de séjour moyen de 8 mois. Puis, nous pouvons remarquer que les pluies spécifiquement marquées par un $\delta^{18}\text{O}$ faible coïncident avec les pics de fluorescence. Au cours de cette période allant de novembre 2005 à mai 2007, nous pouvons valider grâce à l'indice de fluorescence le temps de séjour difficilement estimé auparavant avec l'oxygène 18. Ainsi, ici, les deux traceurs sont utilisables et se valident l'un l'autre. Enfin, après mai 2007, c'est au tour de l'indice de fluorescence d'avoir un comportement assez erratique. Mais, cette fois-ci, la

signature $\delta^{18}\text{O}$ d'un événement pluvieux spécifique nous permet d'identifier formellement le pic de fluorescence d'octobre 2007.

Il existe donc une complémentarité entre les deux traceurs des temps de séjour : l'oxygène 18 et l'indice de fluorescence $I_{(350/427)}/[\text{COD}]$. Leur utilisation conjointe va dépendre des caractéristiques du signal d'entrée dans le système. En effet, dans le cas où ce dernier est caractérisé par des variations saisonnières seules, les deux traceurs peuvent être utilisés et se valider l'un par rapport à l'autre. Dans le cas où le signal est marqué uniquement par des événements spécifiques, seul l'oxygène 18 pourra nous aider à quantifier un temps de séjour, car il n'y a pas de marquage spécifique de l'indice de fluorescence. Enfin, dans le cas où le signal d'entrée possède une caractéristique à la fois saisonnière et événementielle, les variations de l'oxygène 18 deviennent trop erratiques et cette fois-ci seul le traceur fluorescent peut nous donner une quantification du temps de séjour (Figure IV-23).

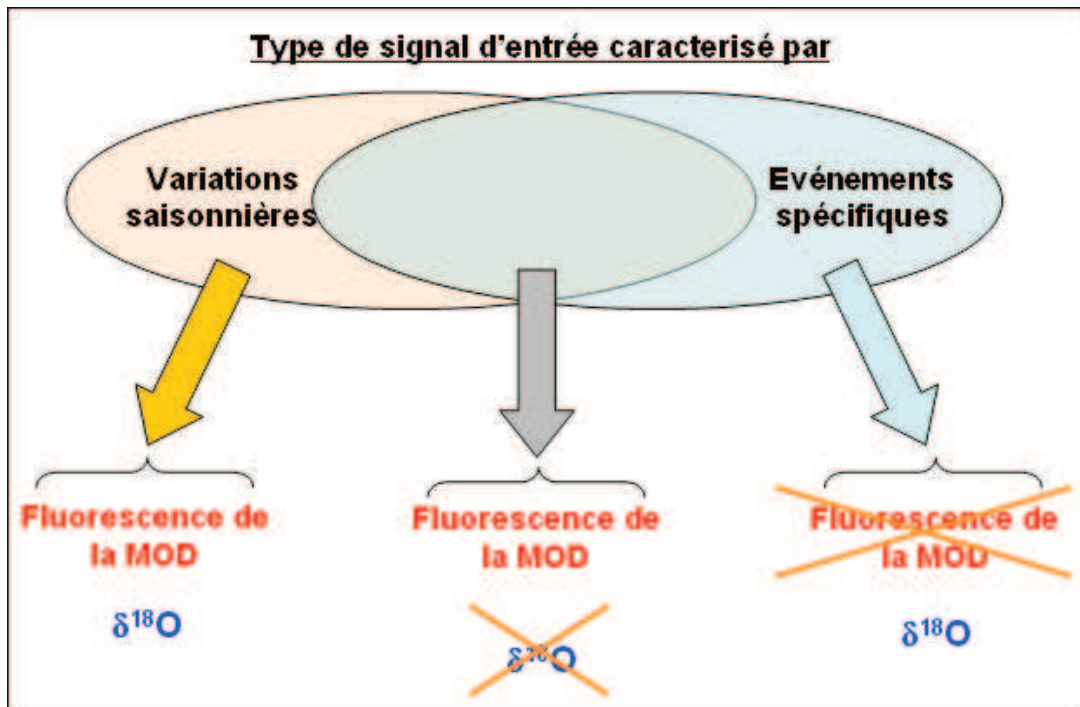


Figure IV-23 : Bilan de l'utilisation conjointe des traceurs du temps de séjour, l' $\delta^{18}\text{O}$ et l'indice de fluorescence

Conclusion générale

Le principal objectif de ce travail était le développement, l'application et la validation de nouveaux traceurs hydrogéologiques sur la base de signatures spectrales spécifiques des matières organiques dissoutes (MOD) et du suivi de leur évolution dans les hydrosystèmes karstiques. Pour cela, nous avons réalisé de nombreuses analyses hydrodynamiques et hydrochimiques, et utilisé plusieurs méthodes de caractérisation de la MOD. Nous avons travaillé à différents niveaux du bassin expérimental de la Fontaine de Vaucluse (sol, épikarst et zone non saturée) entre décembre 2005 et avril 2008. Un accès privilégié à ces différents horizons du karst est rendu possible par l'intermédiaire du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt.

Caractérisation des sources de MOD et des écoulements sur le site d'étude

Afin de mener à bien notre projet de développement d'un nouveau traceur des écoulements karstiques, nous avons d'abord caractérisé la nature et les sources potentielles des MOD (il s'agit de deux familles de sol : un lithosol sur les pentes et une rendzine sur le plateau) sur notre site d'étude. Puis nous avons étudié le fonctionnement hydrodynamique des écoulements rencontrés.

Le LSBB, en recoupant le réseau karstique de façon aléatoire, nous offre la possibilité d'étudier un certain nombre d'écoulements « élémentaires » ayant des comportements et des temps de résidence très différents. Nos résultats confirment et précisent les hypothèses de fonctionnement faites dans les études précédentes :

- ◇ un écoulement « épikarstique » (D), correspondant à la vidange diffuse d'un réservoir situé à l'interface d'une zone fortement remaniée et de la zone non saturée au sens strict,
- ◇ un écoulement rapide purement transmissif (GAS), à l'intersection d'un plan de faille et d'une galerie du laboratoire, répondant de façon impulsionnelle aux précipitations. Il s'agit donc d'un écoulement de type « drain », que l'on retrouve souvent dans les galeries naturelles, représentant l'exutoire d'un réseau très bien karstifié,
- ◇ un autre écoulement du même type que le précédent (C), un peu moins rapide, avec toujours une réponse impulsionnelle aux pluies, mais fonctionnant de manière plus diffuse, attestant d'un réseau moins bien karstifié,
- ◇ deux écoulements beaucoup plus capacitifs (A et B) de type « fracture », correspondant à une vidange diffuse d'un réservoir perché et ayant un fonctionnement se rapprochant d'un type « piston », chassant quasiment sans mélange des eaux plus anciennes à l'arrivée de l'onde des eaux météoriques nouvelles.

Les MOD, un potentiel et des méthodes de détection adaptées pour le traçage hydrogéologique

Un bon traceur hydrogéologique requiert des caractéristiques particulières : une stabilité chimique (peu réactive et récalcitrante vis à vis de la biocénose), une tendance à l'adsorption la plus

faible possible, une bonne solubilité dans l'eau, une limite de détection basse et des variations bien identifiables.

Nous avons alors montré que les composés organiques du sol correspondant le mieux à ces critères sont des substances dérivées de la décomposition de la lignine. Ce sont de relativement petits composés aux groupements aromatiques hydrosolubles, qui ont des propriétés de fluorescence, et de radicaux libres stables. Cependant leur faible concentration au niveau des exutoires, nous oblige à utiliser un mode de détection suffisamment sensible. Les modes de détection les plus adaptés sont donc la spectrométrie de fluorescence et de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE).

L'utilisation des matrices d'excitation-émission nous a permis de caractériser plusieurs types de MOD (les massifs α , α' étant les plus adéquats pour notre problématique, puisque présents à la fois dans les sols et dans les écoulements étudiés ; et parfois les massifs δ et α_e) et de suivre l'évolution de celles-ci à la fois dans les sols au cours des saisons (variations saisonnières d'indices de fluorescence dans les sols), mais aussi tout au long de leur trajet dans le système (décalage des maxima de fluorescence des massifs). D'autre part, les spectres RPE peuvent différencier les grands types de sol présents sur le site d'étude et montre une variation au cours de l'année des espèces paramagnétiques présentes dans les sols.

Ces deux méthodes de caractérisation peuvent donc marquer et différencier une masse d'eau particulière et, par conséquent, nous permettent d'identifier l'origine (traçage spatial) ou encore la période d'entrée dans le système (traçage temporel) des MOD.

Utilisation des matières organiques dissoutes pour le traçage

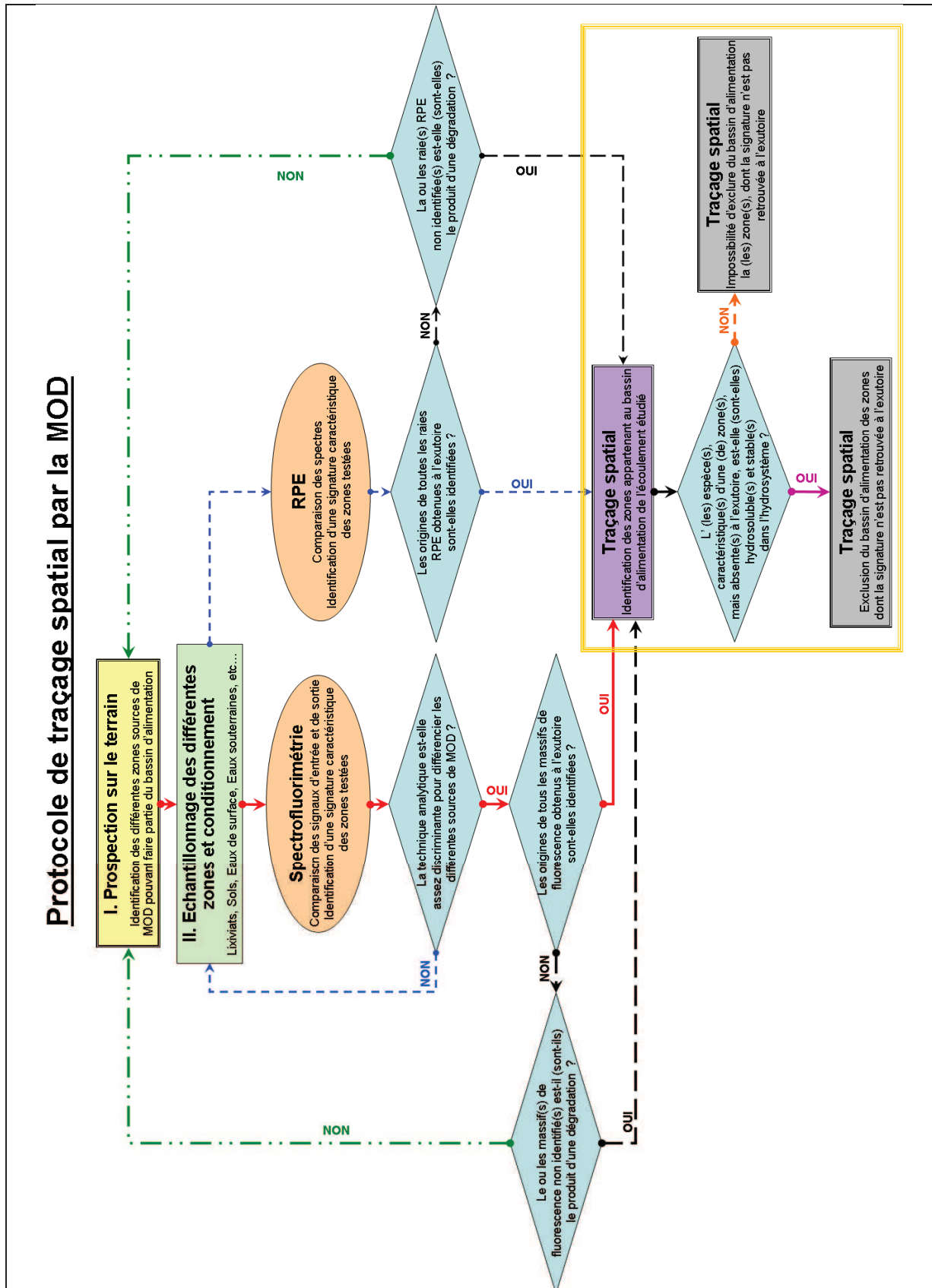
Le traçage spatial

Le traçage spatial consiste à repérer une signature particulière d'une surface donnée, de réussir à la retrouver au niveau d'un écoulement, et ainsi en déduire si cette surface marquée appartient bien au bassin d'alimentation de cet écoulement.

Les matrices d'excitation-émission permettent la caractérisation d'une source anthropique de la MOD présente dans les écoulements et a déjà fait ses preuves pour le traçage spatial. Cependant, elles n'ont pas permis, dans notre cas, de différencier les deux grands types de sol rencontrés sur notre site d'étude (le lithosol et la rendzine).

La RPE, méthode analytique plus sensible que la fluorescence, nous a permis d'identifier une signature particulière des lithosols (SA et SE1) et de conclure que ces derniers font bien partie du bassin d'alimentation de l'écoulement étudié. Cependant, la seule espèce paramagnétique présente dans la rendzine ne nous permet pas d'exclure cette dernière du bassin d'alimentation, car cette espèce, présente aussi dans les lithosols, n'arrive pas à l'exutoire (soit à cause de son hydrophobicité, soit de son adsorption, soit de sa dégradation). D'autre part, une troisième espèce apparaît au niveau de l'écoulement, dont l'origine est inorganique (signature du calcium).

En combinant ces deux méthodes de caractérisation de la MOD, nous avons donc pu établir un protocole opérationnel de traçage spatial (figure ci-dessous).



Le traçage temporel

L'utilisation d'indices de flux de fluorescence et le suivi quantitatif du signal RPE de l'espèce, présente à la fois dans les sols et les écoulements, nous ont permis de déterminer un temps de séjour moyen de l'eau souterraine à l'échelle saisonnière. Nous avons qualifié de ponctuel ce type de traçage temporel, puisqu'il nous donne une quantification du temps de séjour d'un écoulement pérenne à une période particulière, pendant laquelle il possède une signature distincte dont on connaît la date d'entrée dans l'hydrosystème.

L'objectif a été ensuite de développer un traceur pouvant être appliqué de façon continue à un grand nombre de types d'écoulements karstiques. Ce dernier ne devra donc plus être caractéristique d'un signal d'entrée particulier, mais être lié à l'évolution des MOD au sein de l'hydrosystème. Nous avons mis en évidence que la diminution de la taille des molécules fluorescentes permettait déjà une approche qualitative des temps de séjour. C'est pourquoi, nous avons choisi d'utiliser des indices d'humification, basés sur le mode de calcul du HIX de Zsolnay *et al.* (1999) pour essayer de développer un traceur quantitatif du temps de séjour. L'étude de l'évolution de leur valeur moyenne sur deux cycles hydrologiques nous a permis d'établir une relation significative entre les HIX relatifs aux massifs α et α' , et le temps de séjour moyen des écoulements. En fonction de la précision voulue (incertitude sur le temps de séjour déterminé), nous avons défini différents domaines de validité de la relation. De plus, les informations obtenues par les précédents traçages temporels ponctuels, ont validé les valeurs de temps de séjour calculées par ces relations.

Ce nouvel outil de quantification de temps de séjour peut être appliqué à des systèmes de la région, même impactés par une pollution anthropique (comme St Trinit). Cependant, des difficultés apparaissent lorsqu'il est utilisé pour des hydrosystèmes ayant des réserves importantes, dans lesquelles des eaux pluriannuelles (où la signature organique a pratiquement disparue) sont mélangées avec des eaux récemment infiltrées (Fontaine de Vaucluse).

Caractérisation des mécanismes d'évolution des molécules organiques utilisées pour le traçage

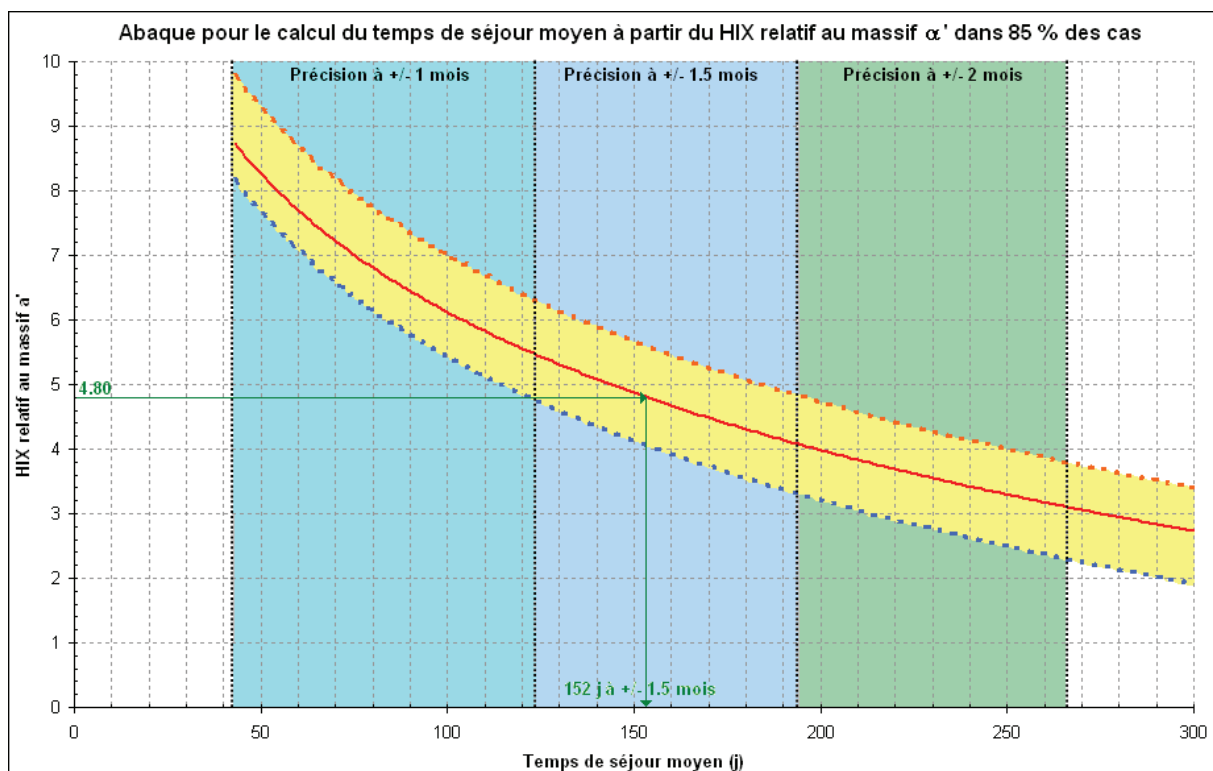
Il apparaît que globalement le HIX relatif au massif α donne des résultats moins intéressants que celui relatif au massif α' . Afin d'expliquer les causes de cette observation, nous avons essayé de caractériser les mécanismes responsables de l'évolution de l'ensemble des molécules organiques, ainsi que de celles utilisées dans le traçage temporel.

Grâce à la comparaison de réacteurs calcaires (en milieu aérobie et anaérobie) et le système naturel du LSBB, nous avons pu déterminer que la diminution des teneurs en COD suivant le temps de résidence de l'eau dans le système était due, tout d'abord, majoritairement à la biodégradation, puis, les phénomènes d'adsorption quasiment irréversibles deviennent prépondérants.

Nous avons également montré que la diminution progressive des HIX, observée dans le système naturel, est essentiellement causée par des phénomènes d'adsorption. D'autre part, la reprise de

biodégradation des substances fluorescentes du massif α intervient beaucoup plus rapidement que celle du massif α' . Ceci montre que ces dernières sont beaucoup plus récalcitrantes que les autres molécules fluorescentes, et ajoute un intérêt supplémentaire à l'utilisation du HIX relatif au massif α' .

Fort de ces remarques, nous pouvons d'ores et déjà utiliser les variations du HIX α' comme un abaque (nous donnant une valeur sûre dans 85 % des cas) pour calculer, un temps de séjour moyen de quelques semaines à pratiquement un an, avec une précision allant de 1 à 2 mois, pour des écoulements issus de systèmes karstiques non impactés significativement par des eaux anciennes (temps de séjour > 1 an) et ayant des caractéristiques du même type que celles que l'on peut rencontrer sur le plateau de Vaucluse.



Complémentarité des traceurs organiques avec les autres traceurs du temps de séjour

Enfin, nous avons montré que ces nouveaux traceurs organiques du temps de séjour apportent une information complémentaire aux traceurs habituellement utilisés, comme par exemple l'oxygène 18. Leur utilisation conjointe va dépendre des caractéristiques du signal d'entrée dans le système :

- ◇ dans le cas où ce dernier est caractérisé par des variations saisonnières seules, les deux traceurs peuvent être utilisés et se valider l'un par rapport à l'autre,
- ◇ dans le cas où le signal est marqué uniquement par des événements spécifiques, seul l'oxygène 18 pourra nous aider à quantifier un temps de séjour, car il n'y a pas de marquage spécifique de l'indice de fluorescence,

◇ dans le cas où le signal d'entrée possède une caractéristique à la fois saisonnière et événementielle, les variations de l'oxygène 18 deviennent trop erratiques et cette fois-ci seul le traceur fluorescent peut nous donner une quantification du temps de séjour.

Ces deux traceurs sont donc parfaitement complémentaires.

Ce travail se situe au croisement de deux champs disciplinaires, à savoir la chimie des composés organiques naturels du sol et des eaux, et le traçage naturel dans des aquifères anisotropes. D'un point de vue hydrogéologique, cette combinaison inédite a permis de :

- ◇ montrer le potentiel des MOD pour le traçage hydrogéologique spatial et temporel,
- ◇ développer plusieurs outils opérationnels pour la détermination des bassins d'alimentation et la quantification des temps de séjour inférieurs à l'année,
- ◇ tester la validité et la complémentarité des traceurs organiques par rapport aux autres habituellement utilisés.

Afin de compléter ce travail, nous devons caractériser à l'échelle moléculaire d'autres traceurs organiques, notamment par des techniques chromatographiques, ou encore valider nos outils dans d'autres contextes climatiques, morphologiques et d'occupation des sols.

Références bibliographiques

- Albéric, P. & Lepiller, M. (1998). Oxydation de la Matière organique dans un système karstique alimenté par des pertes fluviales (Loiret, France). *Water Research*, 32(7): 2051-2064.
- Alberts, J.J. & Takacs, M. (2004). Total luminescence spectra of IHSS standard and reference fulvic acids, humic acids and natural organic matter: comparison of aquatic and terrestrial source terms. *Organic Geochemistry*, 35: 243-256.
- Bahri, H., Rasse, D.P., Rumpel, C., Dignac, M.F., Bardoux, G. & Mariotti, A. (2008). Lignin degradation during a laboratory incubation followed by ^{13}C isotope analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 1916-1922.
- Bakalowicz, M. (1976). Géochimie des eaux karstiques. Une méthode de l'organisation des écoulements souterrains, *2ème colloque d'Hydrologie en pays calcaire*, Besançon, pp. 49-58.
- Bakalowicz, M. (1982). La genèse d'un aquifère karstique vue par un géochimiste, *Reunion Monografica sobre el karst*, Larra, pp. 159-174.
- Bakalowicz, M. (1995). La zone d'infiltration des aquifères karstiques. Méthodes d'étude, structure et fonctionnement. *Hydrogéologie*, 4: 3-21.
- Bakalowicz, M. (1999). Connaissance et gestion des ressources en eaux souterraines dans les régions karstiques, *Guide technique n°3*, Agence de l'eau RMC, Lyon, 44 pp.
- Baker, A. (2001). Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. *Environmental Science and Technology*, 35(5): 948-953.
- Baker, A. (2005). Fluorescence tracing of diffuse landfill leachate contamination in rivers. *Water Air Soil Pollution*, 163: 229-244.
- Baker, A. & Curry, M. (2004). Fluorescence of leachates from three contrasting landfills. *Water Research*, 38(10): 2605-2613.
- Baker, A. & Genty, D. (1999). Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *Journal of Hydrology*, 217: 19-34.
- Baldock, J.A. & Nelson, P.N. (2000). The chemical composition of soils, *Soil organic matter*. In Handbook of Soil science, Summer M.E. (CRC Press), Boca Raton, London, New York, Washington D.C., pp. 1325-1384.
- Balesdent, J., Chenu, C. & Balabane, M. (2000). Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and Tillage Research*, 53: 215-220.
- Barbero, M., Du Merle, P., Guende, G. & Quezel, P. (1978). La végétation du Mont Ventoux, *La Terre et la Vie*, XXXII, suppl. 1, pp. 21-38.
- Barth, J., Veizer, J. & Mayer, B. (1998). Origin of POC in the upper St Lawrence : isotopic constraints. *Earth and Planetary Science Letters*, 162: 111-121.
- Batiot, C. (2002). Etude expérimentale du cycle du carbone en régions karstiques. Apport du carbone organique et du carbone minéral à la connaissance hydrogéologique des systèmes. Site expérimental de Vaucluse, Jura, Larzac, Région Nord-Montpelliéraine, Nerja (Espagne). *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, 247 pp.

- Batiot, C., Emblanch, C. & Blavoux, B. (2003a). Total Organic Carbon (TOC) and magnesium (Mg^{2+}) : Two complementary tracers of residence time in karstic systems. *Comptes Rendus - Geoscience*, 335(2): 205-214.
- Batiot, C., Emblanch, C., Blavoux, B., Simler, R. & Daniel, M. (2000). Organic matter in karstic aquifers : a potential tracer in the carbon cycle. Approach by a small-scale model., *TraM'2000 Conference (Tracer and Modelling in Hydrogeology)*, Liège, Belgique, pp. 1-5.
- Batiot, C., Liñan, C., Andreo-Navarro, B., Emblanch, C., Carrasco, F. & Blavoux, B. (2003b). Use of TOC as tracer of diffuse infiltration in a dolomitic karstic system : the Nerja Cave (Andalusia, Southern Spain). *Geophysical Research Letters*, 30(22): 2179-2183.
- Batjes, N.H. (1996). Total carbon and nitrogen in the soils of world. *European Journal of Soil Science*, 47: 151-163.
- Baver, L.D., Gardner, W.H. & Gardner, W.R. (1972). *Soil Physics*, John Wiley & Sons, London, 528 pp.
- Blavoux, B. & Mudry, J. (1983). Séparation des composantes de l'écoulement d'un exutoire karstique à l'aide des méthodes physico-chimiques. *Hydrogéologie - Géologie de l'Ingénieur*, 4: 269-278.
- Blavoux, B. & Mudry, J. (1986). Influence des pluies estivales sur la qualité des réserves de l'aquifère karstique : rôle du sol et de l'épikarst dans la concentration des chlorures. *Bulletin de la Société Géologique de France*, 2(4): 667-674.
- Blavoux, B. & Mudry, J. (1990). Les teneurs en oxygène 18 en fonction de l'altitude des impluviums des réservoirs karstiques du Jura et du Vaucluse, 22^{ème} Congrès de l'A.I.H., Lausanne, pp. 331-338.
- Blavoux, B., Mudry, J. & Puig, J.-M. (1992a). Bilan, fonctionnement et protection du système karstique de la Fontaine de Vaucluse (sud-est de la France). *Geodinamica Acta (Paris)*, 5(3): 153-172.
- Blavoux, B., Mudry, J. & Puig, J.-M. (1992b). Rôle du contexte géologique et climatique dans la genèse et le fonctionnement du karst de Vaucluse, W. Back, J.S. Herman & H. Paloc, 13, IAH Intern, Hannover, 280 pp.
- Blondel, T., Travi, Y., Emblanch, C. & Dudal, Y. (2008). Organic matter as a potential complementary tool for $\delta^{18}O$ data interprétation in heterogeneous aquifers, *Joint European Stable Isotope User Meeting (JESIUM 2008)*, Presqu'île de Giens, France, pp. 207.
- Bro, R. (1997). PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 38: 149-171.
- Burdon, J. (2001). Are the traditional concepts of the structures of humic substances realistic? *Soil Science*, 166(11): 752-770.
- Burger, A. (1983). Prospection et captage des eaux souterraines des roches carbonatées du Jura. Société Suisse de l'Industrie du Gaz et des Eaux, Zurich, pp. 533-583.
- Calvet, R. (2003). *Le Sol, propriétés et fonctions, Tome 1 : Constitution et structure, phénomènes aux interfaces*, France Agricole, Paris, 456 pp.

- Celle, H. (2000). Caractérisation des précipitations sur le pourtour de la Méditerranée occidentale - Approche isotopique et chimique. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 222 pp.
- Chen, C. & Wagenet, R.J. (1992). Simulation of water and chemicals in macropore soils. Part 1 : Representation of the equivalent macropore influence and its effect on soil water flow. *Journal of Hydrology*, 130(1-4): 105-126.
- Chen, J., Gu, B., LeBoeuf, E.J., Pan, H. & Dai, S. (2002). Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, 48(1): 59-68.
- Chen, W., Westerhoff, P.K., Leenheer, J.A. & Booksh, K. (2003). Fluorescence Excitation-Emission Matrix Regional Integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, 37(24): 5701-5710.
- Clark, I. & Fritz, P. (1997). Environmental isotopes in hydrogeology, Lewis Publishers Editions, New York, 328 pp.
- Coble, P. (1996). Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51: 325-346.
- Coble, P., Green, S.A., Blough, N.V. & Gagosian, R.B. (1990). Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature*, 348(6300): 432-435.
- Coble, P., Schultz, C. & Mopper, K. (1993). Fluorescence contouring analysis of DOC intercalibration. Experiment samples : a comparison of techniques. *Marine Chemistry*, 41: 173-178.
- Cognard-Plancq, A.-L., Gevaudan, C. & Emblanch, C. (2006). Historical monthly rainfall-runoff database on Fontaine de Vaucluse karst system : review and lessons, *Karst, cambio climatico y aguas submediterraneas*, Malaga, pp. 465-475.
- Collectif (2006). Aquifères et eaux souterraines en France. *Collection scientifique et technique*, BRGM, 1, 479 pp.
- Couturaud, A. (1993). Hydrogéologie de la partie occidentale du système karstique de Vaucluse (karstification et aquifère sous couverture). *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, 159 pp.
- Del Castillo, C., Coble, P., Morell, J., Lopez, J. & Corredor, J. (1999). Analysis of the optical properties of the Orinoco River plume by absorption and fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 66: 35-51.
- Derrien, D., Marol, C., Balabane, M. & Balesdent, J. (2006). The turnover of carbohydrate carbon in a cultivated soil estimated by ¹³C natural abundances. *European Journal of Soil Science*, 57: 547-557.
- Djikanović, D., Kalauzi, A., Jeremić, M., Mičić, M. & Radotić, K. (2007) Deconvolution of fluorescence spectra: Contribution to structural analysis of complex molecules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54(2): 188-192.
- Doetschmann, D.C. & Dwyer, D.W. (1992). A pulsed electron paramagnetic resonance study of eight North American premium coals. *Energy and Fuel*, 6(6): 783-792.

- Drever, J. (1988). The geochemistry of natural waters, 2^e édition, Prentice Hall, 437 pp.
- Drew, D. & Hotlz, H. (1999). Conservation of karst terrains and karst waters : the future, *Karst Hydrogeology and Human Activities. Impacts, consequences and implications*. Rotterdam/Brookfield (Balkema), 20, pp. 275-280.
- Dubach, P. & Mehra, N.C. (1963). The chemistry of soil humic substances. *Soils and Fertilizers*, 26: 293-300.
- Emblanch, C. (1997). Les équilibres chimiques et isotopiques du carbone dans les aquifères karstiques : étude en région méditerranéenne de montagne. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 198 pp.
- Emblanch, C., Blavoux, B., Puig, J.-M. & Mudry, J. (1998). Dissolved Organic Carbon of Infiltration Within the Karst Hydrosystem. *Geophysical Research Letter*, 25(9): 1459-1462.
- Emblanch, C., Mudry, J., Adreo Navarro, B., Blondel, T., Charmoille, A., Jimenez, M., Bertrand, C., Batiot, C. & Lastenet, R. (2008). Do Total Organic Carbon and nitrates, both known as infiltration tracers, give the same hydrogeochemical information ? *Hydrological Processes*, soumis.
- Emblanch, C., Zuppi, G.M., Mudry, J., Blavoux, B. & Batiot, C. (2003). Carbon 13 of TDIC to quantify the role of the unsaturated zone: the example of the Vaucluse karst systems (Southeastern France). *Journal of Hydrology*, 279(1-4): 262-274.
- Flaig, W., Beutelspacher, H. & Rietz, E. (1975). Chemical composition and physical properties of humic substances. In: J.E. Gieseking (Editor), *Soil components - Organic components*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 119-126.
- Flogeac, K., Guillon, E., Aplin-court, M., Marceau, E., Stievano, L., Beaunier, P. & Frapart, Y.M. (2005). Characterization of soil particles by X-ray diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), electron paramagnetic resonance (EPR) and transmission electron microscopy (TEM). *Agronomy for Sustainable Development*, 25(3): 345-353.
- Ford, D. & Williams, P. (1989). Karst geomorphology and hydrology, Chapman and Hall, 601 pp.
- Gallet, C. & Lebreton, P. (1995). Evolution of phenolic patterns in plant associated litters and humus of a mountain forest ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 157-165.
- Garry, B. (2007). Etude des processus d'écoulement de la zone non saturée pour la modélisation des aquifères karstiques. Expérimentation hydrodynamique et hydrochimique sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel et de Fontaine de Vaucluse. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 216 pp.
- Garry, B., Blondel, T., Emblanch, C., Sudre, C., Bilgot, S., Cavaillou, A., Boyer, D. & Auguste, M. (2008). Contribution of artificial galleries to knowledge of karstic system behaviour in addition to natural cavern data. *International Journal of Speleology*, 37(1): 75-82.
- Gèze, B. (1973). Lexique des termes français de spéléologie physique et de karstologie. *Ann. Spéléol.*, 28(1): 1-20.
- Goldscheider, N. (2002). Hydrogeology and vulnerability of karst systems - Examples from the northern Alps and Swabian. *PhD Thesis*, University of Karlsruhe, Karlsruhe, 237 pp.

- Gonsior, M., Peake, B.M., Cooper, W.J., Jaffé, R., Young, H., Kahn, A.E. & Kowalczyk, P. (2008). Spectral characterization of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in a fjord (Doubtful Sound, New Zealand). *Aquatic Sciences*, in press: 1-13.
- González-Peréz, M., Martín-Neto, L., Colnago, L.A., Milori, D.M.B.P., de Camargo, O.A., Berton, R. & Bettiol, W. (2006). Characterization of humic acids extracted from sewage sludge-amended oxisols by electron paramagnetic resonance. *Soil and Tillage Research*, 91(1-2): 95-100.
- Gounot, A.M. (1997). Microorganismes autochtones des milieux aquatiques : exemples d'adaptations aux conditions extrêmes : Microbiologie de l'eau. *L'Eurobiologiste*, 31(230): 59-65.
- Greenland, D.J. & Oades, J.M. (1975). Saccharides. In: J.E. Gieseking (Editor), *Soil components - Organic components*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Vol.1, pp. 213-261.
- Guggenberger, G. & Zech, W. (1993). Composition and dynamics of dissolved carbohydrates and lignin-degradation products in two coniferous forests, n.e. Bavaria, Germany. *Soil Biology and Biochemistry*, 26: 19-27.
- Guggenberger, G., Zech, W. & Schulten, H.R. (1994). Formation and mobilization pathways of dissolved organic matter: evidence from chemical structural studies of organic matter fractions in acid forest floor solutions. *Organic Geochemistry*, 21(1): 51-66.
- Gunn, J. (1983). Point recharge of limestone aquifers - a model from New Zealand karst. *Journal of Hydrology*, 61: 19-29.
- Hall, G.J., Clow, K.E. & Kenny, J.E. (2005). Estuarial fingerprinting through multidimensional fluorescence and multivariate analysis. *Environmental Science and Technology*, 39(19): 7560-7567.
- Hatcher, P.G., Maciel, G.E. & Dennis, L.W. (1981). Aliphatic structure of humic acids : a clue to their origin. *Organic Geochemistry*, 3(1-2): 43-48.
- Hättenschwiler, S. & Vitousek, P.M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(6): 238-242.
- Hayes, M.H.B. & Clapp, C.E. (2001). Humic substances : considerations of composition, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science*, 166(11): 723-737.
- Her, N., Amy, G., McKnight, D., Sohn, J. & Yoon, Y. (2003). Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Research*, 37(17): 4295-4303.
- Holbrook, R.D., Yen, J.H. & Grizzard, T.J. (2006). Characterizing natural organic material from the Occoquan Watershed (Northern Virginia, US) using fluorescence spectroscopy and PARAFAC. *Science of the Total Environment*, 361(1-3): 249-266.
- Hongve, D. (1999). Production of dissolved organic carbon in forested catchments. *Journal of Hydrology*, 224: 91-99.
- Hudson, N., Baker, A. & Reynolds, D. (2007). Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - a review. *River Research and Applications*, 23: 631-649.

- Hunkeler, D., Goldscheider, N., Rossi, P. & Burn, C. (2006). Biozönosen im Grundwasser : Grundlagen und Methoden der Charakterisierung von mikrobiellen Gemeinschaften., Umwelt-Wissen Nr. 0603, Bundesamt für Umwelt, Bern, 113 pp.
- Hunt, J.F. & Ohno, T. (2007). Characterization of fresh and decomposed dissolved organic matter using excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy and multiway analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6): 2121-2128.
- Jiang, F., Lee, F.S.C., Wang, X. & Dai, D. (2008). The application of Excitation/Emission Matrix spectroscopy combined with multivariate analysis for the characterization and source identification of dissolved organic matter in seawater of Bohai Sea, China. *Marine Chemistry*, 110(1-2): 109-119.
- Jiji, R.D., Cooper, G.A. & Booksh, K. (1999). Excitation-emission matrix fluorescence based determination of carbamate pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Analytica Chimica Acta*, 397(1-3): 61-72.
- Jones, D.L. (1998). Organic acids in the rhizosphere - a critical review. *Plant and Soil*, 205: 25-44.
- Jones, D.L. & Brassington, D.S. (1998). Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. *European Journal of Soil Science*, 49: 447-455.
- Jones, D.L., Dennis, P.G., Owen, A.G. & Van Hees, P.A.W. (2003). Organic acid behavior in soils - misconceptions and knowledge gaps. *Plant and Soil*, 248: 31-41.
- Katsuzama, M. & Ohte, N. (2002). Determining the sources of stormflow from the fluorescence properties of dissolved organic carbon in a forested headwater catchment. *Journal of Hydrology*, 268: 192-202.
- Kiraly, L. (1975). Rapport sur l'état actuel des connaissances dans le domaine des caractères physiques des roches karstiques. *Int. Union Geol. Sci., Hydrogeology of Karst terrains*, 3(B): 53-67.
- Kiraly, L., Perrochet, P. & Rossier, Y. (1995). Effect of the epikarst on the hydrograph of karst spring : a numerical approach. *Bulletin Hydrogéol.*, 14: 199-220.
- Klimchouk, A.B. (1995). The nature and principal characteristics of epikarst. *Proceedings of 12th international Congress of speleology*, La Chaux-de-Fonds, 306 pp.
- Klute, A. (1986). *Methods of soil analysis*, Vol. 1&2, American Society of Agronomy, Madison, USA, 1188 pp.
- Knoth-Zarruk, K. (2007). Transferts réactifs et mobilité de la matière organique dissoute dans les sols. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 123 pp.
- Kögel-Knabner, I. (2002). The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soilorganic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 139-162.
- Kononova, M.M. (1966). *Soil organic matter*, Pergamon Press, Helmsford, New Jersey, 404 pp.
- Kump, L.R., Kasting, J.F. & Crane, R.G. (1999). *The Earth System*, Prentice Hall, 351 pp.
- Labanowski, J. (2004). Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et sa caractérisation. *PhD Thesis*, Université de Limoges, Limoges, 200 pp.

- Lastennet, R. (1994). Rôle de la zone non-saturée dans le fonctionnement des aquifères karstiques. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 239 pp.
- Lastennet, R., Puig, J.-M., Emblanch, C. & Blavoux, B. (1995). Influence de la zone non saturée sur le fonctionnement des systèmes karstiques. Mise en évidence dans les sources du Nord-Vaucluse. *Hydrogéologie*, 4: 57-66.
- Le Coupannec, F., Morin, D., Sire, O. & Péron, J.J. (2000). Characterization of dissolved organic matter (DOM) in landfill leachates using fluorescence excitation-emission matrix. *Environmental Technology*, 34(15): 3283-3290.
- Leenheer, J.A. (1989). Structural components and proposed structural models of fulvic acids from the Suwanee River, Georgia. In: L.J.A. Averett R.C., McKnight D.M., Thron K.A. (Editor), *Humic substances in the Suwanee River, Georgia : interactions, properties and proposed structures*. US Geological survey, Washington DC, Vol. OFR 87-557, pp. 331-360.
- Luciani, X., Mounier, S., Paraquetti, H.H.M., Redon, R., Lucas, Y., Bois, A., Lacerda, L.D., Raynaud, M. & Ripert, M. (2008). Tracing of dissolved organic matter from the SEPETIBA Bay (Brazil) by PARAFAC analysis of luminescence matrices. *Marine Environmental Research*, 65(2): 148-157.
- MacCarthy, P. (2001). The principles of humic substances. *Soil Science*, 166(11): 738-752.
- MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Clapp, C.E. & Bloom, P.R. (1990). Humic substances in soil and crop science. In: C.C.E. MacCarthy P., Malcolm R.L., Bloom P.R. (Editor), *Humic substances in soil and crop science*. Selected Readings, American Society of Agronomy, soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp. 261-271.
- Malzieu, E. (1987). Ressource en eau entre Rhône et Ventoux, hydrogéologie et hydrochimie du bassin de Bédoin-Mormoiron, de la plaine des Sorgues et du massif de Pernes-les-Fontaines (Vaucluse). *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 246 pp.
- Mangin, A. (1975). Contribution à l'étude hydrodynamique des aquifères karstiques. *PhD Thesis*, Université de Dijon, Dijon, 260 pp.
- Mangin, A. (1998). L'approche hydrogéologique des karsts. *Spéléochonos*, 9: 3-26.
- Marhaba, T.F. & Lippincott, R.L. (2000). Application of fluorescence technique for rapid identification of DOM fractions in source waters. *Journal of Environmental Engineering*, 126(11): 1039-1044.
- Marhaba, T.F., Van, D. & Lippincott, R.L. (2000). Rapid identification of dissolved organic matter fractions in water by spectral fluorescent signatures. *Water Research*, 34(14): 3543-3550.
- Mariot, M., Dudal, Y., Furian, S., Sakamoto, A., Vallès, V., Fort, L. & Barbiero, L. (2007). Dissolved organic matter fluorescence as a water-flow tracer in the tropical wetland of Pantanal of Nhecolândia, Brazil. *Science of the Total Environment*, 388(1-3): 184-193.
- Marsaud, B. (1996). Structure et fonctionnement de la zone noyée des karsts à partir des résultats expérimentaux. *PhD Thesis*, Université Paris XI, Orsay, 303 pp.
- Marschner, B. & Kalbitz, K. (2003). Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113: 211-235.

- Martens, D.A. (2002). Identification of phenolic acid composition of alkali-extrated plants and soils. *Soil Science Society of America Journal*, 66: 1240-1248.
- Martens, D.A. & Loeffelmann, K.L. (2003). Soil amino acid composition quantified by acid hydrolysis and anion chromatography-pulsed amperometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6521-6529.
- Masse, J.P. (1968). L'Urgonien de Sault (Vaucluse). *Bulletin de la Société Géologique de France*, 9(4): 495 - 596.
- Masse, J.P. (1972). Structures cryptalgaires libres dans un complexe carbonaté de plate-forme: les calcaires urgoniens (Barrémien) de Provence (Sud-Est de la France). *24th International Geological Congress, Montreal*, 7: 572-585.
- Maufroy, E., Operto, S., Cruz, V., Sardou, O., Sénéchal, G., Zeyen, H., Dietrich, M., Boyer, D. & Gaffet, S. (2008). Seismic imaging for topographic site effect modelling at the Low-Noise Underground Laboratory (LSBB), Rustrel, France., *Interdisciplinary Deep Underground Science and Technology conference*, Rustrel, pp. 1-5.
- McKnight, D., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T. & Andersen, D.T. (2001). Spectrofluorimetric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography*, 46(1): 38-48.
- McKnight, D.M., Bencala, K.E., Zellweger, G.W., Aiken, G.R., Feder, G.L. & Thorn, K.A. (1992). Sorption of dissolved organic carbon by hydrous aluminium and iron-oxides occurring at the confluence of deer creek with the Snake River, summit county, Colorado. *Environmental Science and Technology*, 26: 1388-1396.
- Melnitchouck, A., Leinweber, P., Eckhardt, K.U. & Beese, R. (2005). Qualitative differences between day-and night-time rhizodeposition in maize as investigated by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 155-162.
- Miano, T.M., Sposito, G. & Martin, J.P. (1988). Fluorescence spectroscopy of humic substances. *Soil Science America Journal*, 52: 1016-1019.
- Moore, T.R., Desouza, W. & Koprivnjak, J.F. (1992). Controls on the sorption of dissolved organic carbon by soils. *Soil Science*, 154: 120-129.
- Morrissey, F.A. & Grismer, M.E. (1999). Kinetics of volatile organic compound sorption/desorption on clay minerals. *Journal of Contaminant Hydrology*, 36: 291-312.
- Mudry, J. (1982). Etude du fonctionnement hydrodynamique de l'aquifère karstique de la Fontaine de Vaucluse (SE de la France) à partir des analyses physico-chimiques hebdomadaires (cycle 1981-1982). *Proceeding of the 3rd Conference of Limestone Hydrogeology*, Neuchâtel, Switzerland, pp. 191-203.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Bragazza, L. & Gerdol, R. (2003). Low-molecular-weight organic acids and hormone-like activity of dissolved organic matter in two forest soils in Italy. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1549-1564.
- Oades, J.M. (1988). The retention of organic matter in soils. *Biochemistry*, 5: 35-70.
- Office Québécois de la Langue Française (1990). Le Grand Dictionnaire Terminologique. http://w3.granddictionnaire.com/btml/fra/r_motclef/index800_1.asp.

- Ogawa, H., Amagai, Y., Koike, I., Kaiser, K. & Benner, R. (2001). Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science*, 292: 917-920.
- Ohno, T. (2002). Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, 36: 742-746.
- Parlanti, E. & Vacher, L. (2005). New criteria for the classification of dissolved organic matter in aquatic environment, *1^{er} Workshop International sur la Modélisation de la Matière Organique*, Toulon, France, Poster.
- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L. & Lamotte, M. (2000). Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry*, 31(12): 1765-1781.
- Pépin-Donat, B., Poulenard, J., Blondel, T., Protière, M., Lombard, C., Dudal, Y., Emblanch, C., Miège, C., Fanget, B., Perrette, Y., Delannoy, J.J., Dorioz, J.M., Arnaud, F. & Giguët-Covex, C. (2010). EPR barcodes for tracing Natural Organic Matter at broad space and time scales. *PNAS*: soumis.
- PerkinElmer-instruments (2000). User's Guide - LS55, PerkinElmer Precisely, Beaconsfield, Buckinghamshire, United Kingdom, 214 pp.
- Piccolo, A. (2001). The supra molecular structure of humic substances. *Soil Science*, 166(11): 810-833.
- Pitois, A., Abrahamsen, L.G., Ivanov, P.I. & Bryan, N.D. (2008). Humic acid sorption onto a quartz sand surface: A kinetic study and insight into fractionation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 325: 93-100.
- Popov, A.F., Strigutsky, V.P., Bessarabov, V.I., Nosyrev, I.E., Stefanova, M.D. & Prokhorov, S.G. (1993). E.P.R. dispersion study of the products of reductive modification of bituminous coal. *Fuel*, 72(1): 59-63.
- Puig, J.-M. (1987). Le système karstique de la Fontaine de Vaucluse. *PhD Thesis*, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, 208 pp.
- Quinif, Y. (1998). Dissipation d'énergie et adaptabilité dans les systèmes karstiques. *Karstologia*, 31: 1-11.
- Rice, J.A. (2001). Humin. *Soil Science*, 166: 848-857.
- Riffaldi, R. & Schnitzer, M. (1972). Electron spin resonance spectrometry of humic substances. *Soil Science Society of America Proceedings*: 301-305.
- Riou, C. (1980). Une formule empirique simple pour estimer l'évapotranspiration potentielle moyenne en Tunisie. *Cahier ORSTOM, série Hydrol.*, 17(2): 129-137.
- Robert, M. (2002). La séquestration du carbone dans le sol pour une meilleure gestion de terres, *FAO, Rapport sur les ressources en sols du monde n°96*, Institut National de Recherche Agronomique, Paris, 71 pp.
- Roose, E. (1994). Introduction à la gestion conservatoire de l'eau, de la biomasse et de la fertilité des sols (GCES). *Bulletins pédologiques de la FAO*, n°70, Rome, 438 pp.

- Roques, H. (1962). Considérations théoriques sur la chimie des carbonates. *Annale de Spéléologie*, 17(I et II): 11-41 et 241-284.
- Rouessac, F. & Rouessac, A. (1998). Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Cours et exercices résolus, 4^o édition, Dunod, Paris.
- Rozanski, K., Araguas-Araguas, L. & Gonfiantini, R. (1993). Isotopic patterns in modern global precipitation. In: Continental isotope indicators of climate, American Geophysical Union Monograph.
- Schaul, R.C., Duplay, J. & Tardy, Y. (1997). Propriétés thermodynamiques, température et solubilité de composés organiques du sol. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 325: 27-33.
- Schnitzer, M. (2000). A lifetime perspective on the chemistry of soil organic matter. In: D.L. Sparks (Editor), *Advanced in Agronomy*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, pp. 1-58.
- Schnitzer, M. & Khan, S.U. (1975). Humic substances in the environment. In: M. Dekker (Editor), *Humic substances in the environment*, New York, 1-7, pp. 253-279.
- Schnitzer, M. & Neyroud, J.A. (1975). Alkanes and fatty acids in humic substances. *Fuel*, 54: 17-19.
- Schulten, H.R. & Schnitzer, M. (1997). Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Science*, 162: 115-130.
- Senesi, N., Miano, T.M. & Provenzano, M.R. (1989). Fluorescence spectroscopy as a mean of distinguishing fulvic and humic acids from dissolved and sedimentary aquatic sources and terrestrial sources. In: Springer-Verlag (Editor), *Humic substances in the aquatic and terrestrial environment*, Linköping, Sweden, pp. 63-73.
- Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R. & Brunett, G. (1991). Characterization, differentiation and classification of humic substance by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, 152: 259-271.
- Siano, D.B. & Metzler, D.E. (1969) Band shapes of the electronic spectra of complex molecules. *Journal of Chemical Physics*, 51(5): 1856-1862.
- Siegenthaler, U. & Oeschger, H. (1980). ^{18}O in précipitation : correlations with temperature and altitude on a regional scale. *Nature*, 285: 314-316.
- Sierra, M.M.D., Giovanela, M., Parlanti, E. & Soriano-Sierra, E.J. (2005). Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*, 58: 715-733.
- Silbernagel, B.G., Bernardo, M. & Thomann, H. (1993). Advanced electron paramagnetic resonance techniques for the study of coal structure. *Fuel*, 72(8): 1219-1223.
- Simeoni, G.P. (1976). Etude de la perméabilité des formations calcaires du Jura Neuchâtelois, Neuchâtel, 9-18 pp.
- Spencer, R.G.M., Bolton, L. & Baker, A. (2007). Freeze/thaw and pH effects on freshwater dissolved organic matter fluorescence and absorbance properties from a number of UK locations. *Water Research*, 41(13): 2941-2950.
- Sposito, G. (1989). The chemistry of soils, Oxford University Press, New York, 304 pp.

- Staigre, J.C. (1983). Nouvelles plongées à la Fontaine de Vaucluse. *Spelunca*, 4: 110-111.
- Stedmon, C.A. & Markager, S. (2005). Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnology and Oceanography*, 50(2): 686-697.
- Stedmon, C.A., Markager, S. & Bro, R. (2003). Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 82: 239-254.
- Stevenson, F.J. (1982). Organic forms of soil nitrogen. In: F.J. Stevenson (Editor), *Nitrogen in agricultural soils*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp. 67-122.
- Stevenson, F.J. (1994). Humus chemistry, Genesis, composition, reactions, 2^o edition, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 516 pp.
- Strobel, B.W. (2001). Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution - a review. *Geoderma*, 99: 169-198.
- Swaby, R.J. & Ladd, J.N. (1962). Chemical nature, microbial resistance and origin of soil humus., *Transactions of joint Meeting*, New Zealand, pp. 197-202.
- Swincer, G.D., Oades, J.M. & Greenland, D.J. (1969). The extraction, characterization, and significance of soil polysaccharides. In: N.C. Brady (Editor), *Advances in Agronomy*. Academic Press, New York, London, 21, pp. 195-235.
- Tardy, Y., Schaul, R.C. & Duplay, J. (1997). Domaines de stabilité thermodynamiques des humus, de lamicroflore et des plantes. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 324(série IIA): 969-976.
- Thiébaud, E. (2003). Etude structurale et hydrogéologique du site du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel, *Rapport de Master*, Université de Franche-Comte, Besançon, 50 pp.
- Thurman, E. (1985). Organic chemistry of natural waters, Martinus Nijhof/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, 487 pp.
- Trček, B. (2007). How can the epikarst zone influence the karst aquifer hydraulic behaviour? *Environmental Geology*, 51: 761-765.
- Turek, P. (2005). Spectrométrie de résonance paramagnétique électronique - RPE -. *Cours du DESS IMACSEN*, UFR Sciences Physiques de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, 47 pp.
- Turner, R.C. & Schnitzer, M. (1962). Thermogravimetry of the organic matter of a podzol. *Soil Science*, 93: 225-232.
- Van Hees, P.A.W., Jones, D.L., Finlay, R., Godbold, D.L. & Lundström, U.S. (2005). The carbon we do not see - The impact of low molecular weight compounds on carbon dynamics and respiration in forest soil : a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 1-13.
- Van Hees, P.A.W., Vinogradoff, S.I., Edwards, A.C., Godbold, D.L. & Jones, D.L. (2003). Low molecular weight organic acids adsorption in forest soils : effects on soil solution concentrations and biodegradation rates. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 1015-1026.
- Vichaidid, T., Youngchuay, U. & Limsuwan, P. (2007). Dating of aragonite fossil shell by ESR for paramagnetic species assignment of Mae Moh basin. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 262(2): 323-328.

- Villegier, M. (1984). Evolution tectonique du panneau de couverture nord provençal (Mont Ventoux, Luberon, Moyenne Durance). *PhD Thesis*, Université Paris Sud, Orsay, 174 pp.
- Warman, P.R. & Isnor, R.A. (1991). Amino acid composition of peptides present in organic matter fractions of sandy loam soil. *Soil Science*, 152: 7-13.
- Williams, P.W. (1983). The role of the subcutaneous zone in karst hydrology. *Journal of Hydrology*, 61(1-3): 45-67.
- Yevjevich, V. (1982). Probability and statistics in hydrology. Water Resources Publications, Littleton, Colorado, 302 pp.
- Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C. & Zasoski, R.J. (2002). Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. *Biochemistry*, 61: 173-198.
- Zepp, R.G., Sheldon, W.M. & Moran, M.A. (2004). Dissolved organic fluorophores in southern US coastal waters: correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation-emission matrices. *Marine Chemistry*, 89: 15-36.
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M. & Saccomandi, B. (1999). Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, 38: 45-50.

Liste des figures et tableaux

Liste des figures

CHAPITRE I

Figure I-1 : Photographies de dolines (a), d'un aven (b), d'une rivière souterraine (c) et d'une grotte (d).....	21
Figure I-2 : Répartition des formations karstiques dans le monde	22
Figure I-3 : Répartition des domaines karstiques en France	23
Figure I-4 : Espèces et réactions impliquées dans la dissolution de la calcite et de la dolomite [Ford & Williams (1989)].....	26
Figure I-5 : Schéma général d'un karst	27
Figure I-6 : Représentation d'un système karstique unaire (a) et binaire (b) [Marsaud (1996)].....	28
Figure I-7 : Les transferts de l'eau dans le sol.....	29
Figure I-8 : Le cycle du carbone organique [Kump <i>et al.</i> (1999)]	32
Figure I-9 : Les constituants organiques des sols [Calvet (2003)]	35
Figure I-10 : Formule chimique des principaux acides aminés [Calvet (2003)]	36
Figure I-11 : Structure des sucres aminés les plus abondants [Calvet (2003)].....	37
Figure I-12 : Principaux hydrates de carbone simples [Calvet (2003)].....	37
Figure I-13 : Exemples d'acides gras identifiés dans les sols [Stevenson (1994)].....	38
Figure I-14 : Principaux groupes fonctionnels des substances humiques [Calvet (2003)].....	39
Figure I-15 : Continuité granulométrique des MO dans les eaux souterraines [Thurman (1985)]	41
Figure I-16 : Concentrations moyennes en COD et COP dans les eaux naturelles [Thurman (1985)] .	42
Figure I-17 : Diminution de la concentration du COD dans les eaux souterraines [Thurman (1985)] .	42

CHAPITRE II

Figure II-1 : Présentation géographique de la région étudiée [Puig (1987)]	50
Figure II-2 : Coupes géologiques (a) du Petit Luberon au Mont Ventoux et (b) du Grand Luberon à la Montagne de Lure [Puig (1987)].....	51
Figure II-3 : Contexte géologique [Couturaud (1993)]	53
Figure II-4 : Coupe lithostratigraphique [Puig (1987)]	54
Figure II-5 : Courbe des débits moyens journaliers sur la période « janvier 2003 – juin 2008 ».....	55
Figure II-6 : Coupe géologique passant par la Fontaine de Vaucluse [Puig (1987)]	56
Figure II-7 : L'aquifère de Fontaine de Vaucluse et localisation du LSBB	57
Figure II-8 : Carte d'occupation des sols sur l'aquifère de Fontaine de Vaucluse.....	60
Figure II-9 : Répartition des stations « Météo-France » sur le bassin de Fontaine de Vaucluse.....	62
Figure II-10 : Diagramme climatique « Pluie – ETP » sur la période 1998 – 2007	63
Figure II-11 : Différence moyenne « Pluie – ETP » des stations de Sault et de St Saturnin.....	64
Figure II-12 : Schéma de la galerie du LSBB (http://lsbb.unice.fr)	66

Figure II-13 : Schéma hydrogéologique et pédologique du site du LSBB.....	69
Figure II-14 : Schématisation des installations au niveau des points B et D.....	70
Figure II-15 : Profil géophysique de la galerie principale du LSBB [Maufroy <i>et al.</i> (2008)].....	74
Figure II-16 : Classification des écoulements suivis au LSBB [Garry (2007)].....	75
Figure II-17 : Evolution de la conductivité et du magnésium par rapport à la pluie efficace des points A (a) et B (b)	76
Figure II-18 : Schéma conceptuel des écoulements rencontrés dans les galeries du LSBB.....	77

CHAPITRE III

Figure III-1 : Les principaux groupes fluorophores (a) et radicaux libres (b) de la MOD [Calvet (2003)].....	85
Figure III-2 : Désexcitation de molécules par fluorescence et phosphorescence.....	86
Figure III-3 : Allure du spectre de MEE [sous forme de pics (a), sous forme de courbes de niveau (b)]	88
Figure III-4 : Schéma de fonctionnement du spectrofluorimètre LS55 [PerkinElmer-instruments (2000)].....	89
Figure III-5 : Test de linéarité sur des échantillons de sol concentrés.....	91
Figure III-6 : Positionnement des rayonnements parasites et de la zone d'analyse dans les MEE	92
Figure III-7 : Localisation des surfaces et de l'intensité utilisées dans le calcul du HIX et de la fluorescence relative [Zsolnay <i>et al.</i> (1999)]	94
Figure III-8 : Diagramme énergétique de l'effet Zeeman pour un électron libre.....	95
Figure III-9 : Schéma de fonctionnement d'un spectromètre RPE	97
Figure III-10 : Guide d'ondes à quatre voies(a), résonateur porte-échantillon(b) et « dip » du résonateur(c) [Turek (2005)].....	97
Figure III-11 : Effet de la modulation du champ statique sur le signal d'absorption [d'après Turek (2005)].....	98
Figure III-12 : Protocole de préparation des échantillons de sol en vue d'une analyse en RPE	99
Figure III-13 : Comparaison des signaux RPE d'un lyophilisat et d'un résidu d'évaporation d'une eau souterraine observés à une atténuation de 10 dB, un gain de 10^5 et un module de 0.8	100
Figure III-14 : Forme des courbes obtenues et paramètres mesurés [Turek (2005)].....	100
Figure III-15 : Exemple d'une décomposition de spectre RPE	101
Figure III-16 : Variation de l'indice de fluorescence $I_{f(350-427)}/COD$ des lixiviats de sol	102
Figure III-17 : Position des maxima de fluorescence des différents massifs rencontrés dans les MEE des sols et des eaux souterraines (n = 215)	103
Figure III-18 : Variation de l'intensité volumique de fluorescence moyenne selon le temps de séjour relatif	105

Figure III-19 : Position des maxima de fluorescence des massifs α et α' selon le temps de séjour relatif	106
Figure III-20 : Comparaison des spectres RPE entre les trois types de sol rencontrés.....	107
Figure III-21 : Evolution mensuelle du spectre RPE d'un sol (SA).....	108
 <u>CHAPITRE IV</u>	
Figure IV-1 : Allure des spectres de matrice d'excitation-émission des lixiviats de sol sur le site du LSBB.....	114
Figure IV-2 : Comparaison des spectres de MEE de la Fontaine de Vaucluse et d'une eau souterraine non anthropisée	115
Figure IV-3 : Comparaison des spectres RPE des sols (en rouge) au spectre RPE de l'écoulement A (en bleu)	117
Figure IV-4 : Proposition d'un protocole expérimentale destinée au traçage spatial par la MOD.....	121
Figure IV-5 : Evolution des indices de flux de fluorescence maximale aux longueurs d'onde d'excitation 245 nm (massif α') et 335 nm (massif α) à l'entrée et à la sortie des écoulements permanents du LSBB	124
Figure IV-6 : Evolution des indices de flux de fluorescence entrant et sortant du couple (350 nm/427 nm) au niveau de l'écoulement B et ses variations de teneurs en Mg^{2+}	125
Figure IV-7 : Evolution des l'indices de flux de fluorescence entrant et sortant du couple (350 nm/427 nm) au niveau de l'écoulement D et ses variations des teneurs en Mg^{2+}	126
Figure IV-8 : Comparaison des évolutions mensuelles de la raie ω du sol et de l'écoulement A.....	128
Figure IV-9 : Méthode de calcul des indices $HIX\alpha$ (a) et $HIX\alpha'$ (b)	130
Figure IV-10 : Relation entre le temps de séjour moyen à l'échelle du cycle hydrologique et le $HIX\alpha$	132
Figure IV-11 : Relation entre le temps de transit moyen à l'échelle du cycle hydrologique et le $HIX\alpha'$	133
Figure IV-12 : Protocole d'extraction de la MOD des sols.....	136
Figure IV-13 : Fraction de la MOD entraînée par les eaux d'infiltration (pour chaque sol n = 14)....	137
Figure IV-14 : Comparaison des spectres de fluorescence 3D des lixiviats (colonne de gauche) et des extraits (colonne de droite) de sol correspondants	138
Figure IV-15 : Montage de percolation équivalent à une pluie de 100 mm/h.....	139
Figure IV-16 : Montage du réacteur « mini-karst ».....	140
Figure IV-17 : Comparaison des évolutions de la concentration en MOD en fonction du temps de séjour pour le système naturel, le réacteur « mini-karst » et le réacteur de Batiot <i>et al.</i> (2000)	141
Figure IV-18 : Evolution comparée des concentrations en MOD et du nitrate dans le réacteur « mini-karst ».....	142

Figure IV-19 : Comparaison de l'évolution du $HIX\alpha$ (a) et $HIX\alpha'$ (b) dans le réacteur et le système naturel (LSBB). La courbe rouge montre seulement l'allure générale de l'évolution des HIX dans le réacteur (ce n'est pas une régression)	143
Figure IV-20 : Estimation du temps de séjour de l'écoulement B par $l^{18}O$	147
Figure IV-21 : Origine des masses d'air sur le bassin méditerranéen occidental [d'après Celle (2000)]	148
Figure IV-22 : Evolutions conjointes des signaux de fluorescence (SEF = Signal d'Entrée de Fluorescence ; SSF = Signal de Sortie de Fluorescence) et de l'oxygène 18	149
Figure IV-23 : Bilan de l'utilisation conjointe des traceurs du temps de séjour, $l^{18}O$ et l'indice de fluorescence	150

Liste des tableaux

CHAPITRE I

Tableau I-1 : Teneur moyenne en carbone organique pour quelques types de sol [Batjes (1996)].....	33
---	----

CHAPITRE II

Tableau II-1 : Légende de l'occupation des sols (chartre graphique du CRIGE PACA, 2006).....	61
Tableau II-2 : Erreurs de mesure sur les anions [Garry (2007)].....	72
Tableau II-3 : Erreurs de mesure sur les cations [Garry (2007)].....	72
Tableau II-4 : Estimation des temps de séjour moyens des écoulements suivis au LSBB [Garry (2007)]	78

CHAPITRE III

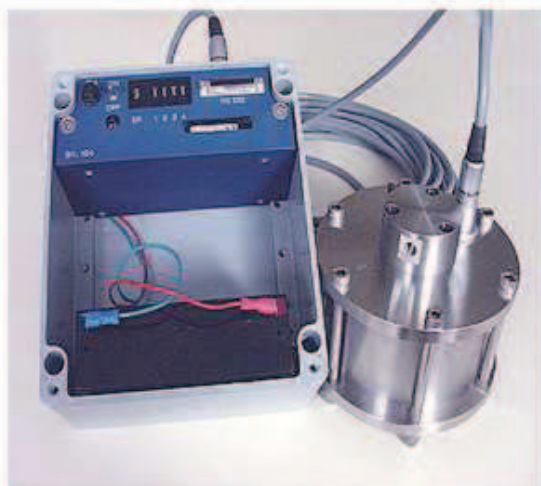
Tableau III-1 : Méthodes chimiques destructives d'analyses des MOD [Calvet (2003)]	83
Tableau III-2 : Méthodes spectrométriques utilisées pour étudier les MOD [d'après Calvet (2003)] ..	84
Tableau III-3 : Paramétrage du spectrofluorimètre pour obtention des spectres de MEE.....	89
Tableau III-4 : Nomenclature des fluorophores aquatiques [Hudson <i>et al.</i> (2007)].....	93
Tableau III-5 : Plage des longueurs d'onde d'excitation et d'émission des maxima des massifs de fluorescence	104
Tableau III-6 : Décomposition des spectres RPE des sols [d'après Pépin-Donat <i>et al.</i> (2010)]	108

CHAPITRE IV

Tableau IV-1 : Décomposition des spectres RPE des sols et de l'écoulement A.....	118
Tableau IV-2 : Récapitulatif des différents domaines de validité des relations $HIX=f(Tds)$ selon la précision voulue et le taux d'extremum enlevé.....	134
Tableau IV-3 : Comparatif des temps de séjour calculé par le traçage ponctuel et continu.....	135
Tableau IV-4 : Distribution des événements pluvieux selon leur origine et signature moyenne en $\delta^{18}O$ [d'après Celle (2000)]	148

Annexes

Annexe 1 : Fiche technique du fluorimètre GGUN-FL30 (®Albilla SARL)



Diamètre 160 mm Hauteur 170 mm

Usage: Immersion directe en rivière ou source (0-10 m), ou comme fluorimètre de laboratoire pour mesures rapides d'échantillons. S'utilise aussi bien avec des embouts rapides et des tubes de 6 mm. Jusqu'à 4 sources lumineuses couvrent la totalité du spectre optique. Matériau: acier inoxydable.

La sonde se connecte par un câble de signal à 4 conducteurs à un boîtier étanche contenant un acquiseur de données et 1 à 2 batteries. Le signal est transmis sous forme digitale. Le boîtier peut se connecter à tout PC au moyen de l'interface série.

Pour un travail sans surveillance, l'acquisiteur enregistre jusqu'à 4 x 30'000 valeurs et la température de l'eau (précision: 0.1°C) sur sa carte Compact Flash.

Nombre de lampes	4
Echelle de turbidité	0.02 à 400 NTU
Seuil de détection	$2 \cdot 10^{-11}$ g/mL (0.02 ppb)
Pas de mesure	5 s à 15 min programmable
Durée d'enregistrement	10 à 20 jours
Conversion ADC	24 bits unipolaire
Sortie digitale	Sérielle RS232
Alimentation (batterie au Pb)	6 V
Capacité de la batterie	12-24 Ah
Consommation en veille	50 mA
Connexions	Câble de 15 m étanche (1.6 kg) avec connecteurs
Matériau de la sonde	Acier inoxydable (7.3 kg) ou aluminium éloxé noir
Boîtier de batteries	Étanche (7.9 kg avec 2 batteries)
Thermomètre intégré	Sensibilité 0.1 °C

Annexe 2 : Rappels des principaux phénomènes responsables des variations du $\delta^{18}\text{O}$ dans les eaux souterraines

- **L'effet de continentalité :**

Les précipitations sont générées par refroidissement d'une vapeur (dont la composition isotopique dépend de la vapeur d'origine et de son évolution) qui alors se condense pour former de l'eau à l'état liquide (ou solide). A mesure de la progression de la masse d'air au-dessus du continent et en l'absence de recharges ultérieures, le réservoir vapeur s'appauvrit en isotopes lourds. A la faveur de condensations successives, les pluies formées à partir de ce réservoir, bien qu'enrichies par rapport au réservoir vapeur, sont donc de plus en plus appauvries. Cet effet de continentalité est illustré par la Figure.

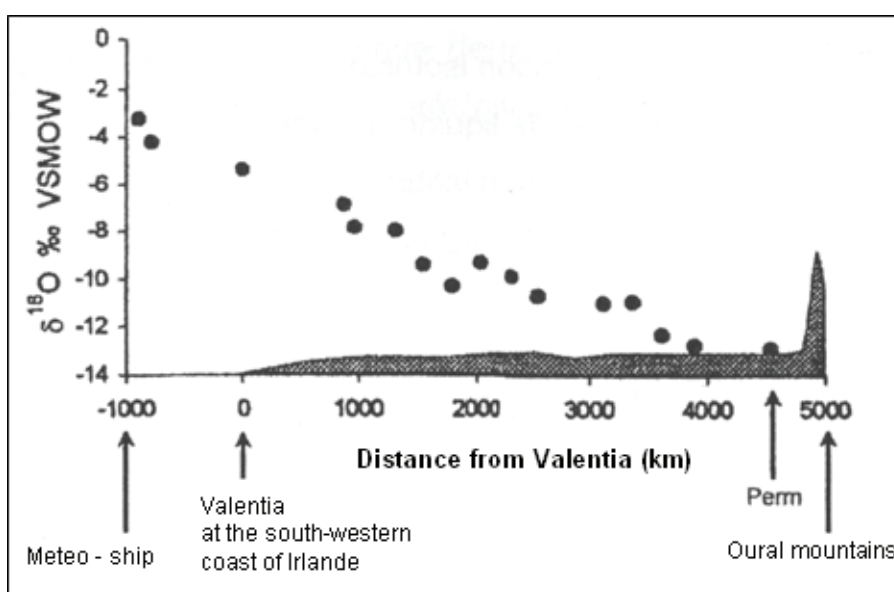


Figure i : Evolution de la teneur isotopique des pluies et des températures (moyennes annuelles) en Europe de l'ouest, de l'Atlantique (navire-météo) à la station de Perm [Clark & Fritz (1997)]

- **L'effet latitudinal :**

La Figure met clairement en évidence l'influence de la latitude sur les teneurs isotopiques des précipitations. On remarque aisément que les stations les plus hautes en latitude montrent les teneurs les plus négatives. Les gradients observés dans ces régions seront de l'ordre de -2 ‰ par degré de latitude, alors qu'ils sont quasiment nuls dans les régions proches de l'équateur.

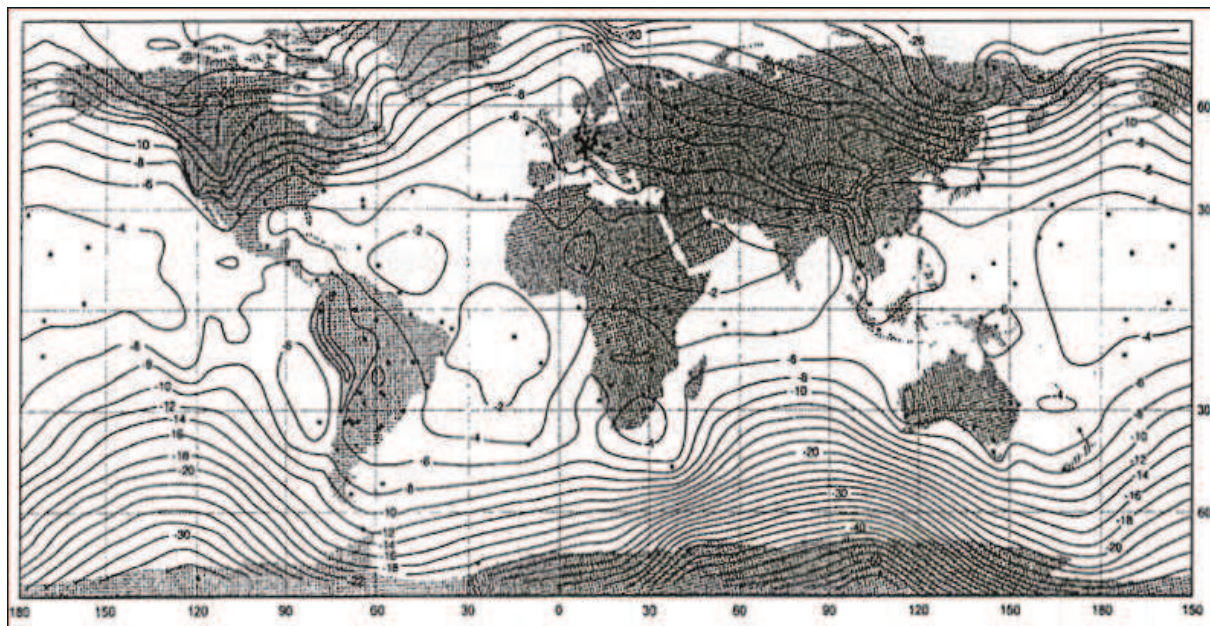


Figure ii : Carte des teneurs en ^{18}O des précipitations aux stations du réseau G.N.I.P., mis en place par l'A.I.E.A. [Rozanski *et al.* (1993)]

- **L'effet altitudinal :**

L'effet altitudinal correspond à une accentuation de l'effet de continentalité à l'échelle régionale, lorsque les nuages prennent de l'altitude, au contact d'un relief, et se refroidissent de façon adiabatique. Cette diminution de température entraîne une condensation de la vapeur et provoque des pluies dites orographiques. Le réservoir vapeur s'appauvrit en isotopes lourds par le biais de condensations successives et les pluies sont de plus en plus négatives (Figure).

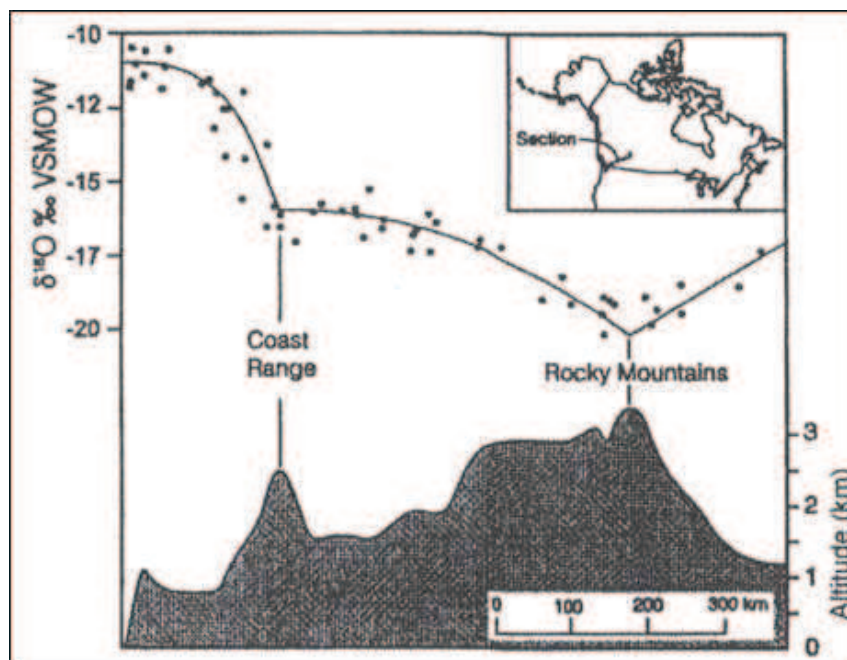


Figure iii : Evolution de la teneur isotopique des pluies en Amérique du Nord, de la côte pacifique aux plaines d'Alberta, au travers de la Cordillère canadienne [Clark & Fritz (1997)]

- **L'effet de saisonnalité et événements pluvieux particuliers**

Les variations isotopiques saisonnières sont intimement liées à la température. On observe ainsi des teneurs enrichies au cours des périodes estivales, plus chaudes, et des teneurs appauvries en hiver (Figure). D'autre part, nous pouvons remarquer que les pluies du mois de décembre semblent être plus enrichies que celles des autres mois d'hiver. L'explication de ce phénomène tient en l'apparition de précipitations d'une nature particulière, ayant une signature $\delta^{18}\text{O}$ plus enrichie. Dans le cas de la Figure , la différence est peu marquée ($+2 \delta^{18}\text{O}\text{‰}$). Cependant, en région méditerranéenne, l'enrichissement des pluies hivernales est beaucoup plus spectaculaire.

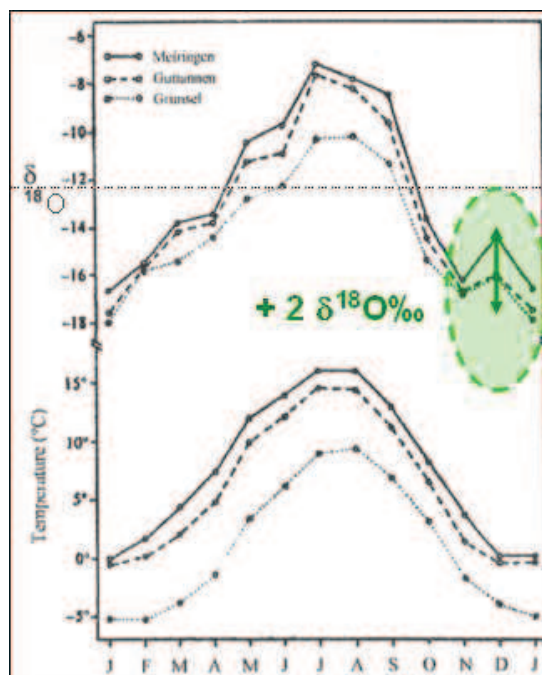


Figure iv : Evolutions concomitantes des teneurs en ^{18}O et des températures à trois stations suisses [d'après Siegenthaler & Oeschger (1980)]

- **Exemple de quantification du temps de séjour par l' ^{18}O**

Emblanch (1997) a tenté d'utiliser le signal $\delta^{18}\text{O}$ afin d'obtenir un temps de séjour moyen des eaux de la Fontaine de Vaucluse. En effet, l'oxygène 18 ne réagit pas avec l'encaissant, il s'agit d'un traceur intime de la molécule d'eau dont on peut caractériser l'entrée dans le système en suivant les pluies, en volume et en composition isotopique. De nombreuses études ont montré l'existence dans notre secteur d'étude, d'un gradient altitudinal, tant pour les volumes de pluies [Puig (1987)] que pour les compositions isotopiques de celles-ci [Malzieu (1987) ; Blavoux & Mudry (1990) ; Lastennet (1994)]. Emblanch (1997) a donc décidé de suivre les pluies à la station de Millet qui se situe presque à l'altitude moyenne du bassin d'alimentation de la Fontaine de Vaucluse.

La Figure montre une variation saisonnière très nette de l'oxygène 18 dans les pluies. L'ensemble des pluies d'été est enrichi par rapport aux pluies d'hiver. En revanche, la Fontaine de Vaucluse ne montre pas de saisonnalité mais des teneurs constantes en étiage et une baisse durant la

période de crue. Dans le cadre de notre étude, le plus intéressant est l'ensemble des pluies de la fin novembre et du mois de décembre 1995, particulièrement appauvri par rapport au signal mesuré à l'exutoire, mais également par rapport aux autres périodes pluvieuses. Le signal à l'exutoire doit donc varier de façon importante lors de l'arrivée de ces précipitations. Il apparaît clairement sur la Figure que l'eau des pluies du mois de décembre 1995 ne participe pas de façon significative à l'exutoire avant le mois de janvier 1996. L'étude des variations de l'oxygène 18 nous permet donc de déterminer un temps de transit minimal de 1 à 2 mois avant une participation des eaux marquées à l'exutoire. Ceci montre bien la différence entre le transfert de pression et le transfert de masse.

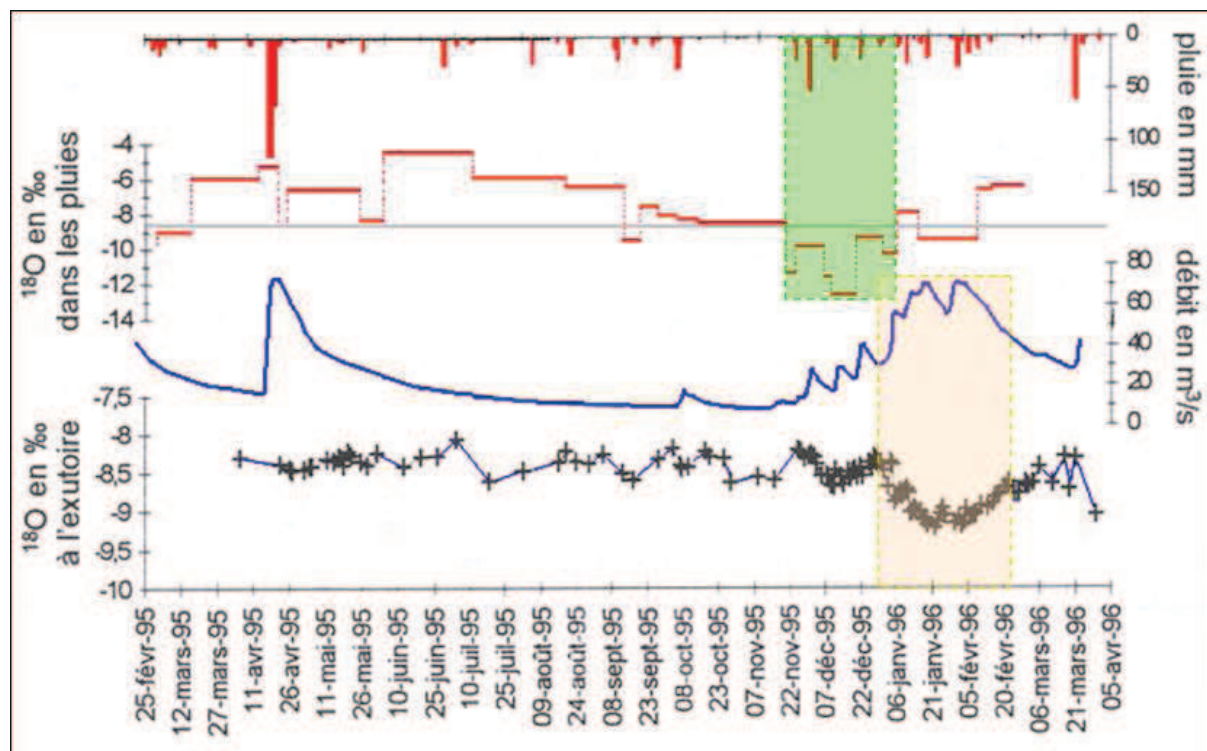


Figure v : Déphasage de l'évolution des teneurs en ^{18}O entre le signal des précipitations et la Fontaine de Vaucluse [d'après Emblanch (1997)]

Abstract

The aim of this study is to develop, apply and validate new hydrogeological tracers, based on specific spectral fingerprints of Dissolved Organic Matter (DOM), and a monitoring of their evolution in Mediterranean karstic hydrosystems. Many hydrodynamic and hydrochemical analyses were made, and several DOM characterization methods were used. The basis of this work is therefore the study of different levels of Fontaine de Vaucluse experimental basin (soil, epikarst and unsaturated zone), thanks to a privileged access: the Low-Noise Underground Laboratory of Rustrel - Pays d'Apt (Vaucluse, France).

Good hydrogeological tracers require specific characteristics (water solubility, stability, a low tendency to adsorption, a low detection limit and identifiable variations). Organic compounds, corresponding to these criterions at best, are **lignin-derived compounds**. Their different characteristics and their low concentrations in the hydrosystem drive us to use sensitive enough detection methods, such as **fluorescence spectrometry** and **Electronic Paramagnetic Resonance (EPR)**.

Linked application of EPR and spectrofluorimetric analyses of leachate soil and LSBB groundwater allow to develop two hydrogeological tracing protocols. The first one concerns the determination of upper soil zone, which belongs to monitoring flow catchment area. The second one, using the evolution and the dynamics of DOM in the hydrosystem, corresponds to the development of transit time qualitative tracers, which apply either in an event-driven way by the marking of specific period of their variations, or continuously allowing the monitoring of transit time variations.

Finally, the comparison between the results obtained by these new organic tracers and by an isotopic tracer (^{18}O Oxygen) allows to validate transit time calculations and prove their complementarity.

Keywords:

Mediterranean karst, Environmental tracing, Dissolved organic matter, Fluorescence, Electronic paramagnetic resonance, Low-Noise Underground Laboratory of Rustrel – Pays d'Apt (LSBB), Fontaine de Vaucluse.

Résumé

Le principal objectif de ce travail est le développement, l'application et la validation de nouveaux traceurs hydrogéologiques sur la base de signatures spectrales spécifiques des matières organiques dissoutes (MOD) et du suivi de leur évolution dans les hydrosystèmes karstiques méditerranéens. Pour cela, de nombreuses analyses hydrodynamiques et hydrochimiques ont été réalisées, et plusieurs méthodes de caractérisation de la MOD ont été utilisées. Le travail s'est alors fondé sur l'étude de différents niveaux du bassin expérimental de la Fontaine de Vaucluse (sol, épikarst et zone non saturée), grâce à un accès privilégié rendu possible par le Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel-Pays d'Apt (Vaucluse, France).

Un bon traceur hydrogéologique requiert des caractéristiques particulières (solubilité dans l'eau, stabilité, tendance faible à l'adsorption, limite de détection faible et des variations bien identifiables). Les composés organiques correspondant le mieux à ces critères sont des **substances dérivées de la décomposition de la lignine**. Leurs différentes caractéristiques et leurs faibles concentrations dans l'hydrosystème poussent à utiliser des modes de détection suffisamment sensibles tels que la **spectrométrie de fluorescence** et la **Résonance Paramagnétique Électronique (RPE)**.

L'application conjointe des analyses en RPE et en spectrofluorimétrie sur les lixiviats de sols et les eaux souterraines du LSBB permet de proposer deux protocoles de traçages hydrogéologiques. Le premier concerne la **détermination des zones superficielles de sol appartenant au bassin d'alimentation des écoulements suivis**. Le second, s'appuyant notamment sur l'évolution et la dynamique des MOD dans l'hydrosystème, correspond au **développement de traceurs quantitatifs du temps de transit de l'eau** pouvant s'appliquer de manière événementielle par le marquage d'une période particulière de leur variation, ou en continu permettant ainsi le suivi des variations du temps de transit.

Enfin, le rapprochement des résultats obtenus par ces nouveaux traceurs organiques avec ceux d'un traceur isotopique (l'oxygène 18) a permis de tester la validité des calculs du temps de transit, mais aussi de démontrer leur complémentarité.

Mots clefs :

Karst méditerranéen, Traçage naturel, Matière organique dissoute, Fluorescence, Résonance paramagnétique électronique, Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel - Pays d'Apt (LSBB), Fontaine de Vaucluse.