



HAL
open science

Traçage hydrogéochimique des écoulements en milieu karstique : fluorescence de la matière organique naturelle et éléments traces. Application au système karstique de Fontaine de Vaucluse et à sa zone non saturée

Leïla Serène

► **To cite this version:**

Leïla Serène. Traçage hydrogéochimique des écoulements en milieu karstique : fluorescence de la matière organique naturelle et éléments traces. Application au système karstique de Fontaine de Vaucluse et à sa zone non saturée. Sciences de l'environnement. Montpellier université, 2023. Français. NNT : . tel-04259739

HAL Id: tel-04259739

<https://theses.hal.science/tel-04259739>

Submitted on 26 Oct 2023

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.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Sciences de l'Eau

École doctorale GAIA

Unité de recherche HydroSciences Montpellier

Traçage hydrogéochimique des écoulements en milieu karstique : fluorescence de la matière organique naturelle et éléments traces. Application au système karstique de Fontaine de Vaucluse et à sa zone non saturée.

Présentée par Leïla SERENE

Le 3 juillet 2023

Sous la direction de Christelle BATIOU-GUILHE
Et Naomi MAZZILLI

Devant le jury composé de

Catherine BERTRAND, Professeure, Université de Franche-Comté

Vincent CLOUTIER, Professeur, Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

Yves PERRETTE, Directeur de recherche au CNRS, Laboratoire EDYSTEM

Bruno ARFIB, Maître de conférences, Aix-Marseille Université

Patrick LACHASSAGNE, Directeur de recherche à l'IRD, Laboratoire HydroSciences Montpellier

Christelle BATIOU-GUILHE, Maîtresse de conférences, Montpellier Université

Naomi MAZZILLI, Maîtresse de conférences, Avignon Université

Christophe EMBLANCH, Maître de conférences, Avignon Université

Philippe LEONIDE, Maître de conférences, Aix-MARSEILLE Université

Présidente du jury

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directrice de thèse

Co-Directrice de thèse

Co-encadrant de thèse

Invité



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

*A la mémoire de mes grands-parents,
qui auraient été si fiers de voir
ces travaux de thèse s'achever*

Remerciements

Fake it until you make it. Voilà ce qui me vient au moment de finaliser ce manuscrit de thèse. En effet, depuis le début, j'ai choisi de croire que rien ne m'empêcherait de finir cette thèse : pas les difficultés personnelles, ni le retard sur le début du suivi des eaux, encore moins la crise Covid et la problématique des analyses de roches, et (presque) pas les résultats inattendus sur la fluorescence de la matière organique. J'avais raison d'y croire, parce que ça y est, cette thèse est terminée, *I made it, we made it.* Alors merci à tous ceux qui y ont contribué!

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mes travaux, ainsi que pour tous les échanges constructifs lors de la soutenance de thèse. Merci à Vincent Cloutier et Yves Pérette d'avoir pris le temps de rapporter ce travail ; à Bruno Arfib, Patrick Lachassagne et Catherine Bertrand de l'avoir examiné. Je remercie également Philippe Léonide pour sa présence en tant qu'invité dans ce jury et pour l'ensemble des échanges que nous avons eu tout au long de la thèse.

Bien sûr, je ne peux que remercier mes 3 directeurs/encadrants de thèse : Christophe Emblanch, Christelle Batiot-Guilhe et Naomi Mazzilli. La bonne entente entre vous trois, votre gentillesse et votre confiance m'ont permis de réaliser cette thèse dans de bonnes conditions et en toute autonomie. Merci, Christelle, pour ton humanité et ta bienveillance à toute épreuve, et pour avoir cru en moi dès la L3 où je t'ai présenté mon projet farfelu d'effectuer une thèse en hydrogéochimie. Merci à Naomi pour ces fabuleux débats scientifiques qui m'ont fait vibrer du début à la fin, ta grande rigueur scientifique et ton esprit critique qui m'inspirent. Merci à Christophe pour le partage de tes connaissances et de ta passion pour le site d'étude.

Je remercie également l'ensemble des membres du projet Total Albion 2 pour leur accueil convivial et les échanges scientifiques au cours des divers comités de pilotage du projet. Merci également à tous les membres des réseaux des SNO Karst et H+ pour nos divers échanges scientifiques et conviviaux au cours des workshops.

Je ne peux que remercier l'ensemble des personnes ayant contribué à l'acquisition des données : Matthieu Blanc et Michel Auguste pour les prélèvements d'eau qui m'ont fait gagner énormément de temps, ainsi qu'à l'ensemble de l'équipe du LSBB pour leur accueil toujours chaleureux. Merci également à Francis Guezou, au SMBS et aux collègues du laboratoire d'Avignon pour leurs prélèvements à Fontaine de Vaucluse et aux pertes de la Nesque apportant de belles perspectives à ces travaux de thèse.

Merci à tous ceux qui m'ont accompagné sur le terrain : Marion, Lucas, Mathilde, Vianney,

ainsi que Lucie et Rémi pour leurs belles photos.

Bien sûr, je ne peux pas oublier ceux qui ont analysé les échantillons ou m'ont aidé à le faire. Merci aux membres du laboratoire d'Avignon qui se sont chargés des analyses des isotopes stables et des éléments majeurs, Roland, Milanka et Julien. Merci également pour votre sympathie et votre accueil chaleureux ! Je ne peux que remercier Mylène, Sophie, Rémi et Léa du laboratoire de Montpellier pour les analyses ICP-MS et leur grande aide pour toutes les préparations des échantillons. Un merci encore plus spécifique à tous ceux qui m'ont aidé à élaborer la méthode d'analyse des roches qui m'a donné tant de fil à retordre : Rémi, Jean-Luc, Delphine, sans oublier Eléonore sans qui la moitié de ce travail n'aurait pu voir le jour.

Une pensée à tous les collègues que j'ai côtoyé à Montpellier, merci pour les discussions animées dans la pinède ! Merci également aux collègues d'Avignon pour m'avoir accompagné dans cette fin de thèse.

Mes derniers remerciements vont à ceux qui n'iront probablement jamais au bout de la lecture de ce manuscrit : mes proches. Merci à ma famille de m'avoir donné le goût du travail bien fait et de la débrouille, et d'avoir toujours cru en ma réussite. Merci aux amis pour votre soutien et votre compréhension infaillible ; et bien sûr, merci à mon noyau central Kévin et nos deux minous Bubulle et Carlos qui m'ont permis de me rappeler quotidiennement que la vie ne se résume pas à travailler !

Sommaire

Introduction générale.....	9
-----------------------------------	----------

Chapitre 1 : Hétérogénéités des karsts et intérêt du traçage naturel des écoulements

Introduction.....	21
I. Hétérogénéités des aquifères karstiques.....	22
I.1 Des sédiments carbonatés aux aquifères karstiques.....	22
I.2 Les écoulements dans les karsts.....	29
II. Outils géochimiques de caractérisation des écoulements en milieux karstiques.....	35
II.1. Caractérisation de l'origine des écoulements en lien avec les lithologies traversées par l'eau...	35
II.2. Identification des processus et dynamique de recharge.....	37
II.3. Traceurs des contaminations anthropiques.....	39
II.4. Estimation des temps de transit.....	40
III. Conclusion.....	45
Références.....	47

Chapitre 2 : Site d'étude et données utilisées

Introduction.....	52
I. Caractéristiques hydrogéologiques du système de Fontaine de Vaucluse.....	52
I.1 Grande échelle : système de Fontaine de Vaucluse.....	52
I.2 Moyenne échelle : sous-systèmes perchés.....	59
I.3 Petite échelle : points d'écoulements en zone non saturée du LSBB.....	61
II. Données disponibles et acquises.....	65
II.1 Données sur les eaux.....	65
II.2 Données sur les roches.....	69
III. Déroulement de la thèse.....	71
Conclusion.....	74
Annexes.....	75
Références.....	79

Chapitre 3 : Utilisation de la fluorescence naturelle de la matière organique comme traceur naturel : analyse critique de l'utilisation d'indices de fluorescence et du lien entre l'indice d'humification et le temps de transit dans les eaux souterraines karstiques

I. Introduction.....	86
II. Méthodologies d'analyses spécifiques à la fluorescence de la matière organique naturelle....	92
II.1 Méthodes d'analyses des échantillons d'eau.....	92
II.2 Utilisation des spectres 2D pour le calcul de l'indice d'Humification (HIX).....	93
II.3 Analyse des matrices d'excitation-émission avec le package staRdom sur R.....	93
III. Indices de fluorescence de la matière organique dans les eaux souterraines et les autres environnements aquatiques: proposition d'amélioration.....	97
IV. Développement d'un indice de fluorescence (Transit Time index - TTi) comme traceur naturel des courts temps de séjour dans les systèmes karstiques.....	113
IV.1 Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France).....	113
IV.2 Etude des variations temporelles des composés fluorescents constituant le TTi aux sources de Millet, St Trinit et la Nesque afin de caractériser leur origine (naturelle, anthropique).....	130
V. Application du TTi au sein d'une zone non saturée karstique non soumise à l'activité anthropique.....	135
VI. Synthèse, conclusion et perspectives.....	162
Annexes.....	166
Références.....	177

Chapitre 4 : Développement des éléments en trace comme traceur naturel des lithologies carbonatées

Liste des tableaux et figures.....	185
Introduction.....	188
Partie A : Etat de l'art et méthodes.....	189
A.I Potentiel des éléments en trace comme traceurs de l'origine des eaux en milieu carbonaté..	189
A.II Développement de méthodes d'analyse des éléments en trace en milieu carbonaté (roches et eaux).....	202
Partie B : Résultats et discussion.....	221
B.I. Signature en éléments en trace des carbonates du système Fontaine de Vaucluse.....	221
B.II Signature en éléments en trace des eaux et potentiel d'utilisation comme traceur des environnements de dépôt.....	229
Conclusion.....	242
Annexes.....	245
Références.....	270

Chapitre 5 : Synthèse du manuscrit, conclusion et perspectives

I. Contexte.....	273
II. Rappel des objectifs de la thèse et moyens mis en oeuvre.....	274
III. Résolution des problématiques de thèse.....	275
III.1 Amélioration des méthodes de calcul des indices de fluorescence.....	275
III.2 Amélioration de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de transit courts.....	276
III.3 Le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des types de calcaires traversés par l'eau.....	278
III.4 Amélioration de la compréhension des écoulements en zone non saturée du système Fontaine de Vaucluse.....	279
IV. Perspectives de recherche.....	280
Références.....	283
Résumé de la thèse.....	285

Introduction

Le changement climatique est devenu au fil des années une question cruciale à l'échelle mondiale. Ses effets déjà perceptibles sur la ressource en eau (Le HuffPost, 2023) ainsi que les projections en termes de disponibilité de cette ressource pour les activités humaines (eaufrance, 2018; UNESCO, 2022) placent le cycle de l'eau et ses évolutions sur le devant de la scène médiatique (Euronews, 2023; Regis, 2022; Valo, 2022). Une influence directe est par exemple attendue sur les eaux souterraines qui représentent une très large proportion de l'alimentation en eau potable (plus de 60% des prélèvements d'après le [centre d'information sur l'eau](#)). Le changement climatique raréfie en effet les épisodes pluvieux, augmente leur intensité et ainsi le ruissellement, et modifie les périodes pluvieuses. Il induit de ce fait une augmentation de la fréquence et de la durée des sécheresses, ce qui impacte grandement la quantité d'eau disponible (Mall et al., 2006). L'augmentation des températures engendre par ailleurs une hausse de l'évapotranspiration potentielle qui peut conduire à une augmentation de la demande en eau pour l'irrigation (Holman, 2006 and Wang et al., 2016 in Azhoni et al., 2018). Le changement climatique est également susceptible d'affecter la qualité de l'eau en influant notamment sur le transfert de certains contaminants en affectant les conditions Eh et pH régissant notamment les processus d'adsorption et désorption des éléments traces métalliques (Lipczynska-Kochany, 2018; Michalak, 2016; Mimikou et al., 2000; Whitehead et al., 2009). Le changement climatique n'est cependant pas seul en cause dans la pression qui pèse sur la ressource en eau. En effet, l'augmentation de la population, le développement économique, l'accroissement de l'urbanisation et le changement de régime alimentaire à l'échelle globale conduit à l'augmentation des surfaces agricoles irriguées et de la demande en eau (Bierkens and Wada, 2019; Koop and van Leeuwen, 2017).

Face à de telles contraintes, la compréhension du fonctionnement des aquifères et notamment l'identification des zones de stockages et de circulations préférentielles de l'eau devient un enjeu majeur afin de préserver quantitativement et qualitativement la ressource en eau.

En France et dans le monde, les aquifères karstiques contribuent significativement à l'alimentation en eau potable (40% en France, 25% dans le monde ; Chen et al., 2017). Ce type d'aquifères figure parmi les plus complexes, en raison de l'hétérogénéité à considérer à

toutes les échelles, qui est la spécificité des roches carbonatées dans lesquelles se développent les karsts. Par exemple, la zone non saturée peut être le siège de transferts rapides via les drains karstiques, de transferts lents à travers la matrice carbonatée et peut même assurer une fonction de stockage à l'échelle locale. Ainsi, le transfert de l'eau depuis la surface jusqu'à la l'exutoire de l'aquifère est possible via une infinité de chemins à petite échelle, affectant la circulation et le stockage de l'eau à grande échelle et ainsi la quantité et la qualité (transfert de contaminants) de l'eau disponible. La compréhension des écoulements au sein des aquifères karstiques passe notamment par l'identification de l'origine de l'eau (e.g. en provenance d'un autre aquifère, d'un rejet anthropique), la connaissance du chemin emprunté par l'eau (e.g. passage dans des zones contaminées ou non, roches traversées) et l'estimation du temps nécessaire au trajet de l'eau depuis l'infiltration de pluie et l'écoulement de l'eau souterraine au niveau de l'exutoire du système karstique (e.g. anticiper les risques de crues, identifier les stocks d'eau disponible).

Pour améliorer la compréhension des écoulements au sein des aquifères karstiques, le traçage hydrogéochimique, aussi appelé traçage naturel ou environnemental est l'une des méthodes les plus couramment utilisées. En effet, cette méthode présente l'avantage d'apporter une vision intégratrice (spatiale et temporelle) des processus affectant l'hydrogéochimie des eaux souterraines, à l'opposé d'autres approches telles que le traçage artificiel qui ne permettent d'accéder qu'à des informations ponctuelles entre le lieu d'injection et le ou les lieux de restitution.

La grande diversité des traceurs naturels existants permet une grande diversité d'applications et de ce fait l'adaptation à chaque problématique étudiée e.g. identification de l'origine de l'eau; estimation et/ou quantification des temps de séjour, mise en évidence de contaminations anthropiques.

La fluorescence de la matière organique est un traceur naturel couramment utilisé pour : i) identifier, évaluer ou tracer une contamination d'origine anthropique (eaux usées, élevage, décharge ; Jiang et al., 2019; Li et al., 2019; Quiers et al., 2014; Zhang et al., 2021); ii) caractériser l'origine des eaux souterraines (Richards et al., 2019; Rutledge et al., 2015); ou iii) estimer leur temps de séjour (Batiot, 2002; Blondel et al., 2012). L'utilisation de la fluorescence de la matière organique peut se faire par le calcul d'indices de fluorescence estimés à partir de spectres d'émission 2D (Gabor et al., 2014). Ces indices de fluorescence ont été développés pour des types d'eau précis (eaux du sol, marine ou douce) mais sont

pourtant utilisés pour tous les types d'eau y compris les eaux souterraines (Hu et al., 2023; Jiang et al., 2019; Nelson et al., 2015; Zheng et al., 2020). Le **premier objectif** de ces travaux de thèse est d'améliorer les méthodes d'utilisation de la fluorescence de la matière organique naturelle dans les eaux souterraines en proposant une amélioration des méthodes de calculs des indices de fluorescence. Le **second objectif** est de poursuivre les recherches sur l'une des applications de l'un de ces indices, le HIX, développé par Blondel et al. (2012) pour estimer le temps de séjour.

Les éléments majeurs sont couramment utilisés pour caractériser les types de roches traversées par l'eau (e.g. évaporites, Blum et al., 2003). Ils varient cependant peu entre les différentes lithologies carbonatées, alors même que l'hétérogénéité des caractéristiques physiques des carbonates a une forte influence sur la dynamique des écoulements (facilitant ou non la circulation de l'eau). A contrario, la variabilité des concentrations en certains éléments en trace dans les roches a déjà pu être identifiée et attribuée à une variabilité des environnements de dépôt et des processus diagénétiques subis (Delpomdor et al., 2013; Gholami Zadeh et al., 2019; Hood et al., 2018; Li et al., 2020). Ainsi, le **troisième objectif** de cette thèse est d'étudier le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des types de calcaires traversés par l'eau.

Pour répondre à ces trois premiers objectifs, nous nous appuyons sur l'observatoire du système karstique de Fontaine de Vaucluse ([SNO KARST](#)). Le bassin d'alimentation de l'exutoire principal de cet aquifère atteint 1160 km² (Ollivier, 2020), soit l'échelle du système sédimentaire correspondant à une plateforme carbonatée dite Urgonienne. Il comprend ainsi des calcaires correspondant à des environnements de dépôts et influences diagénétiques variées. La zone non saturée de cet aquifère peut atteindre jusqu'à 800 m d'épaisseur (Puig, 1987), le rendant particulièrement bien adapté à l'étude des écoulements en zone non saturée. Il abrite par ailleurs un site exceptionnel permettant un accès à la zone non saturée via des galeries souterraines creusées à des fins militaires puis reconverties en observatoire scientifique : le LSBB ([Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel](#), observatoire rattaché au [SNO H+](#)). Les observations réalisées dans le cadre de ces observatoires viennent nourrir l'Infrastructure de Recherche (IR) OZCAR centré sur l'étude de la Zone Critique. Cette démarche scientifique, qui s'appuie sur des observations long terme, est un support crucial pour cette étude puisqu'elle permet de mener les développements méthodologiques en

s'appuyant sur des points d'écoulements bien contraints du point de vue hydrogéochimique et hydrodynamique. En complément des suivis réalisés dans le cadre des observatoires, une partie des analyses réalisées au cours de cette thèse a été financée par TotalEnergies dans le cadre du projet Albion2 (2019-2022) qui visait à améliorer la compréhension des écoulements en milieu carbonaté karstifié.

De façon générale, le **quatrième objectif** de cette thèse est d'améliorer la compréhension des écoulements dans la zone non saturée de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse.

Le **chapitre 1** de cette thèse fournit la motivation de cette étude. Il identifie les différentes sources d'hétérogénéités des milieux karstiques et présente des traceurs naturels couramment utilisés ainsi que leurs applications.

Le **chapitre 2** présente les spécificités du système karstique de Fontaine de Vaucluse ainsi que les données, acquises ou issues de précédents travaux, utilisées dans le cadre de cette thèse pour répondre aux 4 objectifs identifiés.

Le **chapitre 3** est consacré à la fluorescence de la matière organique pour répondre aux objectifs 1 et 2. Il comprend une courte revue bibliographique sous forme d'introduction, un descriptif des méthodes utilisées, ainsi que les résultats de l'étude sous forme de 3 articles scientifiques (dont un publié : Serène et al., 2022 ; et deux autres en préparation).

Le **chapitre 4** est dédié aux éléments en trace et vise à répondre à l'objectif 3. Tout comme le chapitre 3, il comprend une revue bibliographique ainsi que les méthodologies développées et appliquées pour étudier le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des lithologies carbonatées traversées par l'eau (partie A). Les résultats de l'étude sont présentés en partie B.

Le quatrième objectif de cette thèse est traité tout au long des chapitres 3 et 4, les résultats sont compilés dans la conclusion de ce manuscrit.

Références

- Azhoni, A., Jude, S., Holman, I., 2018. Adapting to climate change by water management organisations: Enablers and barriers. *J. Hydrol.* 559, 736–748. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.02.047>
- 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.
- Bierkens, M.F.P., Wada, Y., 2019. Non-renewable groundwater use and groundwater depletion: a review. *Environ. Res. Lett.* 14, 063002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab1a5f>
- Blondel, T., Emblanch, C., Batiot-Guilhe, C., Dudal, Y., Boyer, D., 2012. Punctual and continuous estimation of transit time from dissolved organic matter fluorescence properties in karst aquifers, application to groundwaters of 'Fontaine de Vaucluse' experimental basin (SE France). *Environ. Earth Sci.* 65, 2299–2309. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1562-x>
- Blum, A., Chery, L., Barbier, J., Baudry, D., Petelet-giraud, E., 2003. Le fonds géochimique naturel des eaux souterraines. État des connaissances et méthodologie. *Houille Blanche* 120–124. <https://doi.org/10.1051/lhb/2003039>
- Chen, Z., Auler, A.S., Bakalowicz, M., Drew, D., Griger, F., Hartmann, J., Jiang, G., Moosdorf, N., Richts, A., Stevanovic, Z., Veni, G., Goldscheider, N., 2017. The World Karst Aquifer Mapping project: concept, mapping procedure and map of Europe. *Hydrogeol. J.* 25, 771–785. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1519-3>
- Delpomdor, F., Blanpied, C., Virgone, A., Préat, A., 2013. Paléoenvironnements in Meso–Neoproterozoic carbonates of the Mbuji-Mayi Supergroup (Democratic Republic of Congo) – Microfacies analysis combined with C–O–Sr isotopes, major-trace elements and REE+Y distributions. *J. Afr. Earth Sci.* 88, 72–100. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2013.09.002>
- eaufrance, 2018. Les impacts du changement climatique sur l'eau. Serv. Public Inf. Sur Eau. URL <https://www.eaufrance.fr/les-impacts-du-changement-climatique-sur-leau> (accessed 4.30.23).
- Euronews, 2023. Malte : l'approvisionnement en eau potable menacé par le changement climatique. euronews. <https://fr.euronews.com/my-europe/2023/04/06/malte-lapprovisionnement-en-eau-potable-menace-par-le-changement-climatique>.
- Gabor, R.S., Baker, A., McKnight, D.M., Miller, M.P., 2014. Fluorescence indices and their interpretation, in: *Aquatic Organic Matter Fluorescence*.
- Gholami Zadeh, P., Adabi, M.H., Sadeghi, A., 2019. Microfacies, geochemistry and sequence stratigraphy of the Sarvak Formation (Mid Cretaceous) in the Kuh-e Siah and Kuh-e Mond, Fars area, southern Iran. *J. Afr. Earth Sci.* 160, 103634. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2019.103634>
- Holman, I.P., 2006. Climate change impacts on groundwater recharge- uncertainty, shortcomings, and the way forward? *Hydrogeol. J.* 14, 637–647. <https://doi.org/10.1007/s10040-005-0467-0>
- Hood, A. v.S., Planavsky, N.J., Wallace, M.W., Wang, X., 2018. The effects of diagenesis on geochemical paleoredox proxies in sedimentary carbonates. *Geochim. Cosmochim. Acta* 232, 265–287. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.04.022>
- Hu, D., Indika, S., Zhong, H., Weragoda, S.K., Jinadasa, K.B.S.N., Weerasooriya, R., Wei, Y., 2023. Fluorescence characteristics and source analysis of DOM in groundwater during the wet season in the CKDu zone of North Central Province, Sri Lanka. *J. Environ. Manage.* 327, 116877. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116877>
- Jiang, Y., Li, R., Yang, Y., Yu, M., Xi, B., Li, M., Xu, Z., Gao, S., Yang, C., 2019. Migration and evolution of dissolved organic matter in landfill leachate-contaminated groundwater plume. *Resour. Conserv. Recycl.* 151, 104463. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104463>
- Koop, S.H.A., van Leeuwen, C.J., 2017. The challenges of water, waste and climate change in cities. *Environ. Dev. Sustain.* 19, 385–418. <https://doi.org/10.1007/s10668-016-9760-4>

- Le HuffPost, 2023. Les pénuries d'eau se généralisent, l'ONU alerte sur un « risque imminent » de crise mondiale. HUFFPOST. URL https://www.huffingtonpost.fr/environnement/article/les-penuries-d-eau-se-generalisent-l-onu-alerte-sur-un-risque-imminent-de-crise-mondiale_215553.html (accessed 4.30.23).
- Li, X., Gang, W., Yao, J., Gao, G., Wang, C., Li, J., Liu, Y., Guo, Y., Yang, S., 2020. Major and trace elements as indicators for organic matter enrichment of marine carbonate rocks: A case study of Ordovician subsalt marine formations in the central-eastern Ordos Basin, North China. *Mar. Pet. Geol.* 111, 461–475. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2019.08.028>
- Li, X., Guo, H., Zheng, H., Xiu, W., He, W., Ding, Q., 2019. Roles of different molecular weights of dissolved organic matter in arsenic enrichment in groundwater: Evidences from ultrafiltration and EEM-PARAFAC. *Appl. Geochem.* 104, 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.03.024>
- Lipczynska-Kochany, E., 2018. Effect of climate change on humic substances and associated impacts on the quality of surface water and groundwater: A review. *Sci. Total Environ.* 640–641, 1548–1565. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.376>
- Mall, R.K., Gupta, A., Singh, R., Singh, R.S., Rathore, L.S., 2006. Water resources and climate change: An Indian perspective. *Curr. Sci.* 90, 1610–1626.
- Michalak, A.M., 2016. Study role of climate change in extreme threats to water quality. *Nature* 535, 349–350. <https://doi.org/10.1038/535349a>
- Mimikou, M.A., Baltas, E., Varanou, E., Pantazis, K., 2000. Regional impacts of climate change on water resources quantity and quality indicators. *J. Hydrol.* 234, 95–109. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(00\)00244-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(00)00244-4)
- Nelson, C.E., Donahue, M.J., Dulaiova, H., Goldberg, S.J., La Valle, F.F., Lubarsky, K., Miyano, J., Richardson, C., Silbiger, N.J., Thomas, F.I.M., 2015. Fluorescent dissolved organic matter as a multivariate biogeochemical tracer of submarine groundwater discharge in coral reef ecosystems. *Mar. Chem.* 177, 232–243. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.06.026>
- Ollivier, C., 2020. Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrosystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France (PhD). Université d'Avignon.
- Puig, J.M., 1987. Le système karstique de la Fontaine de Vaucluse (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Quiers, M., Batiot-Guilhe, C., Bicalho, C.C., Perrette, Y., Seidel, J.-L., Van Exter, S., 2014. Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in a karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter. *Environ. Earth Sci.* 71, 553–561. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2731-2>
- Regis, M., 2022. Quel est l'impact du réchauffement climatique sur l'eau ? Le Télégramme. URL <https://www.letelegramme.fr/dossiers/leau-potable-de-rennes-face-aux-pollutions-et-au-rechauffement-climatique/rennes-et-l-impact-du-rechauffement-climatique-sur-l-eau-05-07-2022-13081566.php> (accessed 4.30.23).
- Richards, L.A., Lapworth, D.J., Magnone, D., Gooddy, D.C., Chambers, L., Williams, P.J., van Dongen, B.E., Polya, D.A., 2019. Dissolved organic matter tracers reveal contrasting characteristics across high arsenic aquifers in Cambodia: A fluorescence spectroscopy study. *Geosci. Front.* 10, 1653–1667. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2019.04.009>
- Rutledge, H., Andersen, M.S., Baker, A., Chinu, K.J., Cuthbert, M.O., Jex, C.N., Marjo, C.E., Markowska, M., Rau, G.C., 2015. Organic characterisation of cave drip water by LC-OCD and fluorescence analysis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 166, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2015.05.042>
- Serène, L., Batiot-Guilhe, C., Mazzilli, N., Emblanch, C., Babic, M., Dupont, J., Simler, R., Blanc, M., Massonnat, G., 2022. Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France). *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 26, 5035–5049. <https://doi.org/10.5194/hess-26-5035-2022>
- Stevanović, Z., 2019. Karst waters in potable water supply: a global scale overview. *Environ. Earth Sci.* 78, 662. <https://doi.org/10.1007/s12665-019-8670-9>

- UNESCO, 2022. Changement climatique. URL <https://www.unesco.org/reports/wwdr/2022/fr/climate-change> (accessed 4.30.23).
- Valo, M., 2022. Les eaux souterraines, une ressource « mal gérée, voire gaspillée ». *Le monde*. URL https://www.lemonde.fr/planete/article/2022/03/21/les-eaux-souterraines-une-ressource-mal-geree-voire-gaspillee_6118375_3244.html (accessed 4.30.23).
- Wang, X., Zhang, J., Shahid, S., Guan, E., Wu, Y., Gao, J., He, R., 2016. Adaptation to climate change impacts on water demand. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change* 21, 81–99. <https://doi.org/10.1007/s11027-014-9571-6>
- Whitehead, P.G., Wilby, R.L., Battarbee, R.W., Kernan, M., Wade, A.J., 2009. A review of the potential impacts of climate change on surface water quality. *Hydrol. Sci. J.* 54, 101–123. <https://doi.org/10.1623/hysj.54.1.101>
- Zhang, Y., Liu, Y., Zhou, A., zhang, L., 2021. Identification of groundwater pollution from livestock farming using fluorescence spectroscopy coupled with multivariate statistical methods. *Water Res.* 206, 117754. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117754>
- Zheng, Y., He, W., Li, B., Hur, J., Guo, H., Li, X., 2020. Refractory Humic-like Substances: Tracking Environmental Impacts of Anthropogenic Groundwater Recharge. *Environ. Sci. Technol.* 54, 15778–15788. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04561>

Chapitre 1 : Hétérogénéités des karsts et intérêt du traçage naturel des écoulements

Sommaire

Introduction.....	19
I. Hétérogénéités des aquifères karstiques.....	20
I.1 Des sédiments carbonatés aux aquifères karstiques.....	20
I.1.1 Dépôt des sédiments carbonatés.....	20
I.1.2 Des sédiments carbonatés aux carbonates – Diagenèse.....	22
I.1.3 Karstification : émergence des roches carbonatées & karstogenèse.....	23
I.1.4 Développement du sol en milieu karstique.....	25
I.1.5 Résumé de la partie I.1.....	26
I.2 Les écoulements dans les karsts.....	27
I.2.1 Hétérogénéité structurale à l'échelle régionale et implication sur les écoulements.....	27
I.2.2 Impact des hétérogénéités d'échelle locale des roches sur la recharge en milieu karstique.	29
I.2.3 Résumé de la partie I.2 : influence des hétérogénéités au sein des systèmes karstiques sur les écoulements et leur marquage hydrogéochimique.....	30
II. Outils géochimiques de caractérisation des écoulements en milieux karstiques.....	33
II.1. Caractérisation de l'origine des écoulements en lien avec les lithologies traversées par l'eau... 33	
II.1.1 Eléments majeurs.....	33
II.1.2 Eléments en trace.....	34
II.2. Identification des processus et dynamique de recharge.....	35
II.2.1 Gaz dissous : oxygène et dioxyde de carbone.....	35
II.2.3 Isotopes stables de l'eau.....	37
II.3. Traceurs des contaminations anthropiques.....	37
II.4. Estimation des temps de transit.....	38
II.4.1 Approches quantitatives.....	38
II.4.2 Approches qualitatives.....	39
III. Conclusion.....	42
Références.....	44

Liste des tableaux et figures

Tableau 1.1 : Ordres de grandeur des concentrations des éléments majeurs des eaux drainant des roches carbonatées basés sur 201 observations issus de différentes études (Blum et al., 2003).	34
Figure 1.1 : Environnements de dépôt d'une plateforme carbonatée et dépôts carbonatés principaux (modifié de Wilson, 1975).	21
Figure 1.2 : Schéma conceptuel des trois comportements hydrodynamiques possibles au droit d'une faille (Dal Soglio, 2020 d'après Caine et al., 1996 et Matonti et al., 2012).	24
Figure 1.3 : Modèle schématique illustrant l'adaptation du drainage en fonction de l'abaissement du niveau de base (Dal Soglio, 2020).	25
Figure 1.4 : Représentation schématique d'un système karstique (Goldscheider and Drew, 2007).	27
Figure 1.5 : Schéma des circulations d'eau possibles au sein de la zone non saturée en milieu karstique.	28
Figure 1.6 : Schéma de l'influence des hétérogénéités des calcaires sur les écoulements de zone non saturée.	30
Figure 1.7 : Schéma de fonctionnement d'un système karstique (modifié de Mangin, 1975).	32
Figure 1.8 : Équilibres calco-carboniques et constantes d'équilibres à 25°C d'après (Bakalowicz, 1982).	36
Figure 1.9 : Gammes d'utilisation des traceurs naturels des temps de transit informant sur l'âge apparent des eaux souterraines. En rouge : isotopes radioactifs; bleu : marqueurs événementiels; vert : éléments radiogéniques (Cook, 2020).	38
Figure 1.10 : Spectre d'émission à une excitation de 254 nm permettant le calcul du HIX (Zsolnay et al., 1999).	40
Figure 1.11 : Variation du HIX en fonction du temps de transit (Blondel et al., 2012).	41

Introduction

Le karst constitue une importante ressource en eau à l'échelle de la France ainsi qu'à l'échelle mondiale en représentant respectivement 40% et 25% de l'alimentation en eau potable (Chen et al., 2017). Cependant, ce type d'aquifères figure parmi les plus complexes à toutes les échelles. A grande échelle, ils se décomposent en divers compartiments : épikarst, zone non saturée, zone saturée; à une échelle intermédiaire l'hétérogénéité est liée à la présence de conduits karstiques développés au sein d'une matrice carbonatée; et à petite échelle, la variabilité des propriétés pétrophysiques et géochimiques des roches est liée à l'alternance de différents types de carbonates.

Afin de mieux comprendre les écoulements d'eau au sein des systèmes karstiques, plusieurs approches peuvent être envisagées. Parmi ces approches, on retrouve deux types de traçages : le traçage naturel et artificiel. Le traçage artificiel consiste à suivre un traceur injecté en un point précis au niveau d'un point de restitution, souvent l'exutoire d'un aquifère. Ce type d'outil permet d'acquérir une information sur la connexion entre ces deux points et la durée du parcours de l'eau. Cependant, cette information est ponctuelle, localisée, dépendante des conditions hydrodynamiques (hautes eaux) et nécessite d'avoir au préalable une idée du point de restitution. Le traçage naturel consiste à mesurer la présence d'un ou plusieurs traceurs naturellement présents dans les eaux et d'en effectuer un suivi spatial et/ou temporel afin, par exemple, de caractériser les connexions entre les différents points de prélèvement. Cette méthode présente l'avantage de ne pas nécessiter de connaissances préalables sur les systèmes étudiés. De plus, la grande diversité des traceurs naturels permet une grande diversité d'applications. En effet, un traceur naturel est défini comme une substance, un corps ou un ensemble de molécules présent naturellement dans une eau et dont les variations spatiales et temporelles peuvent marquer et différencier une masse d'eau, permettant d'identifier son origine ou observer son évolution (Office Québécois de la Langue Française, 1990).

Afin de mieux comprendre les hétérogénéités des aquifères karstiques, la première partie de ce chapitre a pour objectif de discuter des causes des différentes hétérogénéités depuis le dépôt des sédiments carbonatés jusqu'à la formation d'un système organisé. Cette partie vise également à aborder les conséquences de ces hétérogénéités sur les écoulements. La seconde partie de ce chapitre s'intéresse à dresser un inventaire non exhaustif des traceurs naturels couramment utilisés en milieu karstique et de leurs diverses applications.

I. Hétérogénéités des aquifères karstiques

I.1 Des sédiments carbonatés aux aquifères karstiques

I.1.1 Dépôt des sédiments carbonatés

Les carbonates sont principalement d'origine marine mais peuvent également être formés en eau douce (e.g. milieu lacustre; Chamley and Deconinck, 2011). Ils résultent principalement de deux processus : la précipitation directe de calcite, et la production biogénique.

La précipitation directe de CaCO_3 se fait généralement lorsque l'évaporation excède l'apport d'eau, qu'elle soit d'origine météorique, marine, ou continentale. Elle est également influencée par la température et dépend des équilibres calco-carboniques. Cette précipitation s'observe dans les lagunes côtières évaporitiques des pays chauds et secs, et peut s'observer dans des lacs salés ou non. La minéralogie de ces dépôts évaporitiques dépend de la composition des solutions soumises à l'évaporation, mais la calcite est généralement le premier minéral à précipiter lors de l'évaporation. Cette précipitation directe est rare en milieu océanique, où elle n'est observée que dans certains contextes particuliers comme au niveau de la plateforme carbonatée des Bahamas (Broecker, W.S. and Takahashi, 1966).

La majorité des carbonates déposés en milieu marin résultent de bioconstructions (récifs) ou de l'accumulation de fragments d'organismes (bioclastes). Les carbonates peuvent également contenir d'autres types d'éléments carbonatés ou non comme des oolithes ou des pellets. La nature de ces bioclastes dépend de l'environnement de dépôt, tout comme la taille, qui est majoritairement liée à l'énergie du milieu. Dans des eaux peu profondes, la distribution des associations carbonatées dépend principalement de la salinité et de la température de l'eau de mer. La profondeur, la pénétration de la lumière, le régime de courant, la durée du jour, la teneur en éléments dissous, la turbidité ou encore la nature du substrat jouent également un rôle important. Dans des eaux profondes, les matériaux calcaires des sédiments sont principalement issus de la production planctonique (Jenkyns and Hsü, 1974). Il en résulte une sédimentation peu variée, dominée par des boues et dépendante des phénomènes de dissolution. En effet, l'eau de mer n'est pas saturée en ions HCO_3^- en profondeur, contrairement à la surface en raison de l'équilibre avec le CO_2 atmosphérique. Cela a pour conséquence de rendre possible la dissolution des carbonates en profondeur, augmentant par conséquent la proportion de silice. Cette dernière est extraite de l'eau par les organismes

vivants à tests siliceux (radiolaires, diatomées, spongiaires). La solubilité de cet élément décroît avec la baisse de la température et l'augmentation de la profondeur, ainsi les eaux profondes correspondent à des conditions de préservation idéales des éléments siliceux.

Dans les sédiments marins, en plus de la silice, d'autres éléments non carbonatés, comme les phosphates ou encore la matière organique peuvent être présents. Tout comme la silice, le phosphore est fixé par les organismes vivants. L'accumulation de phosphates dans les sédiments marins est favorisée par des eaux chaudes, une forte productivité planctonique, une hauteur d'eau modérée, et des courants océaniques ascendants. Ainsi, les dépôts phosphatés se retrouvent principalement dans des régions chaudes, sur la partie supérieure des marges continentales, au niveau de la transition entre la plateforme et le talus (Figure 1.1). Une accumulation importante de nodules phosphatés dans une série sédimentaire traduit un ralentissement voire un arrêt total de la sédimentation, souvent lié à une surface d'inondation maximale. La matière organique est plus présente dans les sédiments fins (argiles, silts) que dans les sédiments plus grossiers comme les sables. Sa conservation ne dépend pas de la profondeur de dépôt, mais des conditions d'oxydo-réduction. En effet, en présence d'oxygène, la matière organique est oxydée et se dégrade, alors que sous conditions réductrices elle peut se conserver.

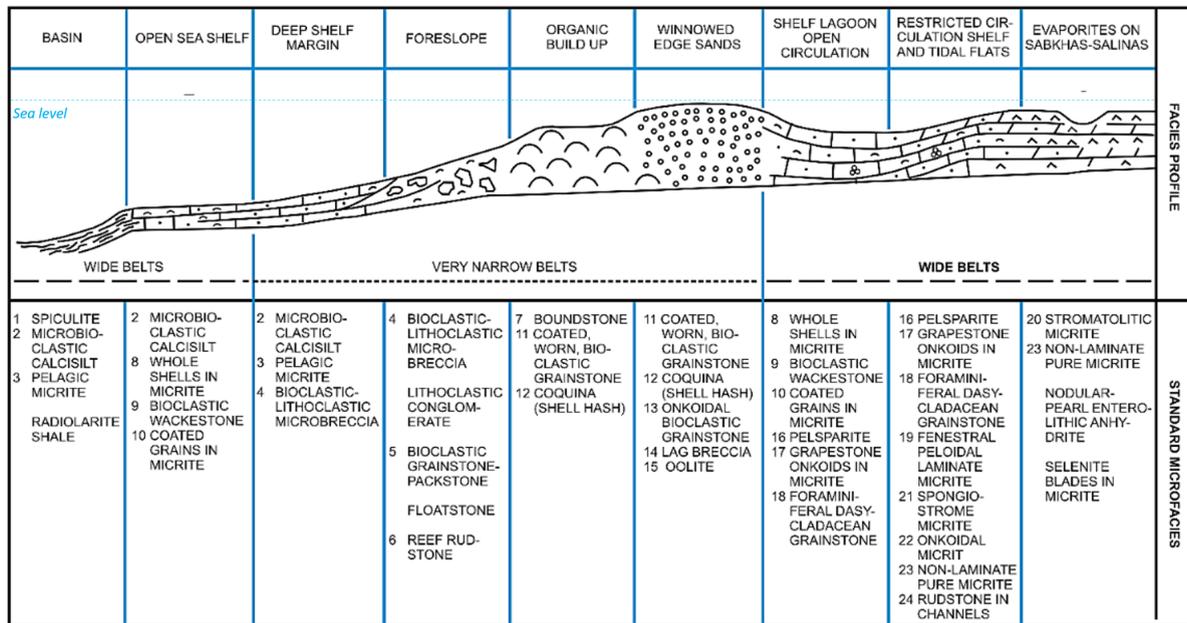


Figure 1.1 : Environnements de dépôt d'une plateforme carbonatée et dépôts carbonatés principaux (modifié de Wilson, 1975).

La composition des sédiments carbonatés ainsi que leur chimie dépendent ainsi fortement des conditions du milieu (potentiel d'oxydo-réduction Eh, potentiel Hydrogène pH

et profondeur) et est donc associée à une variabilité spatiale depuis le continent jusqu'au bassin (Figure 1.1). Du fait de l'accumulation progressive des sédiments carbonatés, la variabilité temporelle du niveau marin entraîne une modification de l'environnement de dépôt en un point donné. Les plateformes carbonatées sont ainsi souvent organisées de manière séquentielle (Strasser et al., 1999). L'extension spatiale, l'épaisseur, et la succession des dépôts des différents faciès est ainsi très variable. Les lacs sont également très sensibles aux variations saisonnières et climatiques qui génèrent souvent des fluctuations des apports détritiques ou organiques à l'échelle annuelle. Il en résulte des alternances saisonnières des dépôts nommées varves.

I.1.2 Des sédiments carbonatés aux carbonates – Diagenèse

La diagenèse correspond à un ensemble de modifications physiques et chimiques générées par des contraintes thermodynamiques (pression, température, Chamley and Deconinck, 2011). Au cours de leur dépôt, les sédiments carbonatés sont précocement impactés par la diagenèse et vont se solidifier (diagenèse primaire). Une diagenèse secondaire peut ensuite se produire avec l'enfouissement.

Les caractéristiques et l'ampleur de la diagenèse dépendent de nombreux facteurs tels que la profondeur d'enfouissement, la granularité initiale du sédiment, la porosité, la perméabilité, les échanges de fluides au niveau de l'interface eau-sédiment et entre les sédiments accumulés. La diagenèse entraîne des changements pétrophysiques (porosité, perméabilité), minéralogiques, ou encore géochimiques. Ces modifications se font à des vitesses différentes selon les interactions fluides-sédiments, ou selon des facteurs physico-chimiques. L'évolution diagénétique d'une roche correspond ainsi à un continuum de processus divers et de durée variable. Les processus diagénétiques sont principalement : la compaction (réorientation des particules, diminution de la porosité), la recristallisation (e.g. sels, silice, quartz, feldspaths, argiles), la dissolution, la cimentation (remplissage de la porosité), la néoformation (e.g. oxydes, sulfures, silicates), et le remplacement (sous très fortes pressions et températures, e.g. dolomitisation). Ils affectent le sédiment à divers degrés et modifient sa structure.

L'évolution des carbonates après leur dépôt est ainsi très diversifiée et complexe d'autant plus que certains processus tels que la cimentation peut elle-même être très hétérogène en raison de la variabilité de la nature des eaux circulant dans les sédiments carbonatés. Il existe ainsi de nombreuses combinaisons possibles de processus diagénétiques.

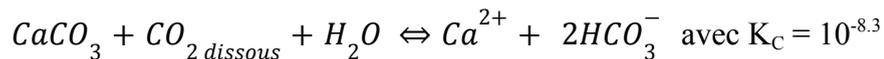
De plus, les carbonates sont des roches particulièrement sensibles à la diagenèse du fait de leur rapide dissolution et recristallisation. Cela a pour conséquence la possible formation de plusieurs générations de ciments ainsi que plusieurs générations de porosités, en partie responsables des hétérogénéités des carbonates.

I.1.3 Karstification : émergence des roches carbonatées & karstogénèse

Par érosion ou du fait de la tectonique, les roches carbonatées précédemment enfouies peuvent se retrouver à la surface et subir un autre type de processus diagénétique : la karstification.

La karstification correspond à l'ensemble des mécanismes aboutissant à la genèse d'un karst (Bathurst, 1975). Il s'agit d'un processus diagénétique combinant dissolution chimique et érosion mécanique. La dissolution chimique peut être le résultat de l'infiltration d'eau de pluie (spéléogénèse épigène), ou d'une remontée d'eau profonde (spéléogénèse hypogène; Audra, 2007 in Dal Soglio, 2020).

Les roches carbonatées constituant les systèmes karstiques sont partiellement dissoutes par la circulation d'une eau acidifiée par de l'acide carbonique (Bakalowicz, 1999). Dans le cas d'un karst épigène, l'acidification de l'eau de pluie se fait au cours de l'infiltration par dissolution du CO_2 d'origine biologique présent dans le sol selon l'équation suivante (Ford and Williams, 2007; Freeze and Cherry, 1979) :



La circulation de cette eau à fort potentiel de dissolution est à l'origine de la formation d'une porosité secondaire organisée correspondant au réseau de drainage karstique (Ford and Williams, 2007).

Le potentiel de karstification d'un système dépend de nombreux facteurs géologiques et hydrodynamiques. Parmi eux, on retrouve le rôle des failles et fractures, les conditions de recharge, les variations du niveau de base, ainsi que les mises en place de surfaces d'inception.

Les failles et fractures impactent la direction des écoulements et par conséquent le développement des réseaux karstiques selon leur type et leur orientation (Ford and Ewers, 1978 in Dal Soglio, 2020). Les failles peuvent faire barrière aux écoulements, servir de drain, ou bien une combinaison des deux (Celico et al., 2006; Herold et al., 2000; Figure 1.2). Elles

peuvent ainsi empêcher les écoulements lorsque la faille correspond à une zone cimentée (Figure 1.2a); ou favoriser les écoulements lorsque la faille est associée à une zone de fracture (Figure 1.2b; Caine et al., 1996; Matonti et al., 2012). Une combinaison des de la présence d'une zone cimentée et d'une zone de fracture peut également conduire à un comportement mixte de la faille vis-à-vis des écoulements (Figure 1.2c). La présence de failles rend ainsi inévitable la présence de sous-réservoirs au sein des systèmes karstiques (Celico et al., 2006).

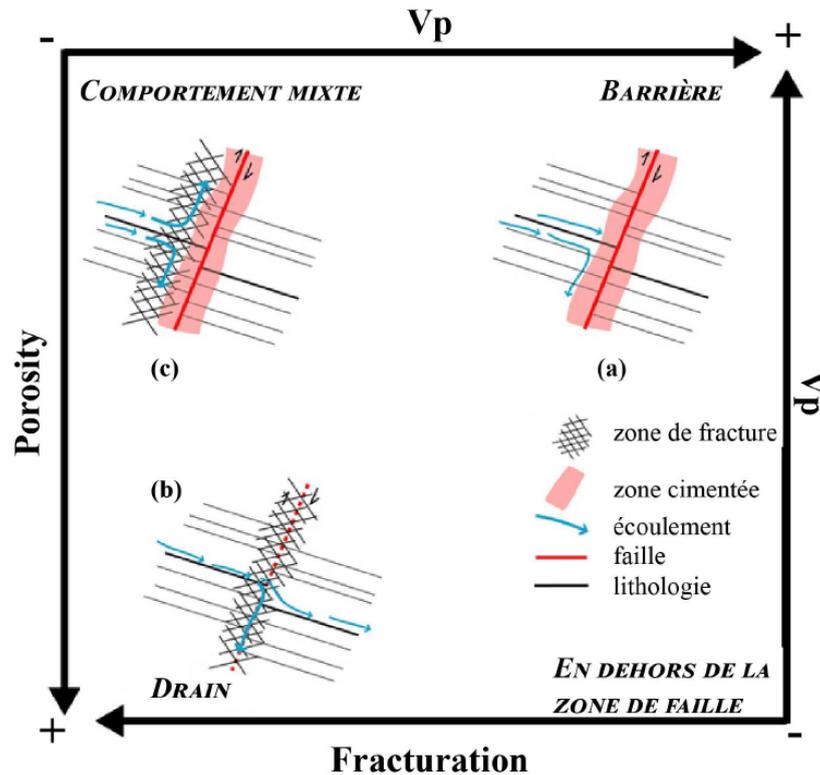


Figure 1.2 : Schéma conceptuel des trois comportements hydrodynamiques possibles au droit d'une faille (Dal Soglio, 2020 d'après Caine et al., 1996 et Matonti et al., 2012).

La recharge impacte l'organisation du réseau de drainage d'un point de vue quantitatif et qualitatif. En effet, plus la recharge est importante, plus le potentiel de karstification augmente. D'un point de vue qualitatif, la zone de recharge est susceptible d'avoir une influence sur la karstification du fait de la présence de particularités géologiques (e.g. failles, fractures). Le niveau de base contrôle le gradient hydraulique au sein de l'aquifère et toute variation est susceptible d'engendrer une adaptation du drainage (Mocochain et al., 2011; Palmer, 1991; Figure 1.3).

Enfin, les surfaces d'inception sont des surfaces de karstification préférentielles et peuvent correspondre à (Lowe, 2000):

- Un horizon dont la porosité est plus importante que dans la roche environnante,

- Un horizon enrichi en un minéral très soluble (ex. gypse), ayant pour conséquence une augmentation de la porosité secondaire,
- Un niveau susceptible de rendre l'eau plus agressive par une concentration plus élevée en sulfures (par exemple la pyrite),
- Un niveau imperméable faisant barrière à l'écoulement.

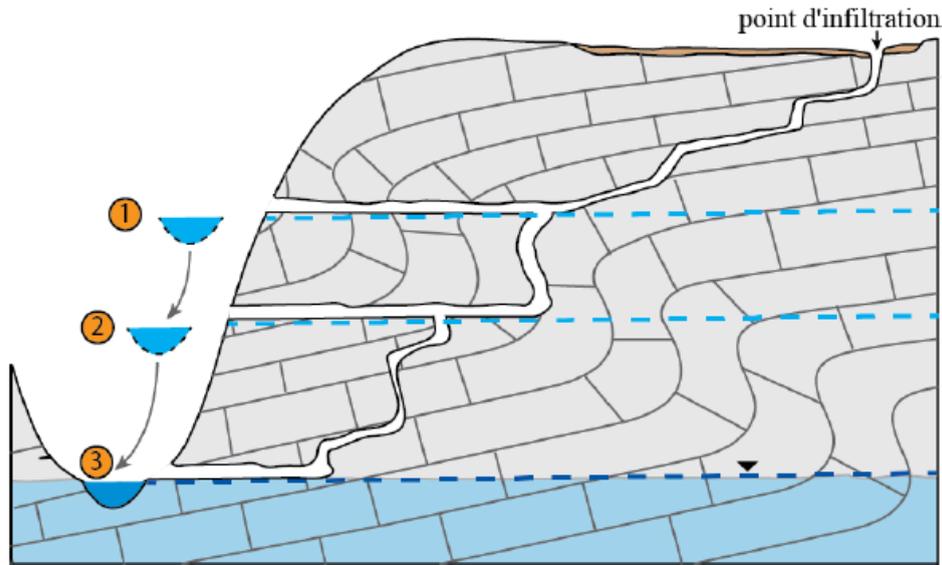


Figure 1.3 : Modèle schématique illustrant l'adaptation du drainage en fonction de l'abaissement du niveau de base (Dal Soglio, 2020).

I.1.4 Développement du sol en milieu karstique

Par définition, le sol est un milieu poreux contenant de l'eau et de l'air à l'interface entre la lithosphère, la biosphère, l'hydrosphère et l'atmosphère (Duchaufour et al., 2020). Il constitue ainsi un écosystème à part entière. Le sol résulte de l'altération des roches et minéraux (fraction minérale), et de l'incorporation de matières organiques issues de la faune et de la flore (fraction organique).

Dans la plupart des sols, la fraction minérale est prédominante. Elle est constituée de minéraux primaires issus de la roche initiale, et de minéraux secondaires (argiles, oxydes, hydroxydes) issus de la dégradation de ces derniers. Les processus et résultats de l'altération de la roche primaire diffèrent en fonction de la dureté et de la composition de la roche (Duchaufour et al., 2020).

La matière organique constituant la fraction organique du sol occupe une place fondamentale dans les cycles biogéochimiques. Elle est composée principalement des éléments C, H, O, N, S, P, le carbone étant majoritaire (plus de 55 %; Duchaufour et al., 2020). Ces éléments sont présents dans la matière organique fraîche, peu transformée, et dans les matières organiques

issues de leur dégradation par les microorganismes. Les processus de dégradation de la matière organique fraîche font l'objet d'une étude plus approfondie dans le chapitre 3.

Le sol des milieux karstiques est généralement peu épais (une dizaine de centimètres) du fait d'une végétation peu développée apportant relativement peu de matière organique fraîche. Localement, son épaisseur peut être plus importante en remplissant par exemple des failles et fractures. Même avec une faible épaisseur, le sol peut avoir une influence forte sur les eaux souterraines de par (liste non exhaustive) :

- sa forte pression partielle de CO₂ lié à la respiration racinaire et la décomposition de la matière organique du sol qui va impacter le pH de l'eau d'infiltration et favoriser la dissolution des roches sous-jacentes;
- sa capacité à retenir l'eau (utilisation par la végétation) affectant la quantité d'eau constituant la recharge;
- l'altération des roches en surface pouvant conduire à une augmentation de la porosité (dissolution) facilitant l'infiltration de l'eau;
- ses nombreuses transformations biogéochimiques susceptibles d'augmenter (mise en solution) ou diminuer la mobilité des éléments (e.g. adsorption sur des minéraux néoformés : argiles, oxydes, voir chapitre 4 partie A.I).

I.1.5 Résumé de la partie I.1

Les sédiments carbonatés déposés en milieu marin présentent une hétérogénéité pétrophysique (porosité, perméabilité) ainsi que géochimique (composition minéralogique) initiée par les différents environnements de dépôt (voir partie I.1.1). Chaque type de sédiment carbonaté est ensuite susceptible d'être affecté par la diagenèse selon des processus variables et non uniformes, liés notamment à la profondeur d'enfouissement et la nature de la roche (voir partie I.1.2). Les processus diagénétiques peuvent modifier les propriétés pétrophysiques des sédiments carbonatés et des roches résultantes d'une diagenèse primaire, affectant par exemple leur porosité et leur perméabilité. Enfin, lorsque ces roches sont remises en contact plus ou moins direct avec l'atmosphère et les précipitations, le processus de karstification les affecte, conduisant à l'apparition d'une porosité karstique typique des aquifères carbonatés. Le potentiel de karstification varie selon plusieurs paramètres, certains liés à la nature de la roche (porosité, perméabilité, succession de faciès); d'autres aux contraintes subies ayant généré par exemple des failles ou des fractures; ou encore au gradient hydraulique (voir partie I.1.3). En surface, l'altération mécanique et chimique de la

roche par l'eau de pluie conduit à la fragmentation de la roche. Ces fragments se mélangent à la matière organique issue de la faune et de la flore et constituent le sol (voir partie I.1.4). Ce compartiment est susceptible d'interagir avec l'eau en modifiant sa chimie ou sa vitesse d'infiltration.

L'hétérogénéité des systèmes karstiques trouve ainsi son origine dans :

- la variabilité des roches liée aux divers environnements de dépôt et aux modifications post-dépôt (diagenèse, fracturation, ...);
- l'hétérogénéité du processus de karstification;
- l'influence du sol.

I.2 Les écoulements dans les karsts

I.2.1 Hétérogénéité structurale à l'échelle régionale et implication sur les écoulements

La structure des systèmes karstiques est très hétérogène à différentes échelles (Marsaud, 1996). Ces hétérogénéités se traduisent verticalement par trois domaines aux propriétés significativement différentes : l'épikarst, la zone non saturée et la zone saturée (Mangin, 1975; Figure 1.4).

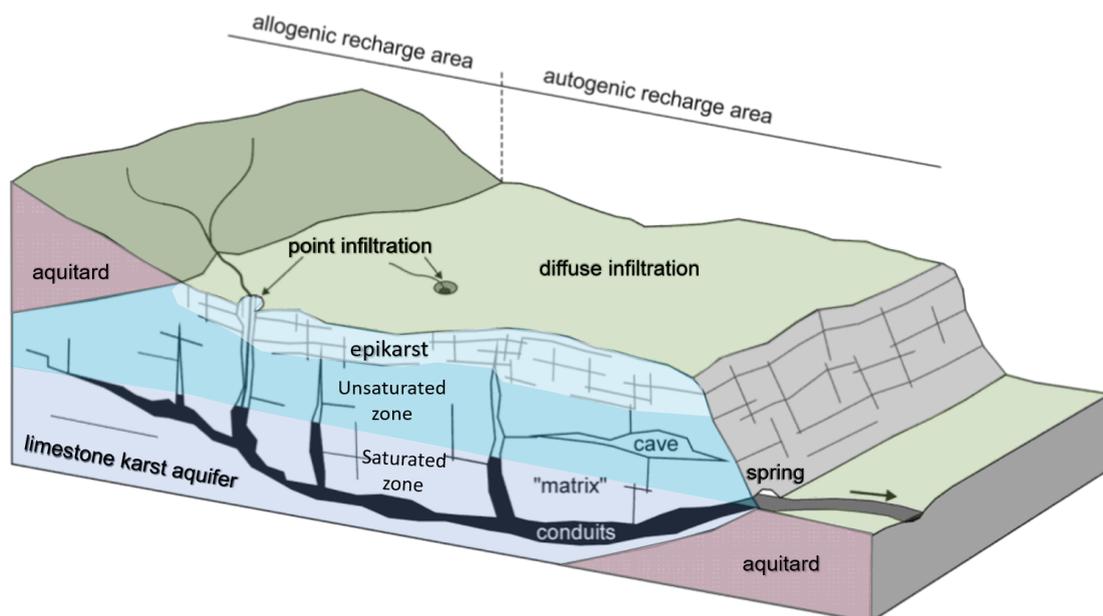


Figure 1.4 : Représentation schématique d'un système karstique (Goldscheider and Drew, 2007).

Le compartiment supérieur situé à l'interface avec le sol est appelé **épikarst**. Cette zone est généralement très karstifiée en raison de la forte pression partielle de CO_2 du sol, facilitant la

dissolution des roches sous-jacentes. De ce fait, l'épikarst est très perméable. Le contraste de perméabilité avec la partie sous-jacente de l'épikarst peut lui conférer un réel rôle aquifère de manière temporaire ou pérenne (Ford and Williams, 2007). Selon sa connectivité avec la zone d'infiltration, il peut ainsi tamponner l'infiltration des premières pluies après une saison sèche, ou bien la faciliter.

En dessous de l'épikarst, la **zone non saturée** (ZNS) présente une karstification moins développée. Cette zone est le siège de la percolation des eaux en direction de la nappe. La circulation de l'eau depuis la surface jusqu'à la zone noyée est très hétérogène et peut se faire à travers : le réseau poreux (ou matrice), les fractures et fissures, ou les conduits karstiques (Figure 1.5).

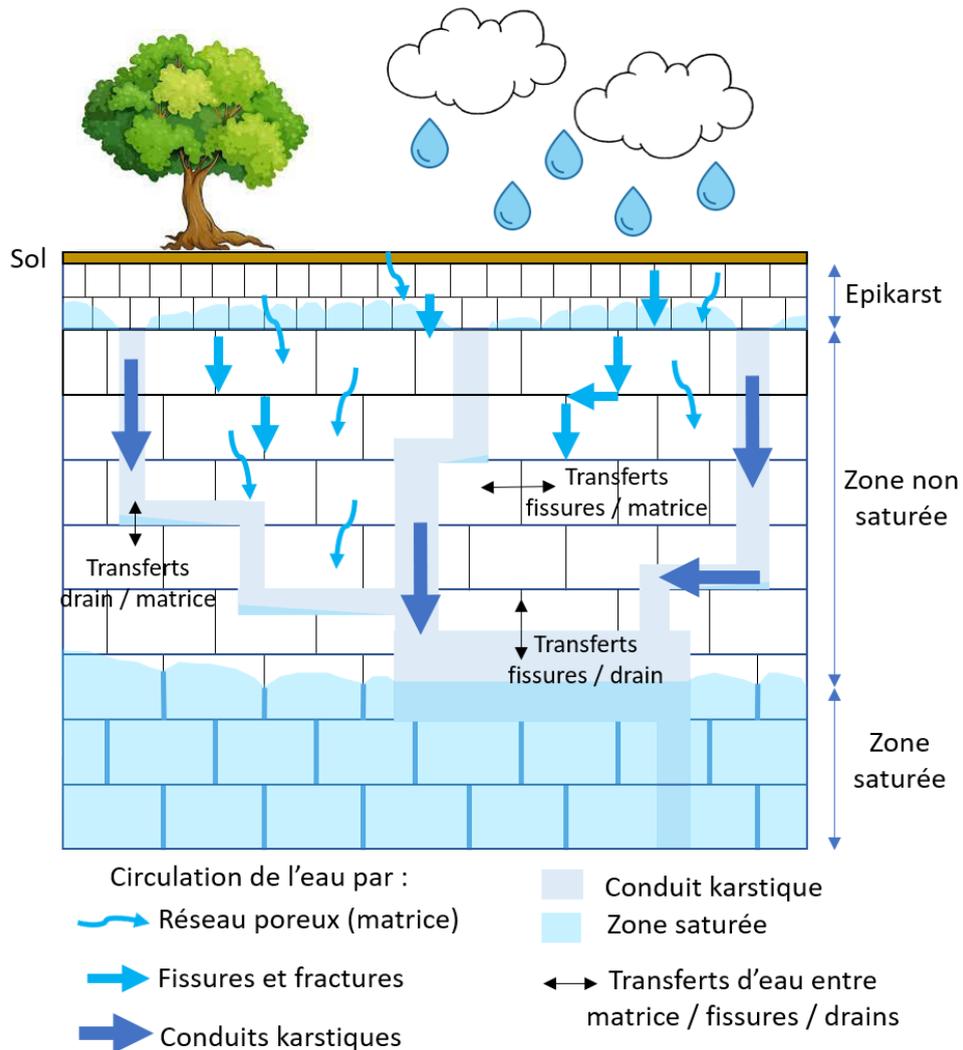


Figure 1.5 : Schéma des circulations d'eau possibles au sein de la zone non saturée en milieu karstique.

La fonction de la matrice est plutôt capacitive, alors que les drains, fissures et fractures ont plutôt un rôle transmissif. Bien que des échanges continus entre matrice, fissures/fractures et

drains existent, de façon générale la circulation d'eau au travers de la matrice résulte en des écoulements caractérisés de lents, et à travers les drains karstiques par des écoulements plutôt rapides. L'épaisseur de la zone non saturée peut être très importante et ainsi jouer un rôle capital dans la dynamique et le soutien à l'étiage de certains karsts (Lastennet, 1994; Puig, 1987).

La partie la plus profonde d'un système karstique est la **zone saturée (ZS)**. Elle assure une importante fonction de stockage en contenant la majorité des réserves d'eau du système dans la matrice carbonatée. La ZS assure également une fonction de transfert jusqu'à l'exutoire par le biais de conduits karstiques bien connectés entre eux.

I.2.2 Impact des hétérogénéités d'échelle locale des roches sur la recharge en milieu karstique

Chacun des trois compartiments des karsts (épikarst, zone non saturée et zone saturée) comportent des hétérogénéités. Ces dernières peuvent être causées par :

- La variabilité des environnements de dépôts (partie I.1.1),
- La variabilité des propriétés pétrophysiques des roches (partie I.1.2),
- La présence de fractures, failles et conduits karstiques (voir partie I.1.3).

Cette variabilité intra-compartiment rend inévitable la présence de sous réservoirs au sein du système karstique. C'est le cas de la zone non saturée où il est fréquent d'observer des zones saturées "perchées" à l'échelle locale, résultant de l'accumulation d'eau au-dessus d'un horizon à plus faible perméabilité, favorisant les transferts latéraux (Figure 1.6). L'hétérogénéité de la karstification participe à l'isolement de ces nappes perchées, et/ou à leur vidange. Chacun des sous-réservoirs est susceptible de fonctionner comme un système karstique à part entière, avec une zone de recharge et un ou des exutoire(s) en fonction de la topographie. Ainsi, les sous-réservoirs sont susceptibles d'avoir une signature hydrochimique différente, permettant leur distinction. De plus, l'hétérogénéité des formations et notamment des porosités et perméabilités implique une hétérogénéité des chemins empruntés par l'eau et de ce fait de leur signature hydrochimique. Par exemple, la Figure 1.6 propose 3 chemins d'infiltration de l'eau en zone non saturée. L'écoulement 1 est plutôt rapide car il n'emprunte que des conduits karstiques. L'écoulement 2 s'infiltré tout d'abord au sein de la matrice et/ou d'un réseau de fissures et fractures de petites tailles au sein du calcaire A, avant de rencontrer le niveau peu perméable et de s'écouler latéralement. Enfin, l'écoulement 2 rejoint un conduit karstique développé dans le calcaire B jusqu'à la zone saturée. Le long trajet au travers de la

matrice carbonatée du calcaire A implique une plus longue durée d'interaction eau-roche avec ce dernier. La signature hydrochimique de l'écoulement 2 est donc susceptible de se rapprocher de celle du calcaire A. L'écoulement 3 s'infiltré jusqu'à la zone saturée de façon lente à travers la matrice des calcaires A et B, suggérant que sa signature hydrogéochimique correspond à un mélange des signatures géochimiques des calcaires A et B.

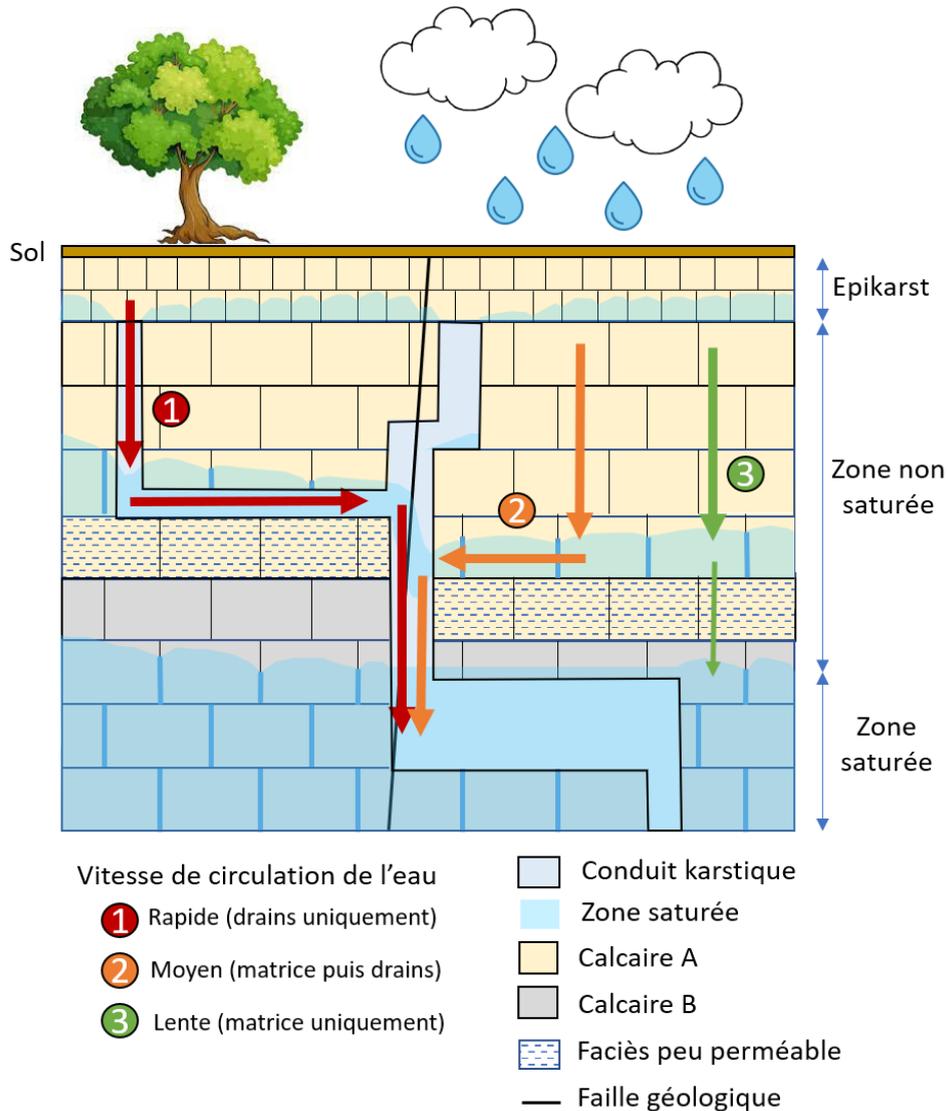


Figure 1.6 : Schéma de l'influence des hétérogénéités des calcaires sur les écoulements de zone non saturée.

I.2.3 Résumé de la partie I.2 : influence des hétérogénéités au sein des systèmes karstiques sur les écoulements et leur marquage hydrogéochimique

La complexité des systèmes karstiques réside dans leur grande hétérogénéité, évoquée en partie I.1. Cette hétérogénéité influence les chemins empruntés par l'eau et les temps de

transit associés aux différents chemins d'écoulement. Ce temps de transit est primordial en hydrogéochimie car il correspond également au temps d'interaction eau-roche qui a une conséquence sur le marquage hydrochimique des eaux.

Dès l'entrée dans le compartiment de la zone non saturée, on peut cependant retrouver des eaux présentant divers temps de transit dans les compartiments antérieurement traversés. En effet, l'eau s'infiltrant en zone non saturée peut provenir i) des précipitations sans temps de résidence significatif dans le sol ni l'épikarst, ii) avoir été stockée un temps significatif dans un réservoir épikarstique, iii) être issues d'une recharge allochtone, iv) avoir séjourné dans un autre aquifère (Figure 1.7). Ainsi, à l'arrivée en zone non saturée les eaux d'infiltration peuvent avoir des signatures hydrochimiques différentes.

Au sein de la zone non saturée, les écoulements peuvent emprunter des chemins d'écoulement rapides tels que les fissures ouvertes ou drains karstiques ; ou bien s'infiltrer plus lentement à travers la matrice. Une infinité de chemins empruntés par l'eau est possible en raison de l'éventualité d'un transfert d'eau entre drains karstiques, fractures, fissures et matrice carbonatée. Ces deux types d'infiltration, rapide et retardée, impacteront l'hydrogéochimie puisqu'ils sont à l'origine d'une différence de temps de transit, et donc de temps d'interaction eau-roche. De plus, la géochimie des matrices carbonatées est susceptible d'impacter de manière plus significative les écoulements car ces derniers s'y font plus lentement, augmentant également la surface spécifique d'échange entre l'eau et la roche. La variabilité des roches traversées (e.g. type de roche, environnement de dépôt) est également susceptible d'influer sur la chimie de l'eau par dissolution en fonction de divers paramètres dont la durée de l'interaction eau-roche.

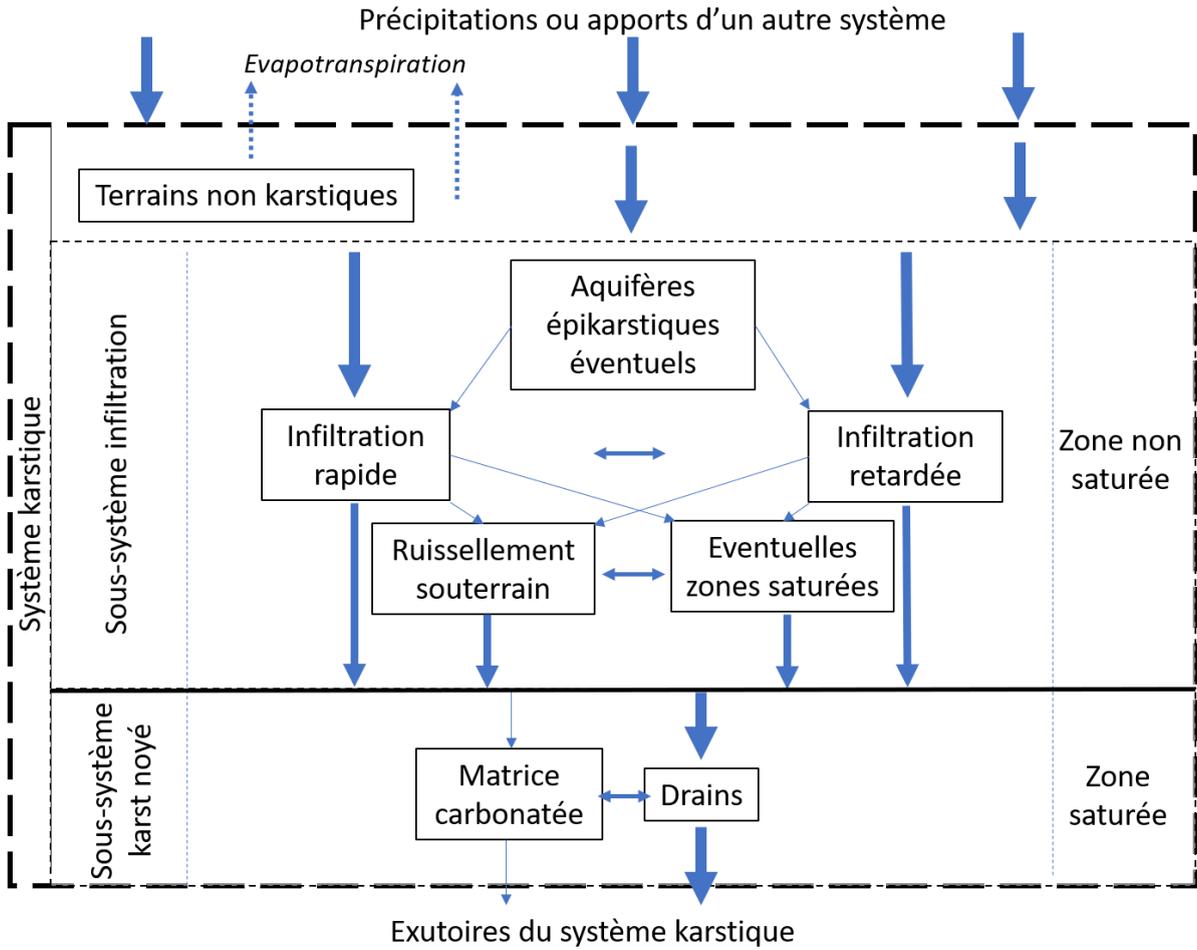


Figure 1.7 : Schéma de fonctionnement d'un système karstique (modifié de Mangin, 1975).

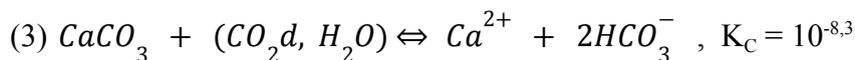
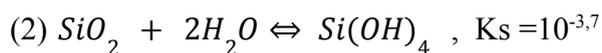
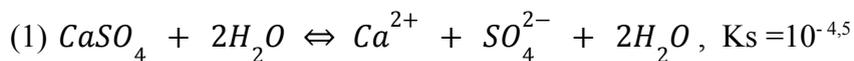
II. Outils géochimiques de caractérisation des écoulements en milieux karstiques

Cette section présente de façon non exhaustive les traceurs naturels utilisés pour caractériser les écoulements de zone non saturée et saturée en milieu karstique.

II.1. Caractérisation de l'origine des écoulements en lien avec les lithologies traversées par l'eau

II.1.1 Eléments majeurs

Les éléments majeurs sont les ions en solution dominants pour la majorité des eaux naturelles. Ils se distinguent généralement par une concentration de l'ordre de quelques dizaines à centaines de mg.L^{-1} . Il s'agit principalement des ions calcium, magnésium, sodium, potassium, bicarbonates, chlorures, nitrates et sulfates (Tableau 1.1). Ceux-ci résultent majoritairement de la dissolution des principaux minéraux constituant les aquifères tels que le gypse (CaSO_4), le quartz (SiO_2) ou encore la calcite (CaCO_3) respectivement selon les équations de dissolution (1), (2), (3) et les constantes de dissolutions suivantes (à 25°C , 1 bar; Bakalowicz, 1982; Olive, 1976).



Les éléments majeurs des eaux souterraines karstiques peuvent être d'origine naturelle (e.g. roche, sol, pluie) ou anthropique (e.g. agriculture, eaux usées, salage routier). Une étude de Blum et al. (2003) basée sur 201 observations de travaux précédents a permis de caractériser les concentrations en éléments majeurs typiques des eaux d'aquifères carbonatés (Tableau 1.1). De fortes concentrations en calcium et bicarbonates sont systématiquement observées et associées à la dissolution de la roche.

En raison des différentes sources possibles des éléments majeurs, leurs concentrations peuvent renseigner sur la lithologie, l'origine des écoulements, le temps de transit, les flux d'infiltration ou encore les contaminations anthropiques.

Par exemple, dans le cas d'un aquifère karstique dont le faciès géologique peut être considéré comme homogène, le magnésium peut être utilisé comme traceur des temps de transit (Lastennet and Mudry, 1997). C'est également le cas de la silice dont la concentration moyenne peut dépasser les 6 mg.L^{-1} (Barbel-Périneau, 2013; Blum et al., 2003; Garry, 2007). De la même manière, les éléments majeurs dont l'origine peut être anthropique peuvent permettre de caractériser les flux d'infiltration récente. La concentration des chlorures et des nitrates est fortement dépendante des précipitations (origine majeure de Cl, et faisant varier la concentration en nitrates par dilution) et permet ainsi d'identifier des réseaux préférentiels d'écoulements (Toran and White, 2005).

	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
Concentration moyenne (mg.L ⁻¹)	105,4	8,5	2,8	1,0	305,0	11,7	17,8

Tableau 1.1 : Ordres de grandeur des concentrations des éléments majeurs des eaux drainant des roches carbonatées basés sur 201 observations issus de différentes études (Blum et al., 2003).

II.1.2 Eléments en trace

Les éléments en trace ne se distinguent des éléments majeurs que par leur concentrations plus faibles exprimées en $\mu\text{g.L}^{-1}$ (mg.L^{-1} pour les éléments majeurs). Ainsi, tous comme les éléments majeurs, leur origine est principalement lithologique en l'absence de contamination anthropique (détails de l'origine des éléments en trace au chapitre 4, partie A.I.1.1). L'ensemble du tableau périodique des éléments est susceptible d'être considéré comme un élément en trace à partir du moment où sa concentration dans les eaux souterraines est à l'état de trace. Parmi ces éléments, on retrouve habituellement l'ensemble des métaux et des terres rares dont certains sont toxiques, selon leur concentration (e.g. arsenic, cuivre, nickel, argent).

Dans les eaux souterraines, les concentrations en éléments en traces sont contrôlées par un ensemble de processus (précipitation et dissolution, adsorption et désorption) dépendant des conditions d'oxydo-réduction (Eh) et pH du milieu (détails chapitre 4, partie A.I.1.2).

Les études sur les éléments en trace en milieu karstique sont principalement réalisées pour mieux comprendre les origines (anthropiques et naturelles) des éléments en trace dans le but de mieux caractériser, limiter, ou encore anticiper les contaminations (e.g. Pu et al., 2021;

Xia et al., 2021; Xu et al., 2020; Zhou et al., 2023). Parmi les origines anthropiques des éléments en trace les plus couramment observées, on retrouve l'industrie et l'agriculture (Tao et al., 2020) et parmi les sources naturelles l'activité volcanique, le géothermalisme (Busico et al., 2018) ou encore la lithologie. En effet, par exemple, une étude menée par Celle-Jeanton et al. (2009) a mis en évidence un enrichissement en certains éléments en trace lié à la présence d'argiles et de halite au sein de différents compartiments d'un aquifère gréseux de Lorraine (France). Au sein d'un aquifère uniquement constitué de carbonates au centre de l'Italie, la distribution des éléments en trace présente au moins trois pôles spatiaux (Morgantini et al., 2009) suggère l'influence d'une variabilité hydrogéochimique des roches carbonatées marquant la chimie des eaux. Ces différentes signatures peuvent être utilisées pour caractériser des mélanges d'eau s'écoulant au niveau d'un même exutoire, comme l'ont proposé Gill et al. (2018) sur un système karstique situé au sud de Galway à l'ouest de l'Irlande. Grâce à l'identification de la signature en élément en trace (terres rares et Yttrium) de deux origines d'eau (allochtone et autochtone), la contribution à l'écoulement dans les conduits karstiques de ces deux compartiments a pu être calculée.

De façon plus anecdotique, les éléments en traces sont susceptibles d'informer sur les variations des conditions redox au sein des aquifères. Par exemple, les éléments en trace ont permis de mettre en évidence une barrière redox dans un aquifère gréseux du Trias du Royaume-Uni (Smedley and Edmunds, 2002).

La variabilité des concentrations en éléments en trace au sein des carbonates fera l'objet d'une étude plus approfondie au chapitre 4 afin d'évaluer leur potentiel comme traceurs naturels des lithologies carbonatées traversées par l'eau.

II.2. Identification des processus et dynamique de recharge

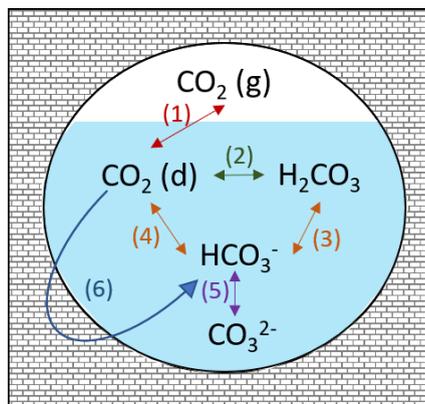
II.2.1 Gaz dissous : oxygène et dioxyde de carbone

A la surface de contact entre l'eau et l'air, des échanges se produisent. Ils dépendent de la solubilité des gaz, qui elle-même dépend de la température et de la pression. Les gaz dissous les plus fréquemment étudiés sont l'oxygène et le dioxyde de carbone. Leur étude permet de caractériser la dynamique globale de réponse du système.

La quantité d'oxygène dissous est révélatrice du lien entre atmosphère et eau. Une quantité d'oxygène dissous supérieure ou égale à 100% témoigne d'une forte aération du milieu, alors qu'une valeur inférieure peut témoigner de la dégradation de la matière organique par les

microorganismes. Leurs teneurs peuvent ainsi permettre l'identification de structures hydrogéologiques, connectées ou non à l'atmosphère (Faillat, 1984). Le croisement de ces informations avec une cartographie hydrogéologique peut conduire à l'identification des zones de recharges (aquifère sous couverture = pas de connexion à l'atmosphère).

La dissolution du CO₂ est régie par la loi de Henry selon l'équation (1) (Figure 1.8). Une fois en solution, le CO₂ dissous s'équilibre avec d'autres espèces chimiques carbonatées : l'acide carbonique H₂CO₃ (équation (2)), les bicarbonates HCO₃⁻ (équations (3) et (4)) et les ions carbonates CO₃²⁻ (équation (5); Figure 1.8). Le CO₂ dissous intervient également dans le processus de dissolution de la calcite induisant la formation d'ions bicarbonates selon l'équation (6) (Figure 1.8). Le CO₂ dissous provient principalement du sol avec une pression partielle cent fois plus élevée (3%) que celle de l'atmosphère (0,03%) du fait de l'activité des végétaux et des microorganismes. Il peut également avoir une origine profonde (CO₂ mantellique). Ainsi, en fonction de la pression partielle de CO₂ (pCO₂) retrouvée dans les eaux, l'origine de l'air dont il provient (remontées profondes, pores du sol, atmosphère) peut être caractérisée et ainsi indiquer avec quel compartiment l'eau est à l'équilibre.



 Roche carbonaté

 Air de l'atmosphère, du manteau, des pores du sol et/ou des roches

 Eau de l'aquifère ou des pores du sol et/ou des roches

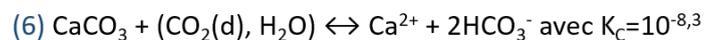
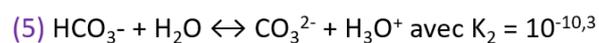
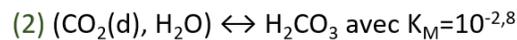
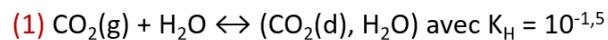


Figure 1.8 : Équilibres calco-carboniques et constantes d'équilibres à 25°C d'après (Bakalowicz, 1982).

II.2.3 Isotopes stables de l'eau

Les isotopes stables sont des atomes d'un même élément chimique (même nombre de protons et d'électrons) ayant un nombre de neutrons différents qui ne subissent pas de désintégration radioactive. Les isotopes stables de l'eau (¹⁸O, ¹⁶O, ¹H, ²H) sont particulièrement utiles dans les sciences de l'eau puisqu'ils renseignent sur les processus de

condensation et d'évaporation de l'eau (Cook, 2020). Ils s'utilisent sous forme de ratios, normalisés par rapport à un standard (SMOW - Standard Mean Ocean Water) calculé selon l'équation suivante pour $\delta^{18}\text{O}$:

$$\delta^{18}\text{O} = \frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{ech}} - \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{SMOW}}}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{SMOW}}} \times 1000$$

En raison de la différence de masse entre chaque couple d'isotope liée au nombre de neutrons, un fractionnement isotopique se produit à chaque changement de phase (solide, liquide, gazeux). Par exemple, les précipitations (solides et liquides) sont généralement moins appauvries en $\delta^{18}\text{O}$ que la vapeur d'eau constituant les nuages dont elles sont issues en raison de la masse plus importante de ^{18}O par rapport à ^{16}O . En raison de ce fractionnement, un appauvrissement en $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^2\text{H}$ est révélateur de plus faibles températures (influence de la latitude) et/ou d'une altitude plus élevée (influence de l'altitude), et/ou d'un fort éloignement aux côtes (effet de continentalité; Rozanski et al., 1982). Ainsi, les isotopes stables de l'eau sont des marqueurs des précipitations et permettent de préciser les processus à l'origine de la recharge des eaux souterraines (localisation/altitude moyenne du bassin d'alimentation et conditions climatiques/météorologiques). Le marquage des pluies peut par exemple varier selon si elles sont en provenance de l'Atlantique et/ou de la Méditerranée et de ce fait apporter des informations sur la recharge des aquifères karstiques (Ayadi et al., 2018). La variabilité temporelle du marquage des pluies peut également être utilisée pour préciser la période à laquelle les eaux s'écoulant à l'exutoire d'un système karstique se sont infiltrées. Cette variabilité temporelle a pu notamment être utilisée par Rusjan et al. (2019), pour améliorer la compréhension d'un système karstique complexe de Slovénie grâce à l'identification de temps de transit.

II.3. Traceurs des contaminations anthropiques

L'ensemble des substances dissoutes relarguées par l'activité anthropique (e.g. industrie, agriculture, eaux usées, trafic routier) est susceptible d'être utilisé comme marqueurs des contaminations anthropiques. On retrouve ainsi tout un ensemble de substances capables d'évaluer la qualité des eaux karstiques (Kalhor et al., 2019).

Parmi ces substances on retrouve certains éléments majeurs tels que les sulfates ou les nitrates, généralement associés à une activité agricole (voir Tableau 1.1, partie II.1.1) ainsi que des éléments en trace (voir partie II.1.2). Pour distinguer l'origine naturelle ou

anthropique de ces éléments dissous, les isotopes peuvent être utilisés (e.g. isotopes de l'azote ; Yang et al., 2020).

L'activité anthropique est également susceptible d'émettre dans l'environnement des composés organiques, principalement par l'agriculture (e.g. pesticides, amendement, épandage) et par les eaux usées (e.g. bactéries, matière organique, résidus de médicaments). Les pesticides et les médicaments sont regroupés sous l'appellation "Emerging organic contaminants" (EOCs). La review de Lukač Reberski et al. (2022) recense près de 50 études utilisant les EOCs pour étudier l'hydrogéochimie des systèmes karstiques. Les contaminations par d'autres types de substances organiques peuvent être identifiées par le carbone organique total (COT), la fluorescence de la matière organique ou encore par la présence de pathogènes (bactéries et virus ; Frank et al., 2018; Heinz et al., 2009; Pronk et al., 2009; Quiers et al., 2014).

II.4. Estimation des temps de transit

II.4.1 Approches quantitatives

La datation des eaux souterraines peut se faire grâce à de nombreux outils, souvent basés sur des éléments radioactifs, dont l'origine, la nature et les champs d'application sont variables (voir Figure 1.9).

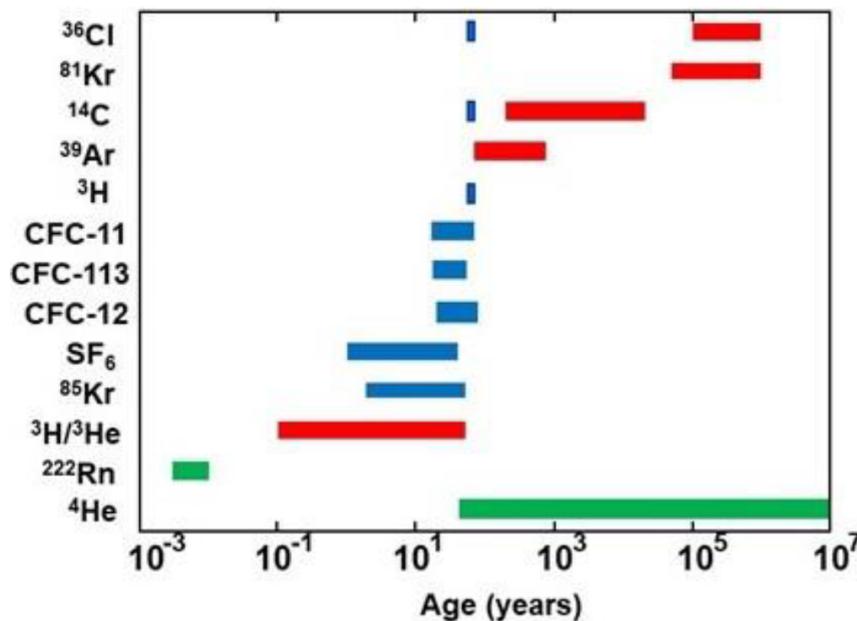


Figure 1.9 : Gammes d'utilisation des traceurs naturels des temps de transit informant sur l'âge apparent des eaux souterraines. En rouge : isotopes radioactifs; bleu : marqueurs événementiels; vert : éléments radiogéniques (Cook, 2020).

La mesure de l'activité d'un isotope radioactif permet, grâce à sa courbe de décroissance radioactive et à sa demi-vie, de remonter au temps où l'eau s'est infiltrée. En effet, à partir du moment où l'eau s'est infiltrée, elle n'est plus en contact avec la

source de l'élément, engendrant la possibilité de mesurer une décroissance radioactive. La durée de la demi-vie d'un isotope utilisé comme traceur naturel définit la classe d'âge pouvant être obtenue. Par exemple, pour une datation récente, il est préférable d'utiliser des isotopes aux faibles temps de demi-vie tels que ^3H et ^{85}Kr (voir Figure 1.9, Cartwright et al., 2017).

Les isotopes radiogéniques sont des atomes qui sont issus de la décroissance radioactive d'autres éléments. Ils peuvent être stables ou eux-mêmes radioactifs, comme le ^{222}Rn . Cet isotope a une faible demi-vie (3,8 jours) mais il résulte de la décroissance radioactive du ^{226}Ra , lui-même issu de la décroissance radioactive des éléments U et Th. En raison de la décroissance radioactive de ces éléments, la mesure de l'activité du ^{222}Rn peut être utilisée pour dater des eaux d'un âge supérieur à environ 20 jours (Cook, 2020), notamment dans les eaux karstiques où les plus fortes activités du ^{222}Rn sont associées à des eaux récemment infiltrées (e.g. Molina-Porras et al., 2017; Savoy et al., 2011).

Les marqueurs événementiels couramment utilisés ont principalement une origine anthropique. L'augmentation des concentrations en ^3H , ^{36}Cl et ^{14}C dans l'atmosphère résulte principalement des essais nucléaires réalisés dans les années 50 et 60 ; ^{85}Kr , CFCs et SF_6 résultent des activités industrielles développées depuis le milieu du 20^{ème} siècle. La variabilité temporelle des émissions de ces traceurs permet une comparaison directe avec les concentrations retrouvées dans les eaux souterraines afin d'en déduire un âge apparent (Cook, 2020). Cette variabilité temporelle est fréquemment utilisée pour caractériser l'âge des eaux karstiques comme par exemple dans les travaux de Pérotin et al. (2021).

II.4.2 Approches qualitatives

L'augmentation des concentrations en certains éléments majeurs et traces peut être liée à une augmentation des temps de séjour. Parmi les éléments majeurs, la silice et le magnésium peuvent être assimilés à des traceurs qualitatifs des temps de transit en raison de leur lente mise en solution (Lastennet and Mudry, 1997). C'est également le cas de certains éléments en trace comme le Lithium (Morgantini et al., 2009), le Strontium (Schürch et al., 2004), ou encore le Molybdène (Smedley and Edmunds, 2002). De plus, une étude menée par Edmunds and Smedley (2000) a décrit la variation des concentrations en éléments en trace comme indicateur des temps de résidence, notamment Rb, Cs, Sr, Li, Mn, Mo en les comparant avec les âges ^{14}C .

Dans les aquifères non ou peu contaminés par les activités anthropiques, le carbone organique total (COT) est principalement lié à la présence de matière organique naturelle. Il est utilisé comme traceur d'infiltration rapide, au même titre que la turbidité ou les traceurs bactériologiques, du fait de sa dégradation rapide par les microorganismes (Batiot et al., 2003; Emblanch et al., 1998; Goldscheider and Drew, 2007; Mudarra et al., 2014). Il a été estimé qu'au bout de 3 mois de temps de transit au sein de l'aquifère, environ 70% du COT était minéralisé (Batiot, 2002).

L'indice d'humification (HIX) est un indice de fluorescence basé sur le rapport de deux aires sous le spectre d'émission issu d'une excitation à 254 nm (H et L, voir Figure 1.10). Cet indice permet de comparer les proportions de molécules lourdes et légères, qui peuvent ainsi être reliées au degré de dégradation de la matière organique. Grâce à l'hypothèse selon laquelle les molécules légères se dégradent plus rapidement que les molécules lourdes, l'indice d'humification HIX a été relié au temps de transit d'eaux karstiques par Blondel et al. (2012; Figure 1.11). Cette méthode est applicable pour des échelles de temps très courtes, de quelques mois, qui sont généralement difficiles à estimer avec les traceurs classiquement utilisés en hydrogéologie et pourtant particulièrement intéressants en milieu karstique du fait de la rapidité des transferts. L'utilisation des indices de fluorescence et de la relation établie par Blondel et al. (2012) fait l'objet d'une étude plus approfondie au chapitre 3.

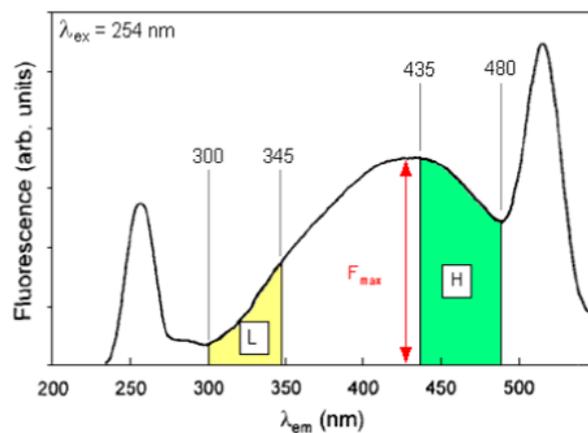


Figure 1.10 : Spectre d'émission à une excitation de 254 nm permettant le calcul du HIX (Zsolnay et al., 1999).

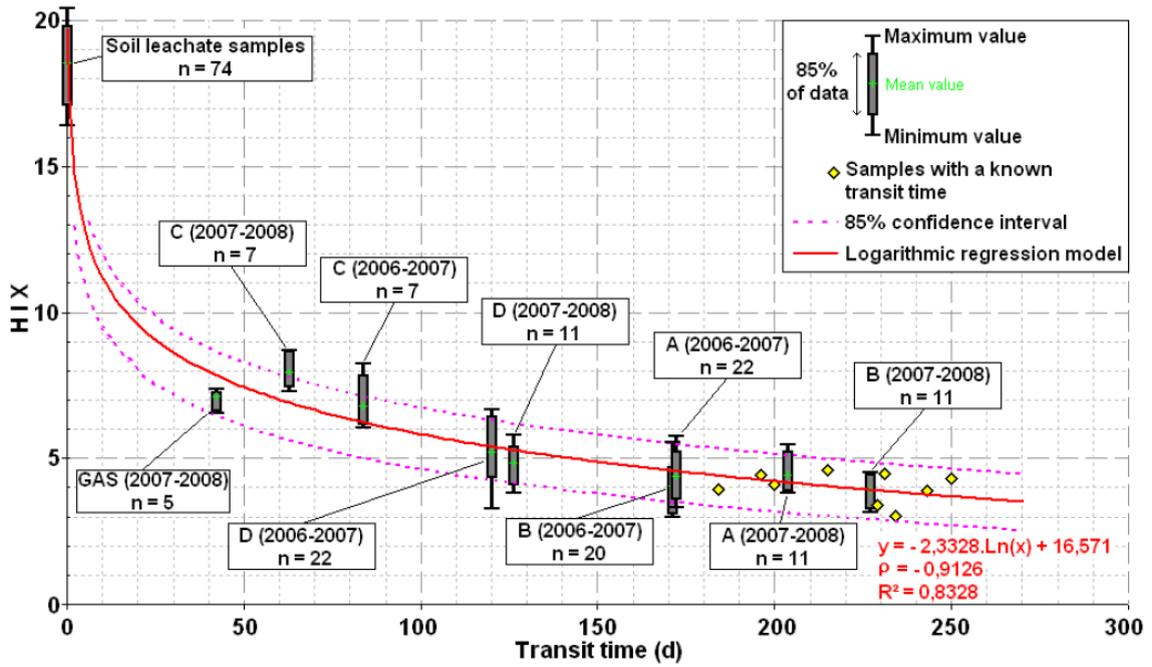


Figure 1.11 : Variation du HIX en fonction du temps de transit (Blondel et al., 2012)

III. Conclusion

Les aquifères karstiques sont des milieux particulièrement hétérogènes. Cette forte hétérogénéité apparaît dès le dépôt des sédiments carbonatés (majoritairement en contexte marin) en lien avec les environnements de dépôt. Les modifications post-dépôt des sédiments modifient ensuite chaque type de sédiments de façon hétérogène en affectant ses propriétés pétrophysiques (porosité, perméabilité) mais également sa composition géochimique (dissolution, recristallisation). Après l'exhumation, les carbonates sont soumis aux intempéries et subissent le processus de karstification. Ce processus affecte là encore de façon hétérogène les roches carbonatées issues des sédiments, en favorisant la dissolution le long de chemins où l'infiltration est la plus facile (forte porosité et perméabilité) et en fonction du gradient hydraulique. En surface, l'érosion mécanique et chimique des roches affleurantes couplée au développement d'une couverture végétale conduit à la formation d'un sol susceptible d'accroître le potentiel de karstification de l'eau qui s'infiltré en l'enrichissant en CO₂ dissous issu de la dégradation des débris organiques végétaux, animaux et de la respiration racinaire.

A différentes échelles (locales et régionales), les hétérogénéités karstiques influencent l'hydrochimie des écoulements (dissolution, durée du temps d'interaction eau-roche, ...) ainsi que la circulation de l'eau en facilitant ou non l'écoulement (drain vs matrice, faille, fracturation, porosité et perméabilité).

Face à l'hétérogénéité des systèmes karstiques, des outils spécifiques sont nécessaires afin d'appréhender la variabilité des écoulements d'un point de vue hydrodynamique et hydrogéochimique. Les traceurs naturels correspondent à un ensemble d'outils dont les variations temporelles et spatiales permettent de différencier les masses d'eau, et ainsi de caractériser les écoulements : l'origine, les processus de recharge, le temps de transit. Ces traceurs naturels s'utilisent de manière couplée afin d'obtenir des informations fiables.

Le potentiel de certains traceurs naturels nécessite encore d'être exploré, ou leur utilisation doit être optimisée; c'est notamment le cas de la fluorescence de la matière organique. Ce traceur naturel a déjà démontré son potentiel pour de nombreuses utilisations (caractérisation de contaminations anthropiques, qualification du temps de transit). Le chapitre 3 de ce manuscrit de thèse s'intéresse à l'utilisation actuelle de la fluorescence de la matière organique en tant que traceur naturel des écoulements au sein des hydrosystèmes et

notamment des aquifères karstiques, afin d'en identifier certaines limites et biais et de proposer des voies d'amélioration. Ce chapitre s'intéresse également à une des applications spécifiques de ce traceur naturel : caractériser les temps de transit courts.

La mise en place de nouveaux traceurs est une seconde piste de recherche. Sur la base des éléments évoqués en partie II.1.2 et mettant en évidence un possible transfert à l'eau des signatures en éléments en trace des roches, le chapitre 4 propose d'évaluer le potentiel des éléments en trace comme traceur naturel des lithologies carbonatées.

Références

- Audra, P., 2007. Karst et spéléogénèses épigènes, hypogènes, recherches appliquées et valorisation (Mémoire d'habilitation à diriger des recherches). Université Nice-Sophia-Antipolis.
- Ayadi, Y., Mokadem, N., Besser, H., Khelifi, F., Harabi, S., Hamad, A., Boyce, A., Laouar, R., Hamed, Y., 2018. Hydrochemistry and stable isotopes ($\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^2\text{H}$) tools applied to the study of karst aquifers in southern mediterranean basin (Teboursouk area, NW Tunisia). *J. Afr. Earth Sci.* 137, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2017.10.018>
- Bakalowicz, M., 1999. Connaissance et gestion des ressources en eaux souterraines dans les régions karstiques. Bassin Rhône-Méditerranée-Corse (No. Guide technique n°3). Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, Lyon.
- Bakalowicz, M., 1982. La géochimie isotopique de sédiments karstiques: apports, problèmes et perspectives. *Ann. Sci. Univ. Besançon Géologie* 227–239.
- Barbel-Périneau, A., 2013. Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d'Expérimentation et d'Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Bathurst, R.G.C., 1975. Carbonate sediments and their diagenesis, 2d enl. ed. ed. Elsevier, Amsterdam.
- 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.
- Batiot, C., Liñán, C., Andreo, B., Emblanch, C., Carrasco, F., Blavoux, B., 2003. Use of Total Organic Carbon (TOC) as tracer of diffuse infiltration in a dolomitic karstic system: The Nerja Cave (Andalusia, southern Spain): TOC as a tracer of diffuse infiltration. *Geophys. Res. Lett.* 30. <https://doi.org/10.1029/2003GL018546>
- Blondel, T., Emblanch, C., Batiot-Guilhe, C., Dudal, Y., Boyer, D., 2012. Punctual and continuous estimation of transit time from dissolved organic matter fluorescence properties in karst aquifers, application to groundwaters of 'Fontaine de Vaucluse' experimental basin (SE France). *Environ. Earth Sci.* 65, 2299–2309. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1562-x>
- Blum, A., Chery, L., Barbier, J., Baudry, D., Petelet-giraud, E., 2003. Le fonds géochimique naturel des eaux souterraines. État des connaissances et méthodologie. *Houille Blanche* 120–124. <https://doi.org/10.1051/lhb/2003039>
- Broecker, W.S., Takahashi, T., 1966. Calcium carbonate precipitation on the Bahama Banks. *J. Geophys. Res.* 1575–1602.
- Busico, G., Cuoco, E., Kazakis, N., Colombani, N., Mastrocicco, M., Tedesco, D., Voudouris, K., 2018. Multivariate statistical analysis to characterize/discriminate between anthropogenic and geogenic trace elements occurrence in the Campania Plain, Southern Italy. *Environ. Pollut.* 234, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.053>
- Caine, J.S., Evans, J.P., Forster, C.B., 1996. Fault zone architecture and permeability structure. *Geology* 24, 1025. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1996\)024<1025:FZAAPS>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1996)024<1025:FZAAPS>2.3.CO;2)
- Cartwright, I., Cendón, D., Currell, M., Meredith, K., 2017. A review of radioactive isotopes and other residence time tracers in understanding groundwater recharge: Possibilities, challenges, and limitations. *J. Hydrol.* 555, 797–811. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2017.10.053>
- Celico, F., Petrella, E., Celico, P., 2006. Hydrogeological behaviour of some fault zones in a carbonate aquifer of Southern Italy: an experimentally based model: Hydrogeological behaviour of fault zones. *Terra Nova* 18, 308–313. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3121.2006.00694.x>
- Celle-Jeanton, H., Huneau, F., Travi, Y., Edmunds, W.M., 2009. Twenty years of groundwater evolution in the Triassic sandstone aquifer of Lorraine: Impacts on baseline water quality. *Appl. Geochem.* 24, 1198–1213. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.03.005>
- Chamley, H., Deconinck, J.-F., 2011. Bases de sédimentologie. Dunod, Paris.
- Chen, Z., Auler, A.S., Bakalowicz, M., Drew, D., Griger, F., Hartmann, J., Jiang, G., Moosdorf, N., Richts, A., Stevanovic, Z., Veni, G., Goldscheider, N., 2017. The World Karst Aquifer

- Mapping project: concept, mapping procedure and map of Europe. *Hydrogeol. J.* 25, 771–785. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1519-3>
- Cook, P., 2020. Introduction to Isotopes and Environmental Tracers as Indicators of Groundwater Flow. *The Groundwater Project*. <https://doi.org/10.21083/978-1-7770541-8-2>
- Dal Soglio, L., 2020. Hétérogénéité géologique, spéléogénèse et hydrodynamique du karst : du concept à la modélisation numérique (PhD). Avignon Université, Avignon, France.
- Duchaufour, P., Faivre, P., Poulenard, J., Gury, M., 2020. Introduction à la science du sol - Sol, végétation, environnement, 7e édition. ed, Sciences Sup. Dunod.
- Edmunds, W.M., Smedley, P.L., 2000. Residence time indicators in groundwater: the East Midlands Triassic sandstone aquifer. *Appl. Geochem.* 15, 737–752. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00079-7](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00079-7)
- Emblanch, C., Blavoux, B., Puig, J.-M., Mudry, J., 1998. Dissolved organic carbon of infiltration within the autogenic Karst Hydrosystem. *Geophys. Res. Lett.* 25, 1459–1462. <https://doi.org/10.1029/98GL01056>
- Faillat, J.-P., 1984. Utilisation de l'oxygène dissous comme indicateur de structures hydrogéologiques: exemple d'application aux aquifères karstiques (Comptes-Rendus Séances Académie des Sciences No. 298), Série 2 Mécanique-Physique-Chimie-Sciences de l'Univers-Sciences de la Terre.
- Ford, D., Ewers, R., 1978. The development of limestone cave systems in the dimensions of length and depth. *Int. J. Speleol.* 10, 213–244. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.10.3.1>
- Ford, D.C., Williams, P.W., 2007. *Karst Hydrogeology and Geomorphology*, John Wiley&Sons. ed.
- Frank, S., Goeppert, N., Goldscheider, N., 2018. Fluorescence-based multi-parameter approach to characterize dynamics of organic carbon, faecal bacteria and particles at alpine karst springs. *Sci. Total Environ.* 615, 1446–1459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.095>
- Freeze, R.A., Cherry, J.A., 1979. *Groundwater*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- Garry, B., 2007. Etude des processus d'écoulements 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). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Gill, L.W., Babechuk, M.G., Kamber, B.S., McCormack, T., Murphy, C., 2018. Use of trace and rare earth elements to quantify autogenic and allogenic inputs within a lowland karst network. *Appl. Geochem.* 90, 101–114. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.01.001>
- Goldscheider, N., Drew, D. (Eds.), 2007. *Methods in Karst Hydrogeology*, 1st edition. ed, IAH: International Contributions to Hydrogeology. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482266023>
- Heinz, B., Birk, S., Liedl, R., Geyer, T., Straub, K.L., Andresen, J., Bester, K., Kappler, A., 2009. Water quality deterioration at a karst spring (Gallusquelle, Germany) due to combined sewer overflow: evidence of bacterial and micro-pollutant contamination. *Environ. Geol.* 57, 797–808. <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1359-0>
- Herold, T., Jordan, P., Zwahlen, F., 2000. The influence of tectonic structures on karst flow patterns in karstified limestones and aquitards in the Jura Mountains, Switzerland. *Eclogae Geol. Helvetiae* 3, 349–362.
- Jenkyns, H.C., Hsü, K.J., 1974. Pelagic Sediments: On Land and under the Sea An Introduction, in: Hsü, K.J., Jenkyns, H.C. (Eds.), *Pelagic Sediments: On Land and under the Sea*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, p. 447. <https://doi.org/10.1002/9781444304855.ch1>
- Kalhor, K., Ghasemizadeh, R., Rajic, L., Alshawabkeh, A., 2019. Assessment of groundwater quality and remediation in karst aquifers: A review. *Groundw. Sustain. Dev.* 8, 104–121. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.10.004>
- Lastennet, R., 1994. Rôle de la zone non saturée dans le fonctionnement des aquifères karstiques: approche par l'étude physico-chimique et isotopique du signal d'entrée et des exutoires du massif du Ventoux (Vaucluse) (PhD). Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, France.
- Lastennet, R., Mudry, J., 1997. Role of karstification and rainfall in the behavior of a heterogeneous karst system. *Environ. Geol.* 32, 114–123. <https://doi.org/10.1007/s002540050200>

- Lowe, D.J., 2000. Role of stratigraphic elements in speleogenesis : the speleo inception concept, in: *Speleogenesis : Evolution of Karst Aquifers*. pp. 65–75.
- Lukač Reberski, J., Terzić, J., Maurice, L.D., Lapworth, D.J., 2022. Emerging organic contaminants in karst groundwater: A global level assessment. *J. Hydrol.* 604, 127242. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.127242>
- Mangin, A., 1975. Contribution à l'étude hydrodynamique des aquifères karstiques (PhD). Université de Bourgogne, France.
- Marsaud, B., 1996. Structure et fonctionnement de la zone noyée des karsts à partir des résultats expérimentaux (Document BRGM 268). Université Paris XI, Orsay, France.
- Matonti, C., Lamarche, J., Guglielmi, Y., Marié, L., 2012. Structural and petrophysical characterization of mixed conduit/seal fault zones in carbonates: Example from the Castellans fault (SE France). *J. Struct. Geol.* 39, 103–121. <https://doi.org/10.1016/j.jsg.2012.03.003>
- Mocochain, L., Audra, P., Bigot, J.-Y., 2011. Base level rise and per ascensum model of speleogenesis (PAMS). Interpretation of deep phreatic karsts, vauclosian springs and chimney-shafts. *Bull. Société Géologique Fr.* 182, 87–93. <https://doi.org/10.2113/gssgfbull.182.2.87>
- Molina-Porras, A., Condomines, M., Seidel, J.L., 2017. Radium isotopes, radon and ²¹⁰Pb in karstic waters: Example of the Lez system (South of France). *Chem. Geol.* 466, 327–340. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2017.06.022>
- Morgantini, N., Frondini, F., Cardellini, C., 2009. Natural trace elements baselines and dissolved loads in groundwater from carbonate aquifers of central Italy. *Phys. Chem. Earth Parts ABC* 34, 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.05.004>
- Mudarra, M., Andreo, B., Barberá, J.A., Mudry, J., 2014. Hydrochemical dynamics of TOC and NO₃ – contents as natural tracers of infiltration in karst aquifers. *Environ. Earth Sci.* 71, 507–523. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2593-7>
- Office Québécois de la Langue Française, 1990. *Le Grand Dictionnaire Terminologique*.
- Olive, P., 1976. Le système CO₂/H₂O/CaCO₃ et le système sulfate sulfure. *Mémento Pratique*.
- Palmer, A.N., 1991. Origin and morphology of limestone caves. *Geol. Soc. Am. Bull.* 103, 1–21. [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(1991\)103<0001:OAMOLC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0016-7606(1991)103<0001:OAMOLC>2.3.CO;2)
- Pérotin, L., de Montety, V., Ladouche, B., Bailly-Comte, V., Labasque, T., Vergnaud, V., Muller, R., Champollion, C., Tweed, S., Seidel, J.-L., 2021. Transfer of dissolved gases through a thick karstic vadose zone – Implications for recharge characterisation and groundwater age dating in karstic aquifers. *J. Hydrol.* 601, 126576. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126576>
- Pronk, M., Goldscheider, N., Zopfi, J., 2009. Microbial communities in karst groundwater and their potential use for biomonitoring. *Hydrogeol. J.* 17, 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10040-008-0350-x>
- Pu, T., Kong, Y., Kang, S., Shi, X., Zhang, G., Wang, S., Cao, B., Wang, K., Hua, H., Chen, P., 2021. New insights into trace elements in the water cycle of a karst-dominated glacierized region, southeast Tibetan Plateau. *Sci. Total Environ.* 751, 141725. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141725>
- Puig, J.M., 1987. Le système karstique de la Fontaine de Vaucluse (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Quiers, M., Batiot-Guilhe, C., Bicalho, C.C., Perrette, Y., Seidel, J.-L., Van Exter, S., 2014. Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in a karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter. *Environ. Earth Sci.* 71, 553–561. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2731-2>
- Rozanski, K., Sonntag, C., Münnich, K.O., 1982. Factors controlling stable isotope composition of European precipitation. *Tellus* 34, 142–150. <https://doi.org/10.1111/j.2153-3490.1982.tb01801.x>
- Rusjan, S., Sapač, K., Petrič, M., Lojen, S., Bezak, N., 2019. Identifying the hydrological behavior of a complex karst system using stable isotopes. *J. Hydrol.* 577, 123956. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.123956>
- Savoy, L., Surbeck, H., Hunkeler, D., 2011. Radon and CO₂ as natural tracers to investigate the recharge dynamics of karst aquifers. *J. Hydrol.* 406, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.05.031>

- Schürch, M., Edmunds, W.M., Buckley, D., 2004. Three-dimensional flow and trace metal mobility in shallow Chalk groundwater, Dorset, United Kingdom. *J. Hydrol.* 292, 229–248. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2004.01.004>
- Smedley, P.L., Edmunds, W.M., 2002. Redox Patterns and Trace-Element Behavior in the East Midlands Triassic Sandstone Aquifer, U.K. *Ground Water* 40, 44–58. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2002.tb02490.x>
- Strasser, A., Pittet, B., Hillgärtner, H., Pasquier, J.-B., 1999. Depositional sequences in shallow carbonate-dominated sedimentary systems: concepts for a high-resolution analysis. *Sediment. Geol.* 128, 201–221. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(99\)00070-6](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(99)00070-6)
- Tao, H., Liao, X., Li, Y., Xu, C., Zhu, G., Cassidy, D.P., 2020. Quantifying influences of interacting anthropogenic-natural factors on trace element accumulation and pollution risk in karst soil. *Sci. Total Environ.* 721, 137770. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137770>
- Toran, L., White, W.B., 2005. Variation in nitrate and calcium as indicators of recharge pathways in Nolte Spring, PA. *Environ. Geol.* 48, 854–860.
- Wilson, J.L., 1975. *Carbonate Facies in Geologic History*. Springer New York, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-6383-8>
- Xia, J., Wang, J., Zhang, L., Wang, X., Yuan, W., Zhang, H., Peng, T., Feng, X., 2021. Mass balance of nine trace elements in two karst catchments in southwest China. *Sci. Total Environ.* 786, 147504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147504>
- Xu, S., Lang, Y., Zhong, J., Xiao, M., Ding, H., 2020. Coupled controls of climate, lithology and land use on dissolved trace elements in a karst river system. *J. Hydrol.* 591, 125328. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125328>
- Yang, P., Wang, Y., Wu, X., Chang, L., Ham, B., Song, L., Groves, C., 2020. Nitrate sources and biogeochemical processes in karst underground rivers impacted by different anthropogenic input characteristics. *Environ. Pollut.* 265, 114835. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114835>
- Zhou, J., Wu, Q., Gao, S., Zhang, X., Wang, Z., Wu, P., Zeng, J., 2023. Coupled controls of the infiltration of rivers, urban activities and carbonate on trace elements in a karst groundwater system from Guiyang, Southwest China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 249, 114424. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114424>
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0)

Chapitre 2 : Site d'étude et données utilisées

Sommaire

Introduction.....	52
I. Caractéristiques hydrogéologiques du système de Fontaine de Vaucluse.....	52
I.1 Grande échelle : système de Fontaine de Vaucluse.....	52
I.1.1 Caractéristiques du système de Fontaine de Vaucluse.....	52
I.1.2 Origines des hétérogénéités du système : formation et déformations de la plateforme carbonatée du plateau d'Albion.....	55
I.2 Moyenne échelle : sous-systèmes perchés.....	59
I.3 Petite échelle : points d'écoulements en zone non saturée du LSBB.....	61
II. Données disponibles et acquises.....	65
II.1 Données sur les eaux.....	65
II.1.1 Suivi des sources et points d'écoulements.....	65
II.1.2 Caractéristiques du suivi réalisé.....	67
II.2 Données sur les roches.....	69
II.2.1 Echantillons de roche sélectionnés.....	69
II.2.2 Caractéristiques des échantillons de roches prélevés.....	71
III. Déroulement de la thèse.....	71
Conclusion.....	74
Annexe 2.1: Environnements de dépôt, faciès lithologique et localisation des prélèvements des échantillons de roches.....	75
Références.....	79

Liste des figures

- Figure 2.1 : a) Cartographie de l'impluvium du système de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique (BD-CHARM) issue du BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; 54
- Figure 2.2 : Evolution paléogéographique de la plateforme carbonatée du Valanginien inférieur à l'Aptien supérieur (modifié de Léonide et al., 2012) 55
- Figure 2.3 : Modèle des dépôts de la plateforme carbonatée de Provence et associations de faciès (FA) rencontrées (Tendil, 2018 modifié de Léonide et al., 2012). 56
- Figure 2.4 : Coupe stratigraphique de la plateforme de Provence du Valanginien au Barrémien. La carte paléogéographique du dessus représente la plateforme de Provence au cours du Barrémien supérieur (modifié de Tendil et al., 2018). 56
- Figure 2.5 : Courbe de l'histoire de l'enfouissement des calcaires Urgonien entre le moment du dépôt et l'époque actuelle (Cochard et al., 2020; modifié de Lamarche et al., 2012). 57
- Figure 2.6 : Occupation du sol sur l'impluvium d'après la base de données OCSOL-2014 produite par le CRIGE PACA (Ollivier, 2020). 58
- Figure 2.7 : Carte de l'occupation des sols du système Fontaine de Vaucluse, d'après la base de données OCSOL-2014 produite par CRIGE-PACA (modifié de Ollivier et al., 2021). 59
- Figure 2.8 : a) Cartographie du système de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique (BD-CHARM) issue du BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; 60
- Figure 2.9 : a) Localisation du LSBB sur la cartographie du système de Fontaine de Vaucluse. Carte géologique du BRGM (BD-CHARM) et délimitation des bassins d'alimentation des sources basés sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; 64
- Figure 2.10 : Localisation des sources et écoulements suivis au cours de ces travaux de thèse de juin 2020 à octobre 2021. a) Bassin versant de la source de Fontaine de Vaucluse avec les sources étudiées, les pertes et la localisation du LSBB sur une carte géologique (BD-CHARM) issue du BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse. 65
- Figure 2.11 : Photographie de l'instrumentation des écoulements pérennes du LSBB (A, B, C et D), les écoulements temporaires sont instrumentés de la même manière mais ne comportent pas de fluorimètres. Prise de vue du 15/12/2020 par Rémi Muller (HydroSciences Montpellier). 66

Figure 2.12 : Débit à l'exutoire du système Fontaine de Vaucluse mesuré par le sorgomètre, données issues de hydroportail (eaufrance, station V615 5020 02, données les plus valides de l'entité. a) Débit instantané maximal mensuel du 01/01/2012 au 31/12/2022, b) Débit instantané maximal n journalier (n=1, non glissant) du 01/01/2019 au 31/12/2022. 68

Figure 2.13 : Localisation des échantillons de roches prélevés a) à l'échelle du bassin d'alimentation de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique du BRGM (BD-CHARM) et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; b) au niveau du forage BFE du site expérimental de Buissonnière, log issu de Sellaoui (2020); c) au niveau du LSBB, figure modifiée de Barbel-Périneau (2013). 70

Figure 2.14 : Proportion en % d'échantillons représentant chaque environnement de dépôt du set de données. 71

Figure 2.15 : Principales étapes de la thèse. En rose sont indiquées les périodes d'inaccessibilité aux sites expérimentaux et/ou laboratoire d'analyses en raison de contraintes techniques (creusement de la galerie MIGA au LSBB) ou sanitaires (crise COVID et confinement/restrictions de déplacements). 73

Introduction

Les traceurs naturels constituent un ensemble d'outils capables d'améliorer la caractérisation des écoulements particulièrement adaptés aux systèmes karstiques, qui sont par définition très hétérogènes (chapitre 1). Cependant, l'amélioration et le développement de nouveaux traceurs naturels est un travail perpétuel afin de toujours améliorer le potentiel de caractérisation des écoulements. Pour cela, le choix du site d'étude et la constitution d'un set de données adéquat sont des éléments capitaux.

Ce chapitre vise en premier lieu à présenter le site d'étude sélectionné, le système de Fontaine de Vaucluse, en évoquant ses caractéristiques hydrogéologiques générales et ses atouts pour l'amélioration et le développement de traceurs naturels. La seconde partie de ce chapitre décrit les prélèvements d'eau et de roches réalisés pour répondre aux problématiques adressées dans cette thèse.

I. Caractéristiques hydrogéologiques du système de Fontaine de Vaucluse

I.1 Grande échelle : système de Fontaine de Vaucluse

I.1.1 Caractéristiques du système de Fontaine de Vaucluse

Le système karstique de Fontaine de Vaucluse s'étend sur trois départements du sud-est de la France : le Vaucluse, les Alpes de Hautes Provence et la Drôme. Le bassin d'alimentation du système karstique de Fontaine de Vaucluse a une surface d'environ 1160 km², il est à l'échelle du système sédimentaire correspondant à une plateforme carbonatée dite Urgonienne. Les roches le constituant présentent ainsi une variabilité verticale et latérale (Figure 2.1a; Léonide et al., 2012). D'un point de vue structural, cet aquifère peut être assimilé à une dalle monoclinale de pendage de 15°SW entrecoupée de nombreux accidents orientés NE-SO (N20), E-W (N90) et NO-SE (N150). L'aquifère est délimité par des formations plus marneuses d'âge Crétacé constituant le mur ainsi que le toit de l'aquifère, susceptible de le mettre en charge localement (Figure 2.1b). Il est majoritairement constitué de calcaires déposés en milieu marin au Crétacé inférieur (Figure 2.1b) et présente des niveaux plus argileux, entraînant localement la formation de nappes perchées. Cette formation est très karstifiée et peut atteindre localement 1500 m d'épaisseur avec une zone non saturée maximale d'environ 800 m d'épaisseur (Puig, 1987), ce qui en fait le site idéal pour l'étude

des écoulements en zone non saturée et la compréhension de son impact sur la recharge. L'exutoire principal de ce système est la Fontaine de Vaucluse (Figure 2.1a), dont le débit moyen est estimé à $\sim 23 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ si l'on inclut les données historiques de suivi (période de 129 ans de janvier 1877 à juin 2006 ; Cognard-Plancq et al., 2006). Cette source est structurée en une vasque reliée à un conduit de plus de 300 m de profondeur (Staigre, 1983). Le développement de la karstification de la Fontaine de Vaucluse sous le niveau de la mer, en relation avec l'épisode d'âge Messinien, a donné le nom de système Vauclusien à toutes les émergences présentant la même caractéristique.

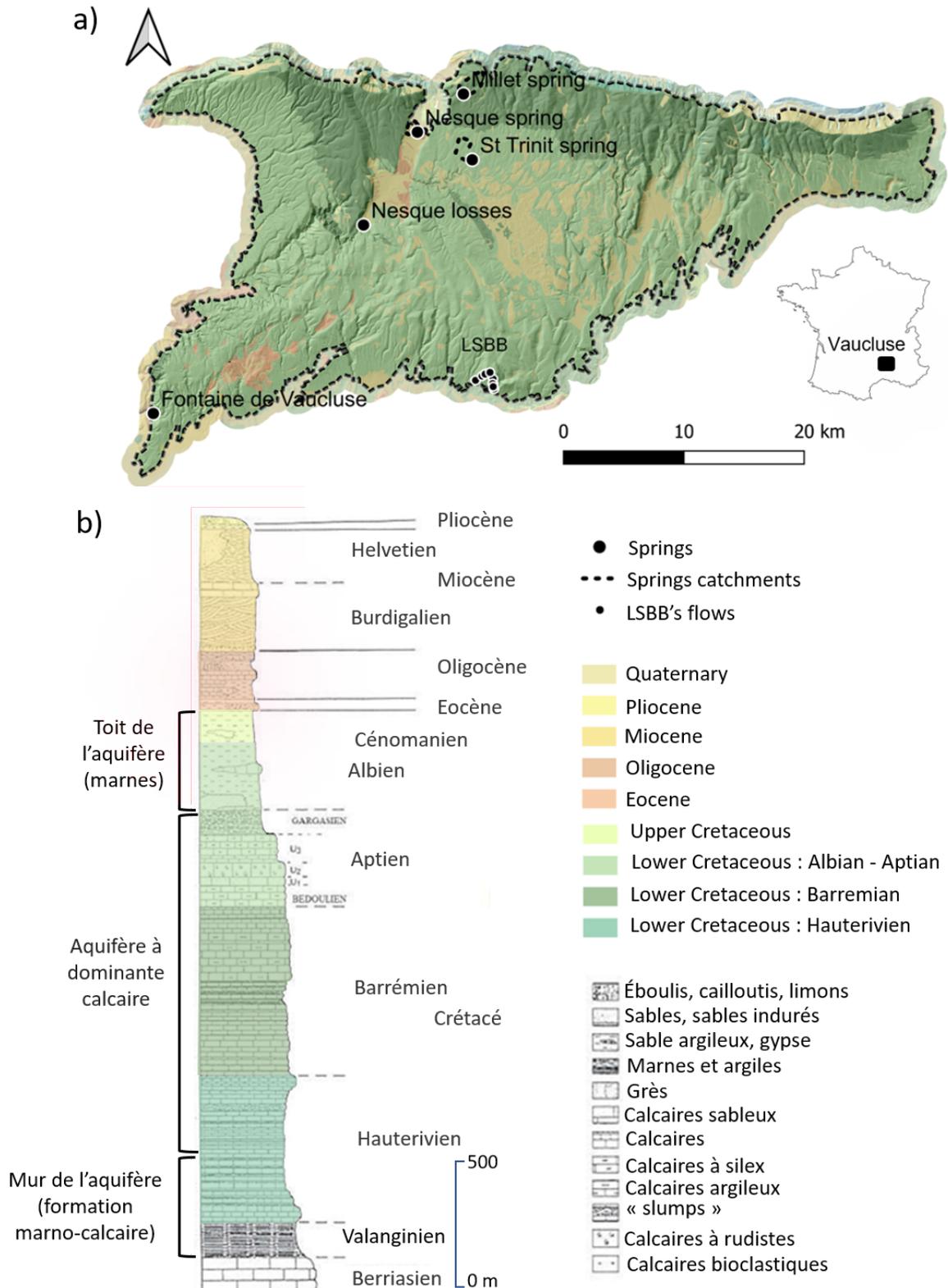


Figure 2.1 : a) Cartographie de l'impluvium du système de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique (BD-CHARM) issue du BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; b) Log général du système Fontaine de Vaucluse, modifié de (Puig, 1987).

I.1.2 Origines des hétérogénéités du système : formation et déformations de la plateforme carbonatée du plateau d'Albion

- **Formation de la plateforme carbonatée et nature des dépôts**

La plateforme carbonatée Urgonienne constituant le système de Fontaine de Vaucluse s'est développée du Valanginien inférieur à l'Aptien supérieur au sud du bassin Vocontien (extrémité ouest du bassin Alpin; Léonide et al., 2012; Figure 2.2).

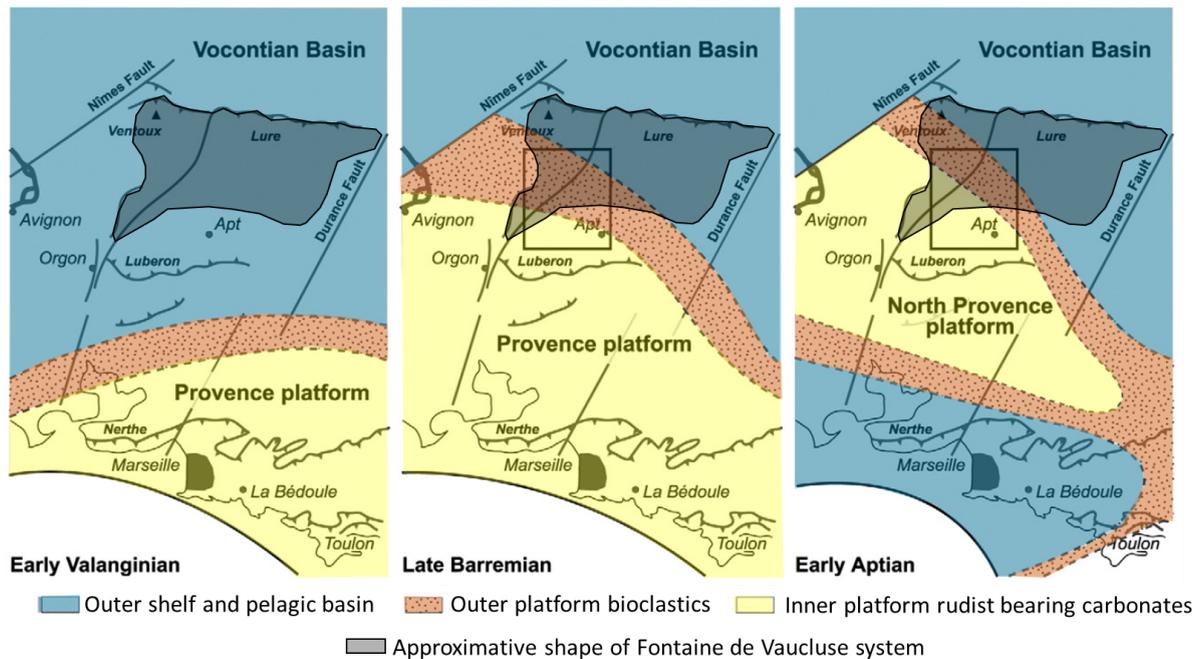


Figure 2.2 : Evolution paléogéographique de la plateforme carbonatée du Valanginien inférieur à l'Aptien supérieur (modifié de Léonide et al., 2012)

Les caractéristiques principales des calcaires formant cette plateforme carbonatée ont été retranscrites en 14 associations de faciès (FA) (Tendil, 2018 ; Léonide et al., 2012). Chaque FA est généralement associée à un environnement de dépôt et ne dépend donc pas de l'âge des dépôts (Figure 2.3).

Au cours de son évolution, la plateforme a subi plusieurs épisodes d'ennoiement (Masse, 1993), pouvant conduire à l'origine d'un dépôt particulier, nommé faciès à palorbitolines (FA14). L'évolution géographique et temporelle de la plateforme conduit au dépôt successif des FA qui s'organisent alors en différentes séquences (Figure 2.4). Chacune de ces séquences se caractérise par une accumulation continue de dépôts (FA) et se distinguent les unes des autres par des discontinuités, aussi appelés marqueurs stratigraphiques (e.g. ennoiement de la plateforme, période d'exposition subaérienne).

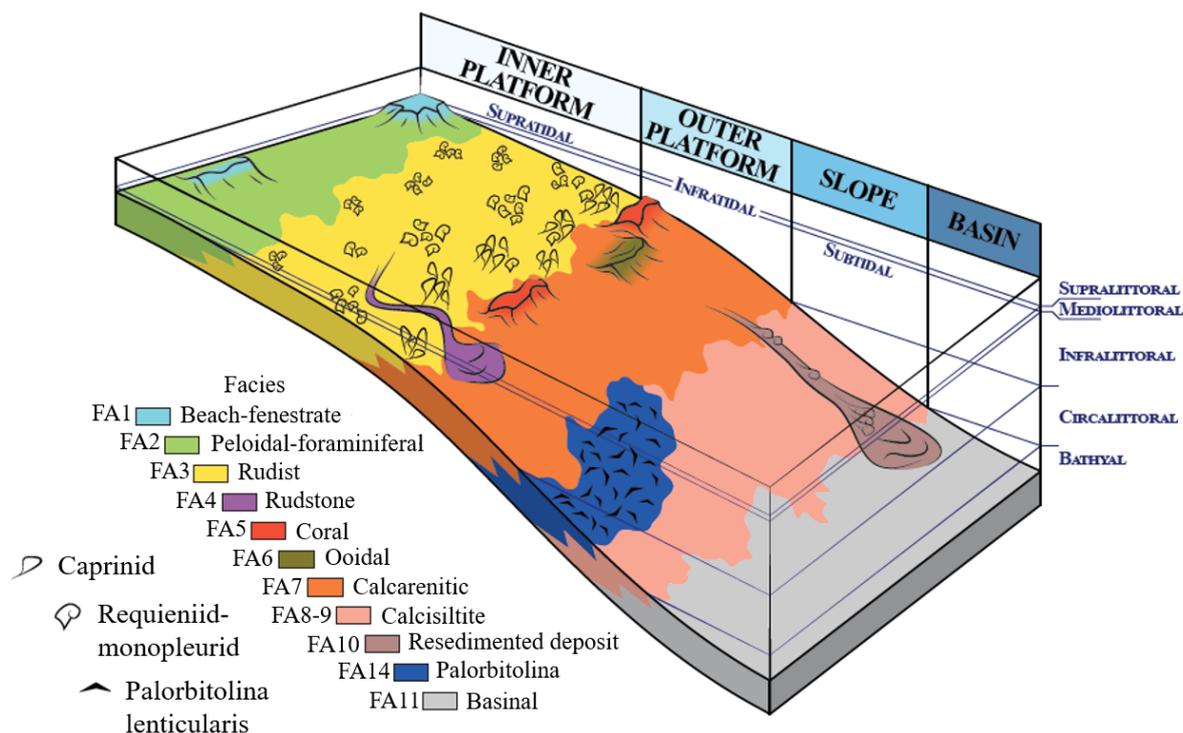


Figure 2.3 : Modèle des dépôts de la plateforme carbonatée de Provence et associations de faciès (FA) rencontrées (Tendil, 2018 modifié de Léonide et al., 2012).

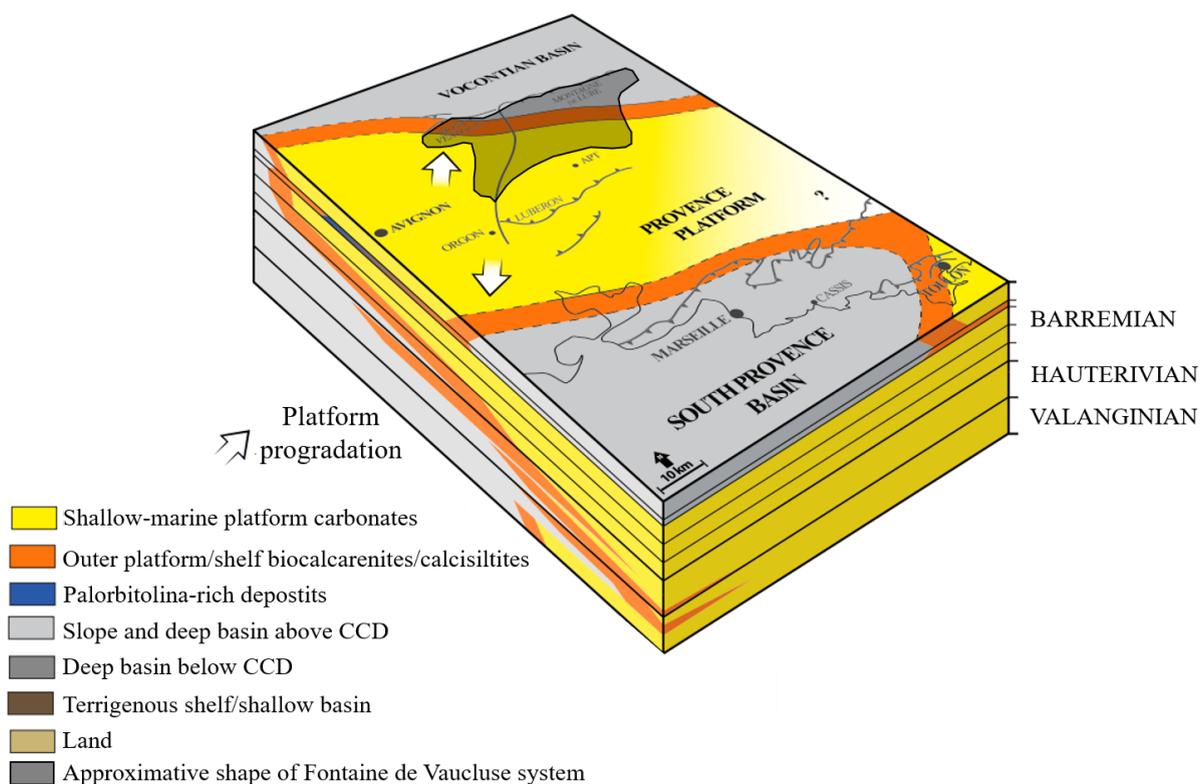


Figure 2.4 : Coupe stratigraphique de la plateforme de Provence du Valanginien au Barrémien. La carte paléogéographique du dessus représente la plateforme de Provence au cours du Barrémien supérieur (modifié de Tendil et al., 2018).

- **Déformation de la plateforme carbonatée et diagenèse**

Différents épisodes de déformation d'échelle régionale ainsi que des transformations physico-chimiques (diagenèse) sont susceptibles d'avoir impacté les sédiments carbonatés déposés (Figure 2.5; Cochard et al., 2020) :

1. Au cours de l'enfouissement des carbonates : cimentation à partir de fluides marins;
2. Bombement Durancien à l'Albien sup - Cénomaniens/Turonien : recristallisation des micrites et cimentation de l'espace intergranulaire à partir de fluides météoriques ; développement de la microporosité ;
3. Extension du Durancien : phase d'enfouissement, précipitation de ciment dans l'espace intergranulaire et dans des veines;
4. Compression Pyrénéenne : fracturation, cimentation et exposition subaérienne de la plateforme carbonatée durant entre 15 et 45 Ma;
5. Extension Oligo-Miocène (rifting) : enfouissement et cimentation;
6. Orogenèse Alpine : exhumation favorisant la circulation de fluides météoriques à travers les failles et fractures à l'origine de la karstification de la plateforme carbonatée.

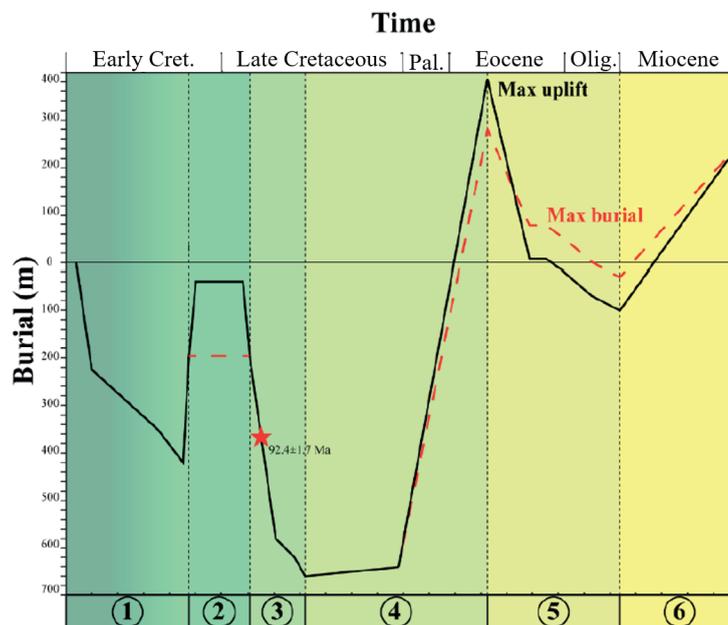


Figure 2.5 : Courbe de l'histoire de l'enfouissement des calcaires Urgonien entre le moment du dépôt et l'époque actuelle (Cochard et al., 2020; modifié de Lamarche et al., 2012).

Les carbonates constituant l'aquifère de Fontaine de Vaucluse sont donc susceptibles d'avoir été impactés par une ou plusieurs des phases décrites précédemment. Au cours de la phase 4, l'exhumation conduit à des dépôts plus marneux formant le toit de l'aquifère (Figure 2.1b).

Au cours de la phase 5, l'enfouissement sous le niveau de la mer conduit au dépôt de carbonates marins/ lacustre à influence marine d'âge Oligocène au-dessus de la plateforme carbonatée du Crétacé. La phase 6 d'exhumation est susceptible d'être également à l'origine d'une karstification de ces formations plus récentes.

• **Sol et occupation du sol**

Le bassin d'alimentation du système de Fontaine de Vaucluse est majoritairement naturel (84%, Figure 2.6) avec une majorité de feuillus (52%). On retrouve également une part non négligeable de forêt et végétation arbustive (17%) généralement associée à des zones escarpées (Figure 2.7). De façon générale, le site est peu anthropisé (1% de terres artificialisées, Figure 2.6) avec une concentration des activités agricoles entre Sault et St-Christol (Figure 2.7).

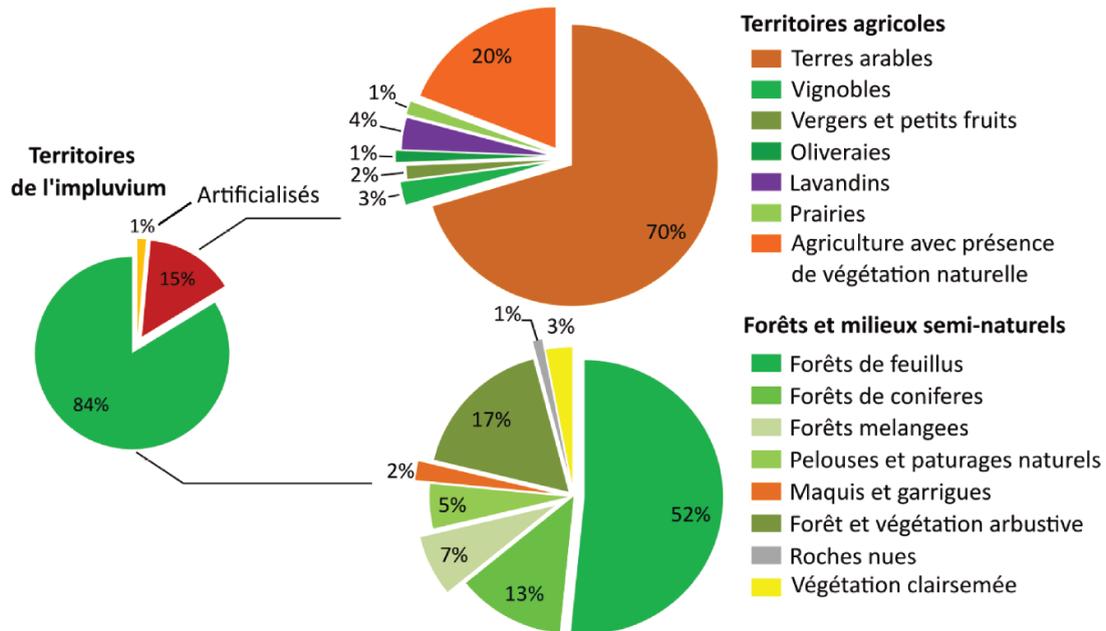


Figure 2.6 : Occupation du sol sur l'impluvium d'après la base de données OCSOL-2014 produite par le CRIGE PACA (Ollivier, 2020).

Le sol résulte d'un mélange entre la matière organique issue de la couverture végétale et de l'altération des roches en surface. Sur le bassin d'alimentation du système Fontaine de Vaucluse, les sols ont des épaisseurs variables en fonction de la couverture végétale mais restent globalement faibles (autour de 10 cm; Blondel, 2008).

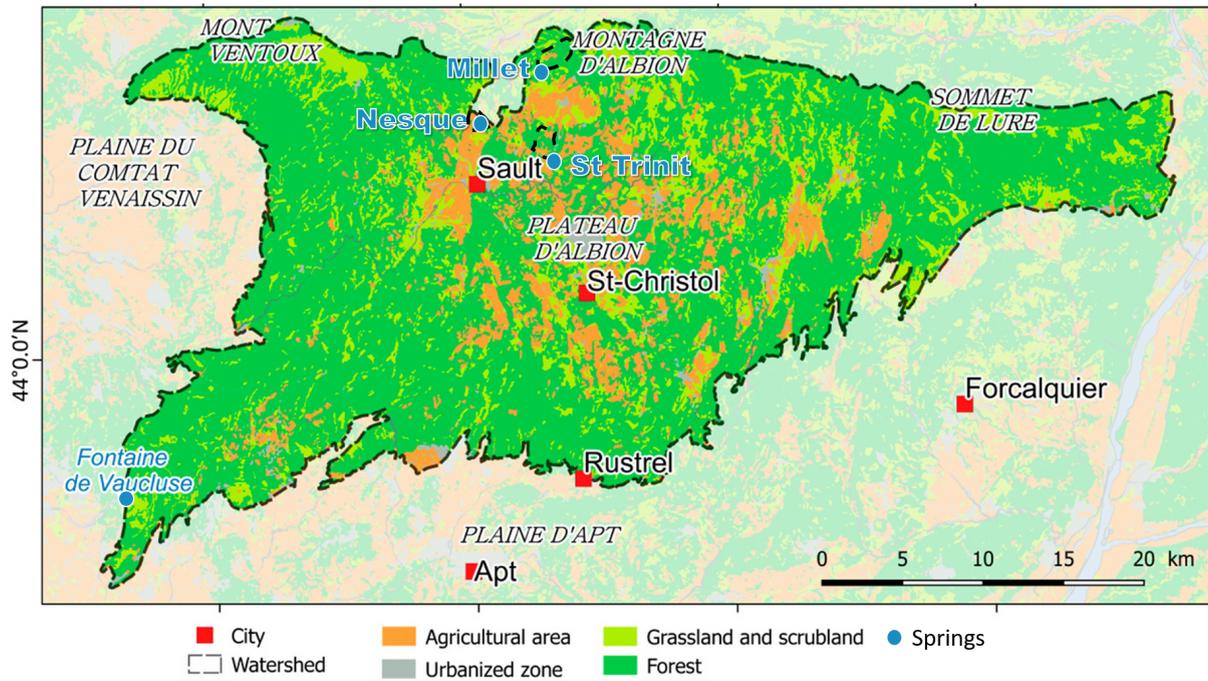


Figure 2.7 : Carte de l'occupation des sols du système Fontaine de Vaucluse, d'après la base de données OCSOL-2014 produite par CRIGE-PACA (modifié de Ollivier et al., 2021).

I.2 Moyenne échelle : sous-systèmes perchés

Les sources de Millet, St Trinit et de la Nesque sont alimentées par des réservoirs perchés de la zone d'infiltration du système Fontaine de Vaucluse. L'aquifère de la source de la Nesque est stratigraphiquement séparé du système Fontaine de Vaucluse par le toit marneux Albien/Cénomaniens (Figure 2.8c). Cependant, tout comme les sources de Millet et de St Trinit, les eaux qui s'en écoulent se réinfiltrent dans les carbonates de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse. Contrairement aux autres sources, les pertes permettant la ré-infiltration des eaux issues des sources de la Nesque se situent à des kilomètres au sud de la source (pertes de la Nesque, Figure 2.8a). Au cours de son long trajet aérien sur les marnes de l'Oligocène, l'eau de la source de la Nesque se mêle ainsi à d'autres sources bordant le fossé de Sault.

Les sources de Millet, St Trinit et de la Nesque (débit très souvent $< 1 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) présentent des bassins d'alimentation relativement bien contraints et de petite taille (respectivement $\sim 2,5 \text{ km}^2$, $\sim 2 \text{ km}^2$ et $\sim 1 \text{ km}^2$; Figure 2.8a et b). Les roches constituant leurs bassins d'alimentation ont été déposées dans des périodes différentes de l'évolution du système sédimentaire des Monts de Vaucluse, respectivement Barrémien supérieur, Aptien et Oligocène (Figure 2.8c). L'environnement de dépôt de ces roches, caractérisé au niveau des exutoires, est similaire pour les sources de Millet et St Trinit (plateforme carbonatée externe

Urgonienne) mais diffère pour la source de la Nesque (milieu lacustre à influence marine d'âge Oligocène). Une granulométrie plus fine à la source de Millet qu'à St Trinit distingue néanmoins les deux types de roches.

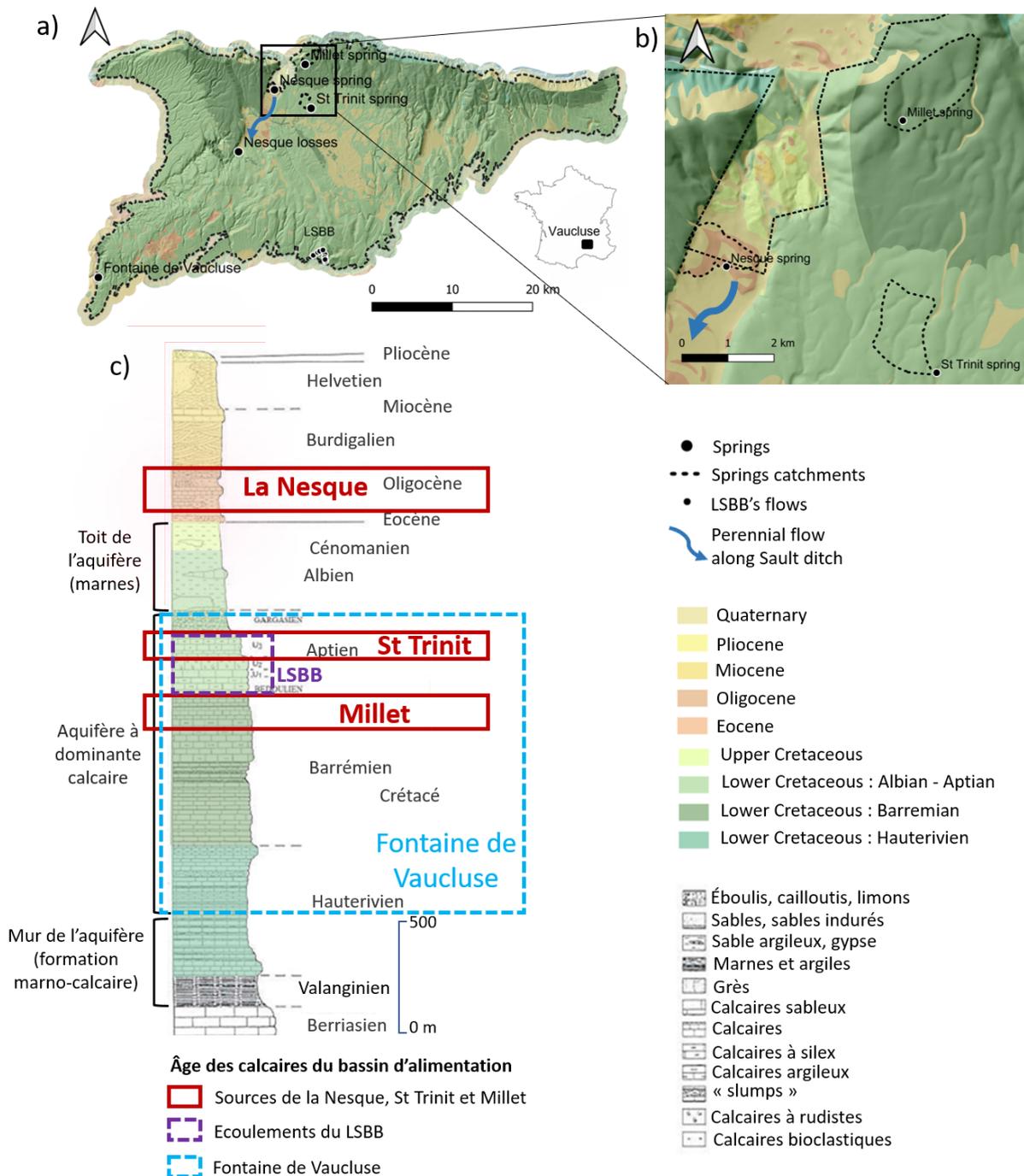


Figure 2.8 : a) Cartographie du système de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique (BD-CHARM) issue du BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; b) Zoom de la carte a) sur les trois principales sources et leurs bassin d'alimentation; c) Report des âges des terrains des bassins d'alimentation des sources et des écoulements du LSBB sur le log stratigraphique général du système Fontaine de Vaucluse modifié de Puig (1987).

L'aquifère de St Trinit présente le plus haut degré de karstification de ces trois sources avec des conduits pouvant atteindre une taille métrique. Par conséquent, la réactivité de cet aquifère face aux événements pluvieux est très rapide. La karstification est également bien développée à la source de Millet avec des conduits de taille plus réduite qu'à la source de St Trinit mais très bien connectés entre eux par un réseau karstique en anastomose. Enfin, l'aquifère de la Nesque présente un plus faible degré de karstification avec des conduits de taille décimétrique au niveau de la source.

L'occupation du sol varie d'un bassin d'alimentation à l'autre (Figure 2.7). Celui de la source de Millet est le plus naturel avec plus des $\frac{3}{4}$ de sa surface recouverts par de la forêt. La partie anthropisée de son bassin d'alimentation est utilisée pour la culture de lavandes. L'impluvium de la source de la Nesque est majoritairement utilisé pour le même type de culture. Enfin, le bassin d'alimentation de la source de St Trinit est occupé par une partie de forêt, mais également un village, et de la polyculture en agriculture biologique. Bien que le bassin d'alimentation de cette source ne soit pas le plus anthropisé des trois sources étudiées, elle n'en demeure pas moins la plus sujette aux contaminations d'origine anthropique en raison du type d'occupation du sol présent et de son haut degré de karstification.

I.3 Petite échelle : points d'écoulements en zone non saturée du LSBB

Rustrel a abrité une base militaire souterraine de 1966 à 1998 pour le stockage d'armes nucléaires. A la suite de son démantèlement, l'un des deux sites souterrains servant au déclenchement du tir de riposte a été réhabilité en observatoire scientifique, le laboratoire souterrain à bas bruit (LSBB). Les trois galeries du LSBB (galerie principale, galerie de secours, galerie MIGA creusée en 2019) s'étendent sur 4 km de long et atteignent une profondeur maximale de 519 m sous roche. Elles permettent l'observation de diverses venues d'eaux dont quatre sont pérennes (points A, B, C et D de la galerie de secours ; Figure 2.9). Au total, plus de 40 points d'écoulement ont été observés au moins une fois depuis 2002. Parmi ces écoulements, divers comportements hydrodynamiques et hydrogéochimiques ont pu être observés et caractérisés dans des travaux précédents, correspondant à des écoulements plutôt rapides ou lents (Barbel-Périneau, 2013; Blondel, 2008; Garry, 2007).

Les écoulements dits "rapides" comprennent l'écoulement C, qui est permanent mais peut s'arrêter très ponctuellement de couler; et l'ensemble des écoulements temporaires (e.g. AJ, W). Ils sont caractérisés par des teneurs en TOC plus élevées que les écoulements dits "lents", et des concentrations en magnésium plus faibles (Garry, 2007). Ces écoulements ont

des débits très variables pouvant atteindre plusieurs centaines de mL.s^{-1} (d'après des mesures bi-mensuelles de 2002 à 2021 : écoulement C de 0 à 20 mL.s^{-1} ; écoulement AJ de 0 à 200 mL.s^{-1} ; écoulement W de 0 à 100 mL.s^{-1}).

Les écoulements dits “lents”, à savoir les écoulements A, B et D sont caractérisés notamment par de plus faibles concentrations en TOC et de plus fortes en magnésium (Garry, 2007). Les écoulements A et B sont systématiquement regroupés dans l'ensemble des classifications hydrochimiques réalisées précédemment (Barbel-Périneau, 2013; Barbel-Périneau et al., 2019; Blondel, 2008; Garry, 2007) en raison de la similarité de leurs paramètres physico-chimiques et de leurs concentrations en éléments majeurs. Leurs débits sont également proches, variant de 0.2 à 10 mL.s^{-1} (d'après des mesures bi-mensuelles de 2002 à 2021). Cette similarité peut s'expliquer par leur proximité géographique (Figure 2.9b) et peut-être interprétée comme un même réservoir, source ou processus alimentant ces deux écoulements.

La classification de l'écoulement D parmi les écoulements dits “lents” pourrait être surprenante en raison de sa faible profondeur (33 m). Cependant, cet écoulement est permanent et son débit est moins variable que celui des écoulements A et B (d'après des mesures bi-mensuelles de 2002 à 2021 : 0.2 à 8 mL.s^{-1}). Les caractéristiques hydrodynamiques et hydrochimiques de l'écoulement D sont attribuées à la lithologie correspondant à des calcaires très poreux mais peu perméables (Carrière et al., 2016).

L'accès facile à ces points d'écoulement du réseau souterrain non spéléologique font du LSBB un observatoire exceptionnel des transferts en ZNS. Le suivi hydrochimique des points d'écoulement des galeries du LSBB permet en effet d'apprécier la spécificité de la ZNS sur ce marquage hydrochimique, qui plus est en l'absence d'impact anthropique (Figure 2.7). Le massif calcaire dans lequel est creusé le LSBB présente une hétérogénéité géologique et structurale qui est susceptible de conditionner les circulations hydrogéologiques. En effet, les calcaires Crétacés d'âge Barrémien supérieur et Aptien inférieur du LSBB ont été déposés dans divers environnements de dépôt, organisés en différentes séquences (Figure 2.9c), conditionnant leurs propriétés pétrophysiques. Ces propriétés telles que la porosité et la perméabilité contrôlent elles-mêmes la circulation de l'eau et son stockage. En sus de la variabilité intra-séquence, les intervalles stratigraphiques qui séparent les séquences de dépôts (voir partie I.1.2) correspondent à des calcaires “tight”, très compacts et cimentés soit par des processus de diagenèse précoces liés aux séquences sédimentaires, soit aux propriétés pétrophysiques originellement peu perméables du faciès et

qui sont donc susceptibles de jouer un rôle de barrière aux écoulements. Par ordre de profondeur croissante, les marqueurs stratigraphiques susceptibles d'impacter la circulation des eaux alimentant les points d'écoulement du LSBB sont les suivants :

- M8 correspond à un niveau induré au sein d'un faciès bioclastique, observé dans le forage carotté BFE, à proximité du point d'écoulement D;
- UB.d4 correspond à une expérience d'exposition sub-aérienne au sommet d'une formation à rudistes, suivie d'une période d'enneigement ayant permis le dépôt de faciès à orbitolines. Ce faciès est extrêmement compact (Tendil et al., 2018);
- UB.d3 correspond au sommet de la plus ancienne unité à rudistes qui est également suivi d'un épisode d'enneigement ayant conduit au dépôt d'un faciès à orbitolines ou d'un faciès corallien en fonction de la zone de la plateforme (Tendil et al., 2018). Le faciès corallien est prédominant dans la zone du LSBB et présente les mêmes caractéristiques que le faciès à orbitolines (compact, barrière aux écoulements) à l'exception que ce niveau est discontinu;
- UB.d2 correspond à une zone indurée par exposition subaérienne dans un faciès à rudistes, (Tendil et al., 2018);
- UB.d2bis a été observé dans un forage réalisé dans une galerie secondaire (galerie anti-souffle) de la galerie principale du LSBB. Il correspond probablement également à une expérience d'exposition subaérienne comme UB.d2, mais ayant duré moins longtemps ;
- UB.d1b est un intervalle compact correspondant à des marnes déposées au cours d'un épisode d'enneigement de la plateforme carbonatée (Tendil et al., 2018).

Au sein de chaque séquence de dépôt, d'autres barrières aux écoulements continues ou discontinues sont susceptibles d'exister en résultat des processus diagénétiques précoces ou tardifs (Cochard et al., 2021, 2020; Tendil, 2018). De plus, la variabilité des propriétés pétrophysiques (porosité-perméabilité) au sein d'un même faciès (e.g. variations du contenu faunistique, granulométrie) est également susceptible de constituer une barrière aux écoulements en freinant l'infiltration.

Enfin, l'ensemble des dépôts est recoupé par des failles et fractures susceptibles de constituer des directions préférentielles de drainage ou bien d'autres barrières hydrauliques suivant l'histoire diagénétiques associées à celles-ci (Celico et al., 2006; Dal Soglio, 2020).

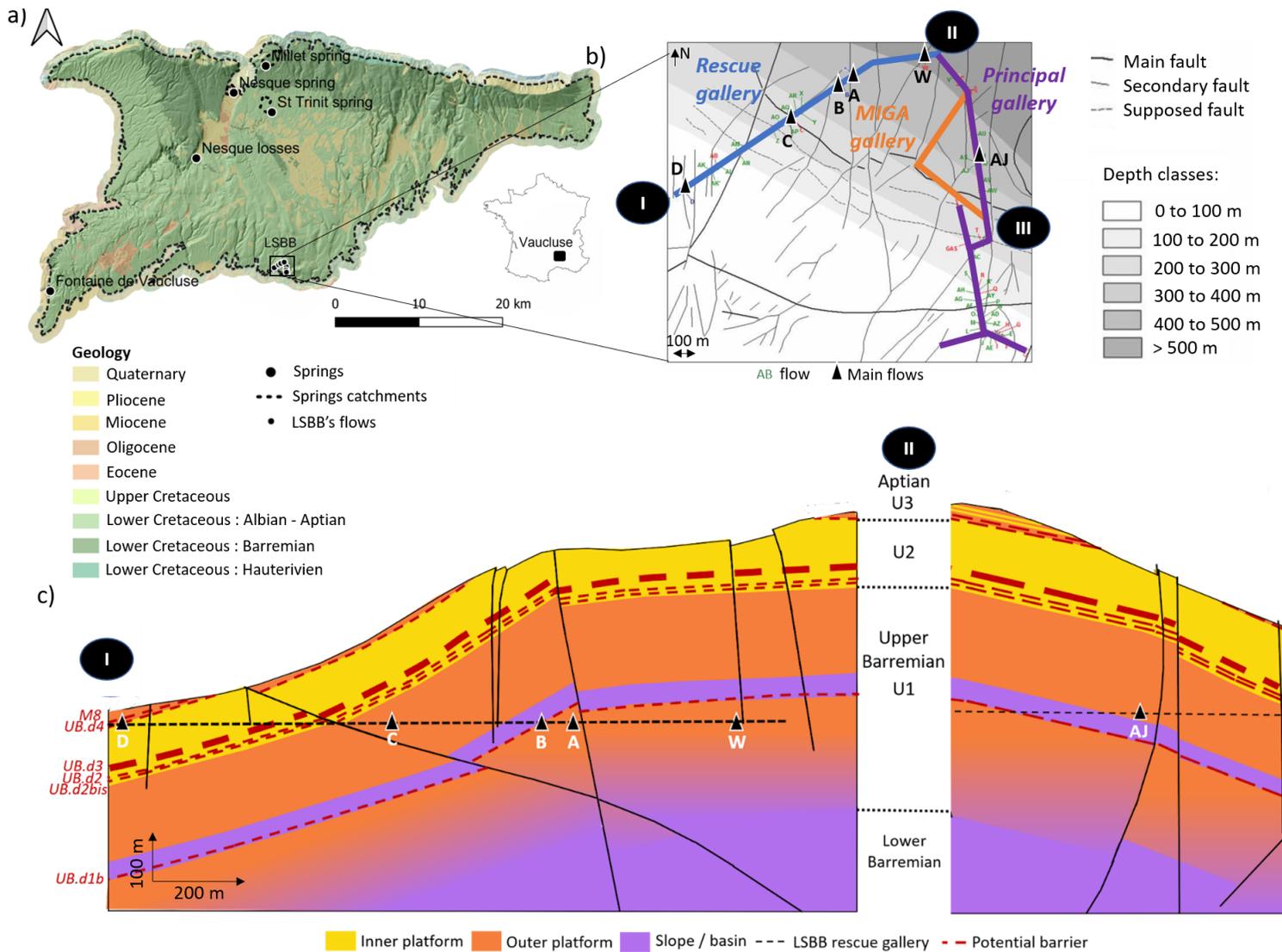


Figure 2.9 : a) Localisation du LSBB sur la cartographie du système de Fontaine de Vaucluse. Carte géologique du BRGM (BD-CHARM) et délimitation des bassins d'alimentation des sources basés sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse;

b) Représentation des 3 galeries du LSBB et localisation de la coupe du c) sur une carte représentant les failles principales et secondaires issue de Barbel-Périneau (2013);

c) Coupe géologique projetée des galeries du LSBB faisant apparaître les failles, les environnements de dépôt des roches et les potentielles barrières aux écoulements. Les unités stratigraphiques U1, U2 et U3 correspondent aux trois niveaux de l'Urgonien décrit par Leenhardt (1883).

II. Données disponibles et acquises

II.1 Données sur les eaux

II.1.1 Suivi des sources et points d'écoulements

Dans le cadre de cette thèse, plusieurs sources ont été suivies : la source de Millet, Saint-Trinit et de la Nesque, ainsi que les pertes de la Nesque et l'exutoire principal de Fontaine de Vaucluse (Figure 2.10).

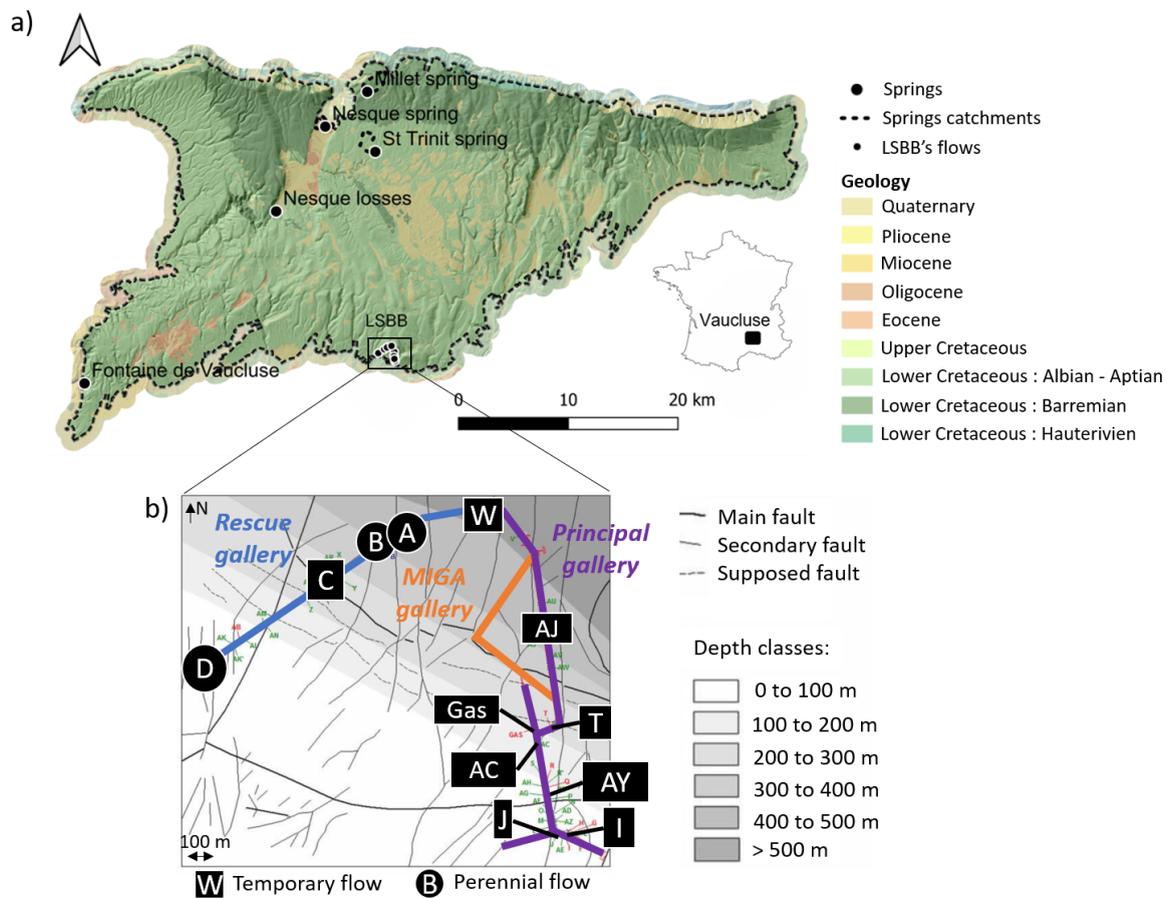


Figure 2.10 : Localisation des sources et écoulements suivis au cours de ces travaux de thèse de juin 2020 à octobre 2021. a) Bassin versant de la source de Fontaine de Vaucluse avec les sources étudiées, les pertes et la localisation du LSBB sur une carte géologique (BD-CHARM) issue de la BRGM et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse.

b) Représentation des 3 galeries du LSBB et localisation des écoulements suivis sur une carte représentant les failles principales et secondaires issue de Barbel-Périneau (2013).

Les sources étudiées ont été choisies pour leur appartenance au système de Fontaine de Vaucluse, mais aussi et surtout en raison de la petite taille de leurs bassins d'alimentation à la lithologie homogène (voir partie I.2). Divers écoulements en zone non saturée accessibles

grâce aux galeries artificielles du LSBB ont également été suivis : 4 écoulements pérennes (A, B, C, D) et 8 écoulements temporaires (AJ, W, Gas, T, AC, AY, I et J). Afin de faciliter le prélèvement et le suivi des écoulements du LSBB, ils sont pour la plupart équipés d'un dispositif expérimental en cours d'optimisation pour mesurer les variations physico-chimiques et hydrodynamiques (Figure 2.11). Courant 2020, l'instrumentation de chacun des 12 points sélectionnés a été consolidée et automatisée. L'ensemble des 12 points a été équipé d'une sonde enregistrant en continu la conductivité électrique, la température, ainsi que d'un débitmètre. Les écoulements pérennes A, B, C et D situés en galerie de secours ont également été équipés de fluorimètres de terrain mesurant en continu la fluorescence (Figure 2.11). Cependant, suite à de nombreux retards pour rendre le système opérationnel, les données acquises n'ont pas pu être utilisées dans le cadre de cette thèse.

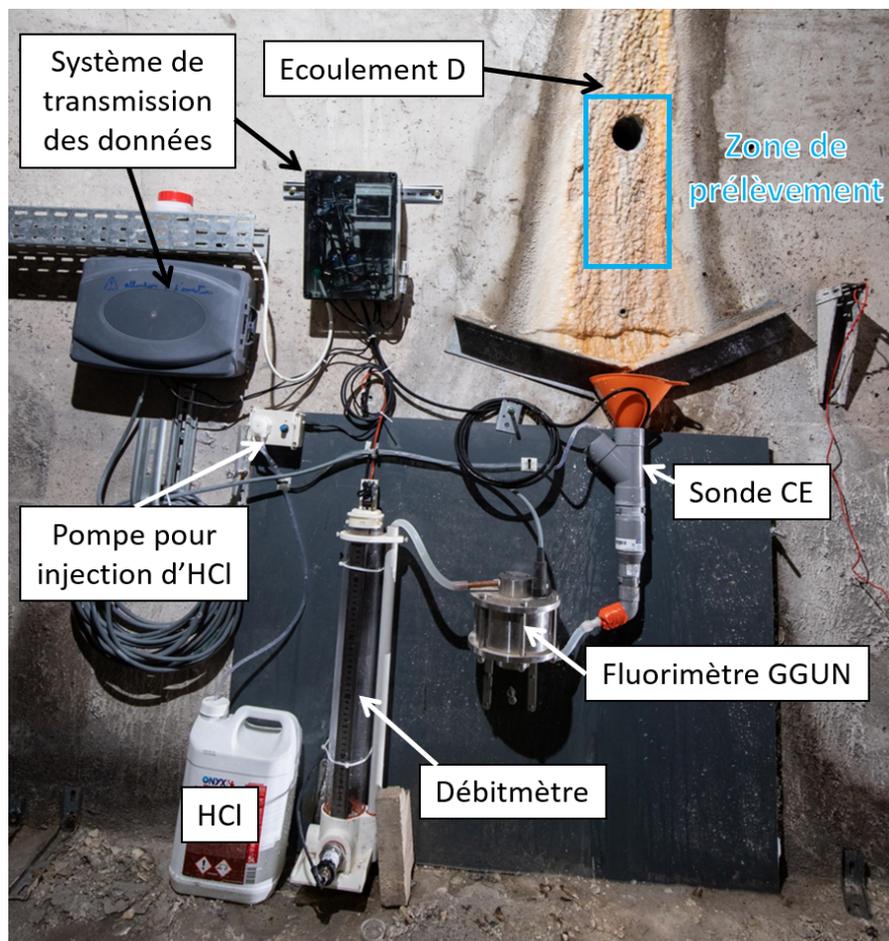


Figure 2.11 : Photographie de l'instrumentation des écoulements pérennes du LSBB (A, B, C et D), les écoulements temporaires sont instrumentés de la même manière mais ne comportent pas de fluorimètres. Prise de vue du 15/12/2020 par Rémi Muller (HydroSciences Montpellier).

II.1.2 Caractéristiques du suivi réalisé

Le suivi consiste en un prélèvement bi-mensuel des sources et écoulements cités précédemment pour les éléments suivants : éléments majeurs et en trace, carbone organique total (COT), isotopes stables de l'eau et fluorescence naturelle de la matière organique. Les analyses des éléments majeurs, du COT et des isotopes stables de l'eau ont été réalisées par l'UMR 1114 EMMAH respectivement par les appareils suivants : Dionex ICS-1100 (chromatographie ionique), Aurora 1030 TOC et Picarro L2130-i. Les analyses des éléments en trace et de la fluorescence de la matière organique ont été réalisées à HydroSciences Montpellier. Pour les éléments en trace, l'ensemble des échantillons ont été préparés avant d'être analysés par ICP-MS par la plateforme AETE-ISO (OSU OREME, protocole de préparation des échantillons en annexe 4.7 du chapitre 4). La fluorescence de la matière organique a été analysée grâce au spectrofluorimètre SHIMADZU (RF-5301, détails chapitre 3, partie II.1).

Le début de ce suivi initialement programmé à l'automne 2019, au démarrage de la thèse, a été reporté à début 2020 en raison des travaux de creusement de la galerie MIGA (Figure 2.10 et Figure 2.12). Un mois après les premiers prélèvements réalisés le 13 février 2020, le suivi a dû être stoppé en raison de la crise sanitaire du covid et du confinement. Il a pu être repris le 16 juin 2020 et s'est arrêté le 18 octobre 2021. Ces multiples retards ont eu un effet considérable sur les données acquises. En effet, au début de la thèse, fin 2019 / début 2020, Fontaine de Vaucluse a connu une crue de grande ampleur et a atteint un débit inégalé sur les 10 dernières années (autour de $80 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, voir Figure 2.12a). Le suivi a débuté en fin de décrue et ne comprend que des crues de faible à moyenne importance (maximum $40 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, Figure 2.12). L'exutoire du système est révélateur de l'hydrodynamique globale du système et suggère ainsi que la période suivie est plutôt moyennement voire peu humide.

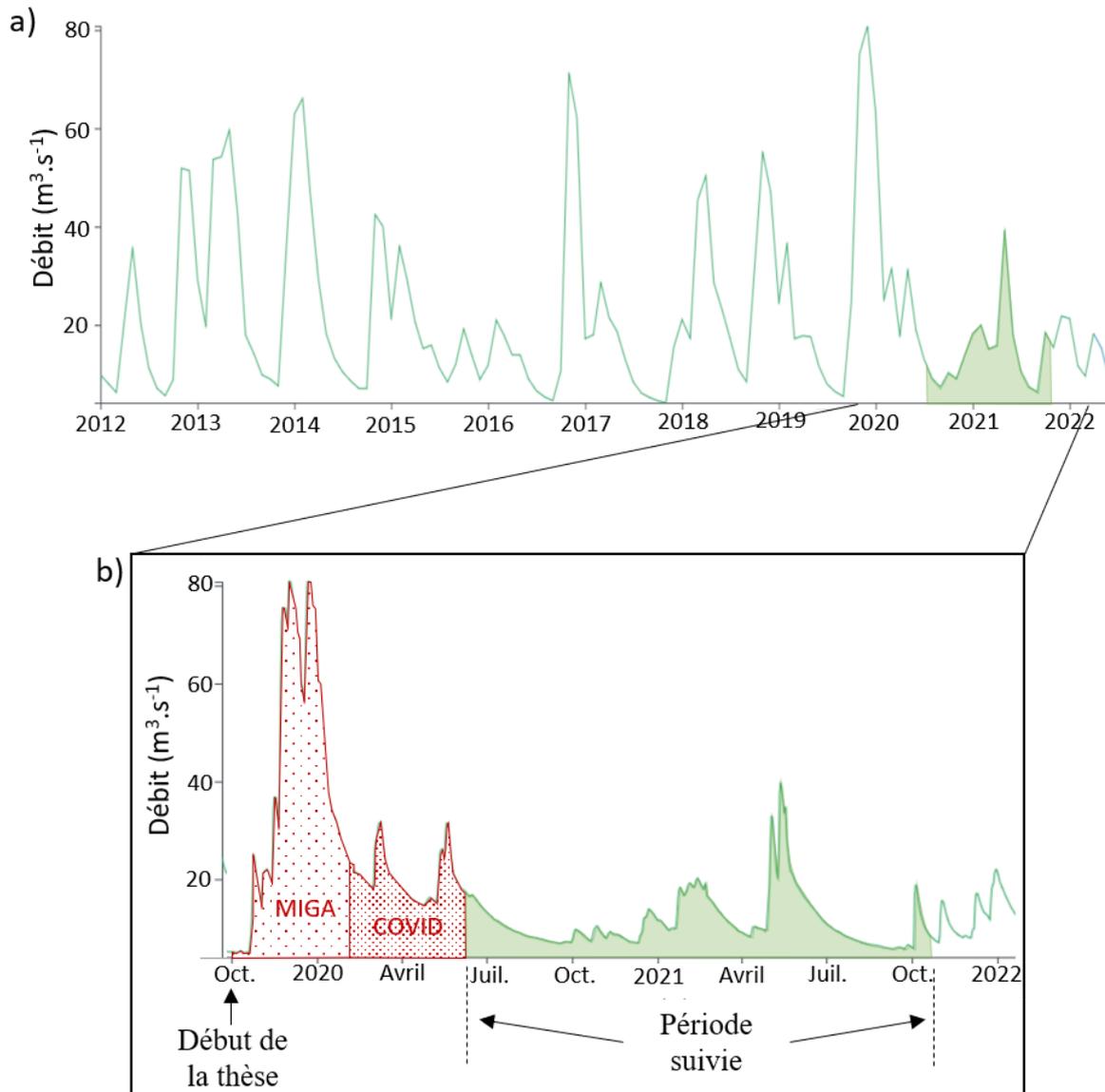


Figure 2.12 : Débit à l'exutoire du système Fontaine de Vaucluse mesuré par le sorgomètre, données issues de hydroportail (eaufrance, station V615 5020 02, données les plus valides de l'entité. a) Débit instantané maximal mensuel du 01/01/2012 au 31/12/2022, b) Débit instantané maximal n journalier ($n=1$, non glissant) du 01/01/2019 au 31/12/2022.

Le prélèvement des sources de St Trinit, Millet, la Nesque ainsi que des pertes de la Nesque a systématiquement été réalisé par un collaborateur, Matthieu Blanc. Les prélèvements des écoulements du LSBB et de la source de Fontaine de Vaucluse étaient assurés au pas de temps bimensuel, une fois par mois par un collaborateur du LSBB, Michel Auguste, et une fois par mes soins. Dans le cas où je ne me déplaçais pas sur site, l'acheminement des échantillons au laboratoire de Montpellier était effectué dans les 24h par chronopost.

II.2 Données sur les roches

II.2.1 Echantillons de roche sélectionnés

Afin de développer les éléments en trace comme traceurs naturels des lithologies traversées par l'eau, 107 échantillons de roches ont été sélectionnés et prélevés sur l'ensemble du système Fontaine de Vaucluse (Figure 2.13a).

Parmi ces échantillons, 6 ont été prélevés sur les bassins d'alimentation des sources de St Trinit, Millet et de la Nesque au cours de la thèse (ST1, ST2, SN1, SN2, Mi1, Mi2; Figure 2.13a).

Au total, 29 autres échantillons ont été prélevés sur des carottes réalisées au niveau de 13 écoulements du LSBB, comprenant les 12 pour lesquels un suivi hydrochimique a été réalisé (voir partie II.1.1) et l'écoulement AH dont l'échantillon de roche a été prélevé avant la sélection des 12 écoulements (Figure 2.13c). Sur chacune des carottes, un ou deux échantillons ont été prélevés aléatoirement. Ils sont nommés par le nom de l'écoulement auquel ils ont été prélevés (D, C, C2, B, A, W, AJ, T, AC, GAS, AH2, AY, I et J ; Figure 2.13c). Pour chacune des carottes, des plugs ont également été réalisés afin de mesurer les propriétés pétrophysiques des roches (D-L, Cp, Bp1, Bp2, Ap, Wp, AJp, Tp, ACp, AYp, GASp, AHp, Jp, Jpbis, Ip; Figure 2.13c).

Afin de représenter les principales lithologies du système Fontaine de Vaucluse, 72 échantillons ont également été sélectionnés par le CEREGE (Aix-Marseille Université; Ribes, 2021) à partir de travaux précédents (Cochard et al., 2021, 2020; Galinier, 2018; Jeanne, 2012; Jeanne et al., 2012; Mermoud, 2018; Tendil, 2018; Tendil et al., 2018). Ces échantillons sont issus de divers lieux de prélèvement :

- Brantes : BR74, BR62T;
- Gorges de la Nesque : N.2, N.13, N.22, N.27; N.90;
- Col de la ligne : L.35;
- Vaulongue : V4, V8, V2, V19, V15;
- Lagnes carrière : RB24, RB77, RB38, RB91, RB69, RB79, RB57, RB54;
- Murs : M.21;
- Font jouval : FJ109, FJ213, FJ268, FJ240, FJ227, FJ22.B, FJ216;
- Sigalière : FJ323;
- St Christol : 5.13;
- Banon : MAR.BAN2, SAR.BAN;

- LSBB : carottes SC Miga (SM-P25) et Miga explo (EX 53.80, EX 69.70, EX 72.60); puits P1 (21, 24, 66, 18, 71, 69, 53, 38) et P2 (P, AQ, P2-Ec 3, AM, AH);
- Forage BFE : dans la carotte de ce forage situé sur le site expérimental de Buissonnière composée de 3 forages (BFN, BFS et BFE) localisé au-dessus de la galerie de secours du LSBB (proche du point D), 22 échantillons ont été sélectionnés à différentes profondeurs (Figure 2.13b).

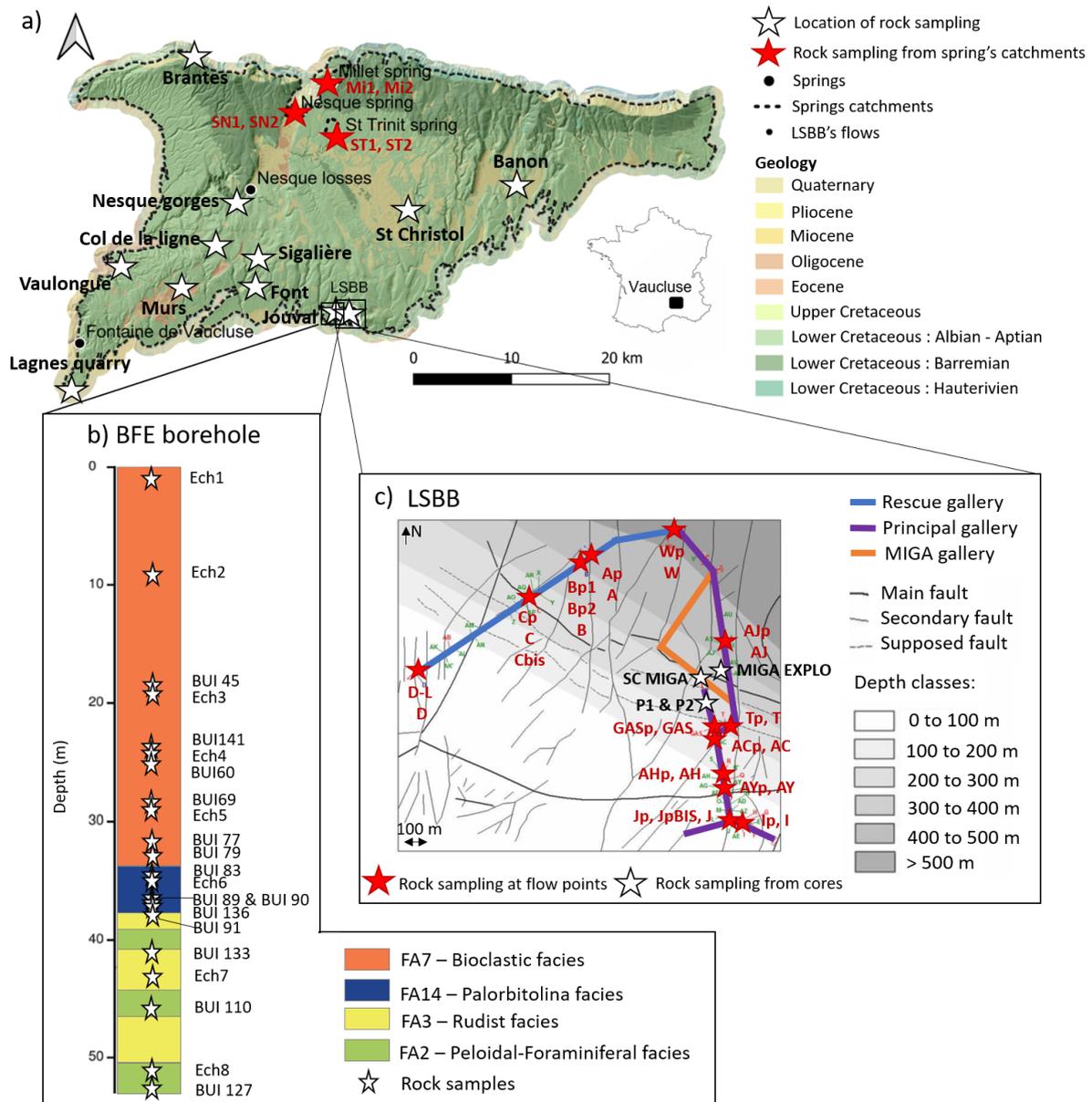


Figure 2.13 : Localisation des échantillons de roches prélevés a) à l'échelle du bassin d'alimentation de Fontaine de Vaucluse sur une carte géologique du BRGM (BD-CHARM) et délimitation des bassins d'alimentation des sources basée sur la géologie et les bilans de masse et issus de Ollivier (2020) pour Fontaine de Vaucluse; b) au niveau du forage BFE du site expérimental de Buissonnière, log issu de Sellaoui (2020); c) au niveau du LSBB, figure modifiée de Barbel-Périneau (2013).

II.2.2 Caractéristiques des échantillons de roches prélevés

Pour les 6 échantillons prélevés sur les bassins d'alimentation des sources, les 72 échantillons représentatifs et les 15 échantillons du LSBB issus de plugs des carottes, les faciès lithologiques selon la nomenclature Figure 2.3 et les environnements de dépôts sont disponibles (partie I.1.2, détail annexe 2.1). L'ensemble des échantillons correspond à des calcaires d'âge Barrémien déposés en milieu marin, excepté les deux échantillons prélevés au niveau de la source de la Nesque correspondant à des calcaires lacustres à influence marine d'âge Oligocène. La majorité des échantillons sélectionnés a été déposée en milieu de plateforme (interne ou externe; Figure 2.14) ce qui est en accord avec la prédominance de ce type de dépôt (voir partie I.).

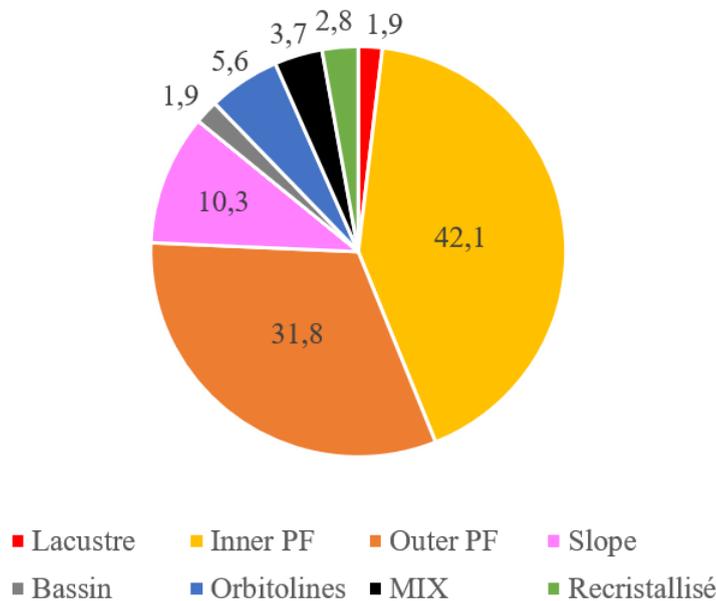


Figure 2.14 : Proportion en % d'échantillons représentant chaque environnement de dépôt du set de données.

III. Déroulement de la thèse

Ma thèse débutée en octobre 2019 aura duré plus de 3 ans du fait de nombreux contretemps indépendants de ma volonté. Parmi eux, le creusement de la galerie MIGA débuté en janvier 2019 qui a duré plusieurs mois de plus que la durée initialement prévue, rendant le site difficile d'accès jusqu'à février 2020 (Figure 2.15). Durant cette période je me suis consacrée au monitorat, aux formations que je devais suivre, à la bibliographie ainsi qu'à l'élaboration d'un protocole de prélèvement des éléments en trace adapté aux contraintes des écoulements en galerie du LSBB (résultats abordés au chapitre 4, partie A.II.2). Quelques semaines après

la fin des travaux, le confinement lié à la crise sanitaire a été décrété retardant à la fois le début du suivi des eaux et les analyses de roches prévues à cette période (Figure 2.15). Ces deux événements ont considérablement retardé le début de l'acquisition de mes données (plus de 6 mois) engendrant un inévitable retard sur le traitement de ces dites-données, et de ce fait retardant les premières valorisations scientifiques (conférences, articles). Cela a également affecté les données acquises correspondant plutôt à une période sèche (crues de faibles intensités, Figure 2.12). Ce retard de prélèvement des divers échantillons ainsi que la difficulté d'accès au laboratoire d'analyse en raison du Covid n'a pas permis d'aller aussi loin que prévu sur les éléments en trace et à surtout limité le couplage des informations obtenues avec les deux types de traceurs.

Les premières analyses de roches réalisées après le confinement ont révélé que la méthode utilisée (Durand et al., 2016) n'était pas adaptée aux échantillons de roches sélectionnés ce qui a conduit à différents tests tout au long de l'année 2020-2021 afin de développer une nouvelle méthode d'analyse détaillée au chapitre 4, partie A.II.2 (Figure 2.15).

L'année 2021-2022 a été consacrée à la valorisation scientifique par le biais de la publication d'un premier article scientifique sur la fluorescence de la matière organique avec le développement d'un indice des temps de transit (TTi) appliqué aux sources de St Trinit, Millet et de la Nesque (Serène et al., 2022d); ainsi qu'à la participation à 3 conférences internationales sous forme de présentation orale (Serène et al., 2022a, 2022b, 2022c; Figure 2.15). L'étude de la fluorescence de la matière organique sur les écoulements du LSBB a nécessité plus de temps que prévu du fait de l'interprétation différente de l'indice du TTi abordée au chapitre 3, partie V. Ce travail fait l'objet d'un second article prêt à être soumis, tout comme un troisième article rédigé début 2023 s'intéressant de façon plus générale aux méthodes de calcul des indices de fluorescence.

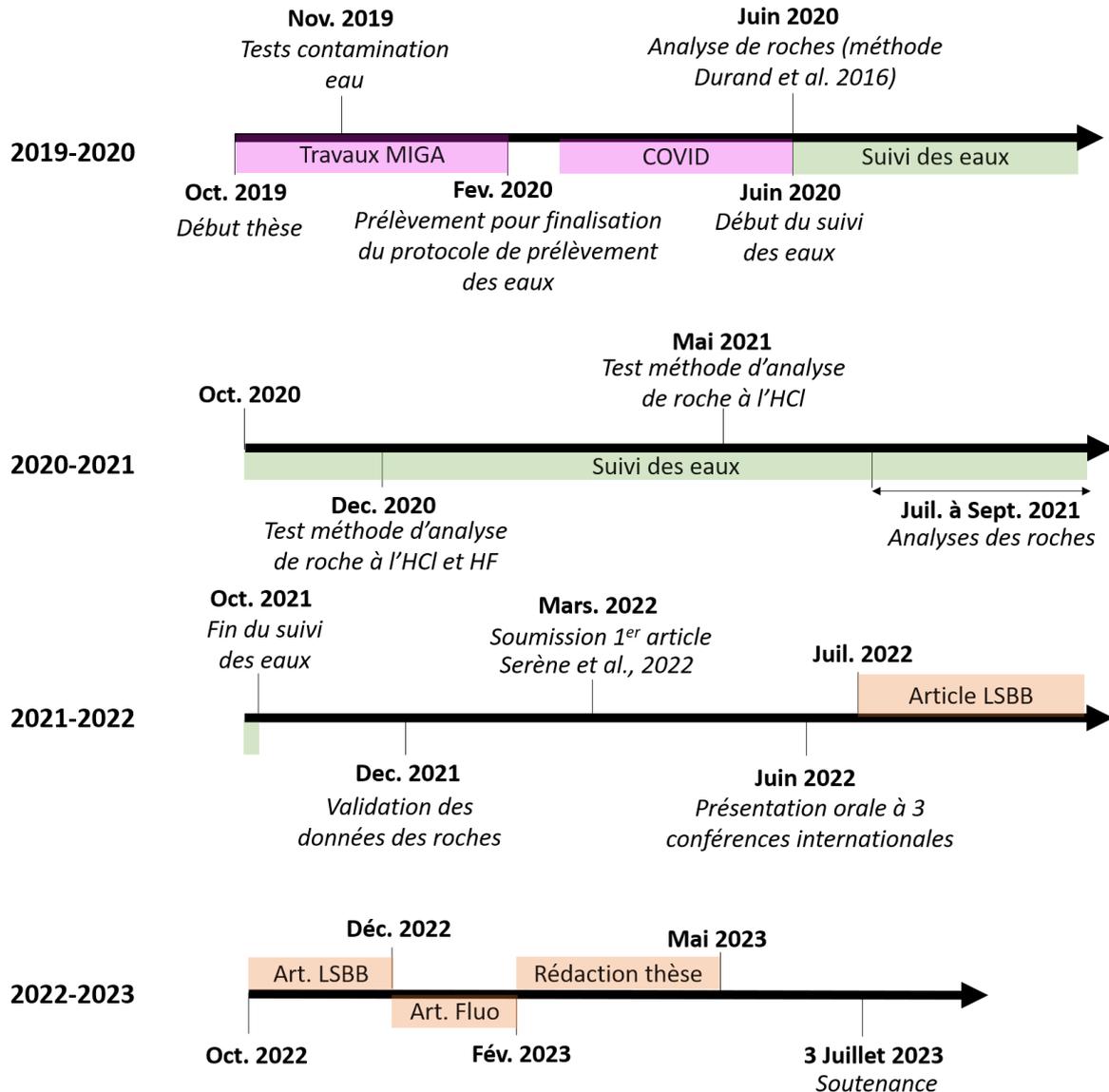


Figure 2.15 : Principales étapes de la thèse. En rose sont indiquées les périodes d'inaccessibilité aux sites expérimentaux et/ou laboratoire d'analyses en raison de contraintes techniques (creusement de la galerie MIGA au LSBB) ou sanitaires (crise COVID et confinement/restrictions de déplacements).

Conclusion

Le système karstique de Fontaine de Vaucluse est un site particulièrement adapté à l'étude des écoulements à différentes échelles, et plus spécifiquement au sein de la zone non saturée du fait de ses dimensions hors normes (épaisseur maximale de sa zone non saturée ~ 800 m et impluvium ~ 1600 km²) impliquant une forte variabilité spatiale des dépôts carbonatés et ainsi des lithologies traversées. La présence de divers sous-systèmes perchés de la zone non saturée (sources de St Trinit, Millet et de la Nesque) ainsi que des galeries du LSBB, permet un accès unique aux écoulements de ce compartiment particulier. Leur caractérisation est susceptible d'améliorer la compréhension de la recharge à l'échelle du système Fontaine de Vaucluse. De plus, la faible proportion de zones anthropisées à l'échelle du bassin en fait un site particulièrement adapté à l'élaboration de nouvelles méthodes de traçage naturel.

Afin d'améliorer l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des écoulements rapides en milieu karstique et de développer l'utilisation des éléments en trace comme traceurs des types de calcaires traversés par l'eau; un suivi bi-mensuel de juin 2020 à octobre 2021 des eaux des sources de Fontaine de Vaucluse, la Nesque, St Trinit, Millet, les pertes de la Nesque et de 12 écoulements du LSBB (A, B, C, D, W, AJ, I, J, Gas, T, AC, AY) a été réalisé pour les éléments suivants : éléments majeurs et en trace, COT, isotopes stables de l'eau et fluorescence de la matière organique. Un set de 107 échantillons de roches prélevés sur le système a également été constitué dans le but d'être représentatif des différentes lithologies de la zone d'étude ainsi que de représenter au mieux les lithologies associées aux différentes sources et écoulements.

Le traitement de ces données fait l'objet de deux chapitres : le chapitre 3 s'intéressant à la fluorescence de la matière organique (eau), et le chapitre 4 aux éléments en trace (roches et eau).

Annexe 2.1: Environnements de dépôt, faciès lithologique et localisation des prélèvements des échantillons de roches

	Echantillon	Lieu d'échantillonnage	Environnement de dépôt	Lithologie
1	SM-P25	LSBB - SC Miga	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
2	18	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
3	21	LSBB - P1	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
4	24	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
5	38	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
6	53	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
7	66	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
8	69	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
9	71	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
10	P	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
11	AH	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
12	AM	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
13	AQ	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
14	P2-Ec 3	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
15	BUI 45	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
16	BUI 141	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
17	BUI 60	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
18	BUI 69	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
19	BUI 77	Buissonière	Outer PF	FA6-Ooidal facies
20	BUI 79	Buissonière	Outer PF	FA6-Ooidal facies
21	BUI 83	Buissonière	MIX	FA14-palorbitolina facies et FA6-Ooidal facies
22	BUI 89	Buissonière	Orbitolines	FA14-palorbitolina facies
23	BUI 90	Buissonière	Orbitolines	FA14-palorbitolina facies
24	BUI 136	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
25	BUI 91	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
26	BUI 133	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
27	BUI 110	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
28	BUI 127	Buissonière	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
29	RB38	Carrière de Lagnes	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
30	RB24	Carrière de Lagnes	Outer PF	FA5-Coral facies
31	RB57	Carrière de Lagnes	MIX	FA3-Rudist facies et FA7 (Bioclastic facies) ou FA8 (Very fine bioclastic facies)
32	RB54	Carrière de Lagnes	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
33	RB69	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
34	RB79	Carrière de Lagnes	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
35	RB77	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
36	RB91	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
37	240	Font Jouval Combe	Outer PF	FA6-Ooidal facies
38	213	Font Jouval Combe	Slope	FA10-Platform-derived bioclastic facies
39	216	Font Jouval Combe	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
40	227	Font Jouval Combe	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
41	268	Font Jouval Combe	Inner PF	FA3-Rudist facies
42	109	Font Jouval Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
43	22.B	Font Jouval Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
44	323	La Sigalière Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
45	V2	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
46	V4	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
47	V8	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies

48	V15	Vaulongue Combe	Inner PF	FA3 (Rudist facies) ou FA4 (Coral–Rudist gravel facies)
49	V19	Vaulongue Combe	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
50	M.21	Murs	Inner PF	FA3-Rudist facies
51	L.35	Col de la Ligne	Inner PF	FA3-Rudist facies
52	N.90	Gorges de la Nesque-la Lauze	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
53	N.27	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF	FA5-Coral facies
54	N.22	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF	FA6-Ooidal facies
55	N.13	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF to slope	FA8 (Very fine bioclastic facies) / FA8 (Finely-laminated bioclastic facies)
56	N.2	Gorges de la Nesque-la Lauze	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
57	BR74	Brantes	Basin	FA11-Basinal limestone facies
58	BR62T	Brantes	Basin	FA11-Basinal limestone facies
59	MAR.BAN2	Banon	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
60	SAR.BAN	Banon	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
61	5.13	St Christol- Aubert Aven	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
62	EX 53.80	LSBB - Miga explo		Recristallisé
63	EX 69.70	LSBB - Miga explo	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
64	EX 72.60	LSBB - Miga explo	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
65	SN1	Source de la Nesque	lacustre avec influence marine	grès à oestracodes, quartz et milioles, bioturbé
66	SN2	Source de la Nesque	lacustre avec influence marine	grès à oestracodes, quartz et milioles, bioturbé
67	ST1	Source de St Trinit	Outer PF to slope	FA8-Very fine bioclastic facies
68	ST2	Source de St Trinit	Outer PF to slope	FA8-Very fine bioclastic facies
69	Mi1	Source de Millet	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
70	Mi2	Source de Millet	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
71	Ech1	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
72	Ech2	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
73	Ech3	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
74	Ech4	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
75	Ech5	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
76	Ech6	Buissonière	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
77	Ech7	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
78	Ech8	Buissonière	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
79	AHp	LSBB	Inner PF	FA7-Bioclastic facies
80	Ip	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
81	ACp	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
82	Tp	LSBB	MIX	FA7-Bioclastic facies et FA3-Rudist facies
83	Cp	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
84	GASp	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies et FA3-Rudist facies
85	Ap	LSBB		Recristallisé
86	Wp	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
87	AJp	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
88	Jp	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
89	JpBIS	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
90	AYp	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
91	Bp1	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
92	Bp2	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies

93	A	LSBB		Recristallisé
94	B	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
95	C	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
96	I	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
97	J	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
98	T	LSBB	MIX	FA7-Bioclastic facies et FA3-Rudist facies
99	W	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
100	AC	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
101	AH2	LSBB	Inner PF	FA7-Bioclastic facies
102	AJ	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
103	AY	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
104	GAS	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies et FA3-Rudist facies
105	D-L	LSBB	Outer PF	non identifié
106	C2	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
107	D	LSBB	Outer PF	non identifié

Références

- Barbel-Périneau, A., 2013. Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d'Expérimentation et d'Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Barbel-Périneau, A., Barbiero, L., Danquigny, C., Emblanch, C., Mazzilli, N., Simler, L., Valles, V., 2019. Karst flow processes explored through analysis of long-term unsaturated-zone discharge hydrochemistry: a 10-year study in Rustrel, France. *Hydrogeol. J.* 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10040-019-01965-6>
- Blondel, T., 2008. 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Carrière, S.D., Chalikakis, K., Danquigny, C., Davi, H., Mazzilli, N., Ollivier, C., Emblanch, C., 2016. The role of porous matrix in water flow regulation within a karst unsaturated zone: an integrated hydrogeophysical approach. *Hydrogeol. J.* 24, 1905–1918. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1425-8>
- Celico, F., Petrella, E., Celico, P., 2006. Hydrogeological behaviour of some fault zones in a carbonate aquifer of Southern Italy: an experimentally based model: Hydrogeological behaviour of fault zones. *Terra Nova* 18, 308–313. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3121.2006.00694.x>
- Cochard, J., Léonide, P., Borgomano, J., Guglielmi, Y., Massonnat, G., Rolando, J., Marie, L., Pasquier, A., 2021. Reservoir properties of Barremian-Aptian Urgonian limestones, SE France, PART 2: influence of diagenesis and fracturing. *J. Pet. Geol.* 44, 97–114. <https://doi.org/10.1111/jpg.12780>
- Cochard, J., Léonide, P., Borgomano, J., Guglielmi, Y., Massonnat, G., Rolando, J., Marié, L., Pasquier, A., 2020. Reservoir properties of Barremian-Aptian Urgonian limestones, SE France, PART 1: influence of structural history on porosity-permeability variations. *J. Pet. Geol.* 43, 75–94. <https://doi.org/10.1111/jpg.12750>
- Cognard-Plancq, A.-L., Gevaudan, C., Emblanch, C., 2006. Historical monthly rainfall- runoff database on Fontaine de Vaucluse karst system: a review and lessons.
- Dal Soglio, L., 2020. Hétérogénéité géologique, spéléogénèse et hydrodynamique du karst : du concept à la modélisation numérique (PhD). Avignon Université, Avignon, France.
- Durand, A., Chase, Z., Townsend, A.T., Noble, T., Panietz, E., Goemann, K., 2016. Improved methodology for the microwave digestion of carbonate-rich environmental samples. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 96, 119–136. <https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1137904>
- Galinier, D., 2018. Caractérisation sédimentologique, diagénétique et pétrophysique des carbonates de l'Urgonien du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (Rustrel). Intégration numérique des données et répartition spatiale des propriétés (Mémoire de stage master 2). Aix-Marseille Université.
- Garry, B., 2007. Etude des processus d'écoulements 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). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Jeanne, P., 2012. Architectural, petrophysical and hydromechanical properties of fault zones in fractured-porous rocks: compared studies of a moderate and a mature fault zones (France) (PhD). Université Nice-Sophia Antipolis, Nice, France.
- Jeanne, P., Guglielmi, Y., Lamarche, J., Cappa, F., Marié, L., 2012. Architectural characteristics and petrophysical properties evolution of a strike-slip fault zone in a fractured porous carbonate reservoir. *J. Struct. Geol.* 44, 93–109. <https://doi.org/10.1016/j.jsg.2012.08.016>
- Lamarche, J., Lavenu, A.P.C., Gauthier, B.D.M., Guglielmi, Y., Jayet, O., 2012. Relationships between fracture patterns, geodynamics and mechanical stratigraphy in Carbonates (South-East Basin, France). *Tectonophysics* 581, 231–245.

- <https://doi.org/10.1016/j.tecto.2012.06.042>
- Leenhardt, F., 1883. Etude géologique de la région du Mont-Ventoux. Stratigraphie. (PhD). Université de Montpellier.
- Léonide, P., Borgomano, J., Masse, J.-P., Doublet, S., 2012. Relation between stratigraphic architecture and multi-scale heterogeneities in carbonate platforms: The Barremian–lower Aptian of the Monts de Vaucluse, SE France. *Sediment. Geol.* 265–266, 87–109. <https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2012.03.019>
- Masse, J.-P., 1993. Valanginian–Early Aptian Carbonate Platforms from Provence, Southeastern France : Chapter 29, in: *Cretaceous Carbonate Platforms: A.A.P.G.* pp. 363–374.
- Mermoud, C., 2018. Caractérisation sédimentaire, diagénétique et pétrophysique des carbonates de l'Urgonien du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB). Influence de la tectonique, de la diagénèse et des karsts sur l'évolution des propriétés pétrophysiques (Mémoire de stage master 2). Aix-Marseille Université.
- Ollivier, C., 2020. Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrosystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France (PhD). Université d'Avignon.
- Ollivier, C., Olioso, A., Carrière, S.D., Boulet, G., Chalikakis, K., Chanzy, A., Charlier, J.-B., Combemale, D., Davi, H., Emblanch, C., Marloie, O., Martin-StPaul, N., Mazzilli, N., Simioni, G., Weiss, M., 2021. An evapotranspiration model driven by remote sensing data for assessing groundwater resource in karst watershed. *Sci. Total Environ.* 781, 146706. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146706>
- Puig, J.M., 1987. Le système karstique de la Fontaine de Vaucluse (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Ribes, T., 2021. Base de données pétrophysique Poroperm ALBION (Total Internal Report).
- Sellaoui, I., 2020. Étude sédimentologique & pétrophysique de l'Urgonien des Monts de Vaucluse (forage de Buissonière, Rustrel, Sud-Est de la France) : Caractérisation pétrophysique & diagénétique des carbonates de l'Urgonien du LSBB (Mémoire de stage master 2). Centre Européen de Recherche et d'enseignement des Géosciences de l'environnement (CEREGE), Marseille.
- Serène, L., 2022a. Use of trace elements to distinguish flows from different types of carbonated rocks (Présentation orale No. IAHS-AISH Scientific Assembly 2022). Montpellier. <https://hal.science/hal-03817369/>
- Serène, L., 2022b. Transit Time index (TTi) as an adaptation of humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems. Application to the karst springs of Fontaine de Vaucluse system (Southeastern France) (Présentation orale No. Eurokarst 2022). Malaga, Spain. <https://cehuma-eventos.adabyron.uma.es/event/1/contributions/65/>
- Serène, L., 2022c. Use of natural organic matter fluorescence to illustrate transit time differences in the unsaturated zone of karst hydrosystems. Application to the Low-Noise Underground Laboratory (LSBB) of Rustrel, Pays d'Apt, in France (Présentation orale No. i-Dust 2022 Inter-Disciplinary Underground Science and Technology). Avignon. <https://indico.cern.ch/event/1139951/contributions/4859694/>
- Serène, L., Batiot-Guilhe, C., Mazzilli, N., Emblanch, C., Babic, M., Dupont, J., Simler, R., Blanc, M., Massonnat, G., 2022. Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France). *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 26, 5035–5049. <https://doi.org/10.5194/hess-26-5035-2022>
- Staigre, J.C., 1983. Nouvelles plongées à la Fontaine de Vaucluse. *Spelunca* 110–111.
- Tendil, A.J.-B., 2018. Contrôles tectoniques, climatiques et paléogéographiques sur l'architecture stratigraphique de la plateforme carbonatée Urgonienne Provençale (France): Approches sédimentologiques, géochimiques et numériques intégrées (PhD). Université d'Aix-Marseille.
- Tendil, A.J.-B., Frau, C., Léonide, P., Fournier, F., Borgomano, J.R., Lanteaume, C., Masse, J.-P., Massonnat, G., Rolando, J.-P., 2018. Platform-to-basin anatomy of a Barremian–Aptian Tethyan carbonate system: New insights into the regional to global factors controlling the stratigraphic architecture of the Urgonian Provence platform (southeast France). *Cretac. Res.* 91, 382–411. <https://doi.org/10.1016/j.cretres.2018.05.002>

Chapitre 3: Utilisation de la fluorescence de la matière organique naturelle comme traceur naturel : analyse critique de l'utilisation d'indices de fluorescence et du lien entre l'indice d'humification et le temps de transit dans les eaux souterraines karstiques

Sommaire

I. Introduction.....	86
I.1 La matière organique naturelle - du sol à l'aquifère.....	86
I.2 La matière organique fluorescente.....	88
I.3 Utilisation de la fluorescence de la matière organique en milieu aquatique.....	90
I.4 Problématique & objectifs.....	91
II. Méthodologies d'analyses spécifiques à la fluorescence de la matière organique naturelle....	92
II.1 Méthodes d'analyses des échantillons d'eau.....	92
II.2 Utilisation des spectres 2D pour le calcul de l'indice d'Humification (HIX).....	93
II.3 Analyse des matrices d'excitation-émission avec le package staRdom sur R.....	93
II.3.1 Préparation des données, importation et corrections.....	94
II.3.2 Peak Picking et indices.....	95
II.3.3 Modélisation PARAFAC.....	96
III. Indices de fluorescence de la matière organique dans les eaux souterraines et les autres environnements aquatiques: proposition d'amélioration.....	97
III.1 Résumé.....	97
III.2 Fluorescence indices of organic matter in groundwater and other aquatic environments: proposal for improvement.....	98
III.2.1 Introduction.....	99
III.2.1.1 Fluorescence of natural organic matter in water studies.....	99
III.2.1.2 Definition and limits of the indices.....	101
III.2.1.3 Towards a fluorescence indices update.....	102
III.2.2 Dataset and methods.....	103
III.2.3 Limits of the use of fluorescence indices calculated from pre-established peaks position	104
III.2.4 Red flags and ways forwards for fluorescence indices calculation.....	107
III.2.4.1 Using and comparing fluorescence indices from 2D spectras.....	107
III.2.4.2 Calculating fluorescence indices using excitation-emission matrices (EEM)...	109
III.2.5 Conclusion.....	111

IV. Développement d'un indice de fluorescence (Transit Time index - TTi) comme traceur naturel des courts temps de séjour dans les systèmes karstiques.....	113
IV.1 Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France).....	113
IV.2 Etude des variations temporelles des composés fluorescents constituant le TTi aux sources de Millet, St Trinit et la Nesque afin de caractériser leur origine (naturelle, anthropique).....	130
V. Application du TTi au sein d'une zone non saturée karstique non soumise à l'activité anthropique.....	135
VI. Résumé.....	135
V.2. Use of fluorescent organic matter as a natural tracer of transit time. Application to the unsaturated zone of Fontaine de Vaucluse karst system.....	138
V.2.1. Introduction.....	139
V.2.2. Study site and methods.....	140
V.2.2.1. Study site.....	140
V.2.2.2. Sampling and fluorescence analysis methods.....	142
V.2.3. Organic matter sources and fate.....	143
V.2.3.1 Identification of fluorescent organic matter types at the Fontaine de Vaucluse system.....	143
V.2.3.2 Sources and fate of fluorescent organic matter within LSBB hydrosystem.....	148
V.2.4 Consistency of relative transit times derived from fluorescent compounds contents - An assessment at LSBB.....	152
V.2.4.1 Characterization of LSBB flows based on discharge and major elements variations	152
V.2.4.2 Contribution of fluorescent organic compounds to relative transit time assessment at LSBB.....	155
V.2.5. Limits of the use of fluorescent compounds intensity as a transit time tracer and Transit Time Index (TTi) added value.....	157
V.2.6. Conclusion.....	160
VI. Synthèse, conclusion et perspectives.....	162
Annexe 3.1 : Diagramme de Jablonski issu de la thèse de Blondel (2008).....	166
Annexe 3.2 : Protocoles de préparation des flacons d'échantillonnage de la fluorescence de la matière organique.....	167
Annexe 3.3 : Spectre d'émission ($\lambda_{em} = [220 ; 530]$ nm ; intervalles de 1 nm) de l'eau ultra-pure à $\lambda_{ex} = 254$ nm obtenu grâce au spectrofluorimètre Shimadzu RF-5301.....	168
Annexe 3.4 : Calcul de l'indice d'humification à partir de spectre d'émission pour une longueur d'onde d'excitation de 254 nm.....	170
Annexe 3.5 : Principe et application de la méthode de modélisation PARAFAC.....	172
Références.....	177

Liste des tableaux et figures

Tableau 3.1 : Composés organiques fluorescents des eaux naturelles (Coble et al., 2014).	89
Tableau 3.2 : Main characteristics of monitored flow points in Serène et al. (2022) from Batiot, 2002; Blondel, 2008; Emblanch et al., 1998; Lastennet, 1994; Ollivier, 2020 and field observations.	141
Tableau 3.3 : Min, max, mean, standard deviation (SD) and SD/mean values of the organic compounds fluorescence intensity normalized to the water raman : Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan (Trp), Tyrosine (Tyr) for St Trinit (30 samples), Millet (29 samples), Nesque (30 samples) springs and LSBB flows A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples), D (29 samples), AJ (12 samples), from June 2020 to October 2021.	148
Tableau 3.4 : Variation coefficient of electrical conductivity, T _{Ti} , magnesium and discharge for flows A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples), D (29 samples), and AJ (12 samples) from June 2020 to October 2021.	153
Figure 3. 1 : Schéma des formes de carbone dans les eaux : carbone organique total (COT), particulaire (COP) et dissous (COD) d'après (Thurman, 1985).	87
Figure 3. 2 : Matrice d'excitation-émission présentant les principaux fluorophores retrouvés en milieu aquatique d'après (Coble et al., 2014) et localisation des spectres 2D nécessaires au calcul des principaux indices de fluorescence (HIX, BIX et FI) utilisés dans la littérature.	90
Figure 3. 3 : Schéma de l'analyse factorielle parallèle PARAFAC et de l'extraction des indices grâce au package staRdom sur R (Pucher et al., 2019).	94
Figure 3. 4 : Matrice d'excitation-émission 3D décomposée en 5 composantes à l'aide du modèle PARAFAC (Murphy et al., 2013).	96
Figure 3. 5 : Localisation of the sampling point at the Fontaine de Vaucluse karst system in France.	104
Figure 3. 6 : Extraction of 2D emission spectra at different fixed λ_{Ex} from raw EEM in order to calculate a) BIX and b) FI. In both figures, samples considered are: the unsaturated zone flow AJ (August 31th, 2020), Fontaine de Vaucluse outlet (February 1st, 2021) and St Trinit spring (June 16th, 2020). Dashed lines correspond to the emission wavelengths position used in BIX and FI calculation by Huguet et al. (2009) et McKnight et al. (2001).	105
Figure 3. 7 : Identification of the fluorescent compounds of the Fontaine de Vaucluse karst spring water with a) PARAFAC modeling at 4 components ; b) indices positions in literature.	106

Figure 3. 8 : Comparison of HIX calculated with 2D spectra and using staRdom interpolation of the 254 nm excitation wavelength from EEM, for 289 karst water samples. (a) Boxplot; (b) Distribution of the difference between staRdom HIX and 2D spectra for Fontaine de Vaucluse outlet (33 samples), Nesque losses (24 samples), unsaturated zone flows (143 samples) and 3 springs (89 samples).	108
Figure 3. 9 : Identification of the fluorescent compounds of the Fontaine de Vaucluse karst spring water with PARAFAC modeling at 5 components, compared with Coble et al. (2014) peaks.	111
Figure 3. 10 : Boîte à moustache des intensités de fluorescence des composés Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan et Tyrosine ainsi que du TTI aux sources de St Trinit, Millet et de la Nesque.	131
Figure 3. 11 : Chroniques des pluies à St Christol, du débit de fontaine de Vaucluse et du débit, conductivité, magnésium, TTI, et composés fluorescents des sources de St Trinit, Millet et la Nesque.	133
Figure 3. 12 : ACP des échantillons d'eau de la source de la Nesque avec les variables suivantes : TTI et les composés fluorescents, COC, magnésium, silice, sulfates et conductivité électrique. a) représentation des dimensions 1 et 2; b) contribution des variables à chaque dimension.	134
Figure 3. 13 : a) Location of monitored flow points and spring catchments delineation on background of 1:50000 geological map (BD-CHARM from BRGM). Catchments delineation for Millet, St Trinit and Nesque springs were based on mass balance and hydrogeological information ; Catchment delineation of Fontaine de Vaucluse was taken from Ollivier (2020);	142
Figure 3. 14 : Comparison of organic matter components location in EEMs from PARAFAC modeling and literature.	144
Figure 3. 15 : a) Raw excitation emission matrix of St Trinit spring sampled the 1st of february 2021. Intensity in arbitrary unit b) Raw 2D spectra for excitations 290, 300 and 310 nm extracted from a). Intensity in arbitrary unit and same peaks position from Coble et al. (2014) than in Figure 3.14.	145
Figure 3. 16 : Tryptophan and Tyrosine molecules structure.	146
Figure 3. 17 : Representative excitation-emission matrix of the monthly monitoring of LSBB soil leachate from december, 2005 to april, 2008 (modified from Blondel, 2008). a) rendosol found upon the plateau; b) lithosol from the slopes below grass; c) shrub and grass. Samples were collected thanks to lysimetric plates (area of 850 cm ²) and artificial rain. Peaks B, T, M, C and AB, AT, AM and AC are the same as in Figure 3.14, only peaks C and AC are observed.	149
Figure 3. 18 : Conceptual model about the fate of the fluorescent organic compounds from LSBB's flows considering a soil only providing humic-like C organic matter (natural catchment without anthropogenic activities).	151

Figure 3. 19 : Boxplots of discharge ($\text{mL}\cdot\text{s}^{-1}$), electrical conductivity ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), 154
magnesium ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), TOC ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan (Trp
T), Tyrosine (Tyr B), and Transit Time index (TTi) for LSBB's flows from different
depths within the unsaturated zone: A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples),
D (29 samples), AJ (12 samples), from June 2020 to October 2021.

Figure 3. 20 : Discharge time series of the 6 LSBB flows considered compared with 155
rain from the study site a) Flows A, B and D and b) Flows AJ and C.

Figure 3. 21 : Time series of electrical conductivity (CE), discharge, magnesium, TTi, 159
Humic-like C and M, Tryptophan and Tyrosine contents (normalized fluorescence
intensities) for flows A, B, and D from the LSBB. Vertical lines correspond to the
sample number. Periods were separated according to rain frequency and intensity. Dry
periods are periods I (cumulative rainfall = 4mm, $< 0.1 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$), III (cumulative
rainfall = 6.4 mm, $< 0.09 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$) and V (cumulative rainfall = 33 mm, $< 0.5 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$);
wet periods are periods II (cumulative rainfall = 178 mm, $4.1 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$), IV (cumulative
rainfall = 277 mm, $2.0 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$) and VI (cumulative rainfall = 511 mm, $2.9 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$).

Figure 3. 22 : Schéma conceptuel des sources et devenir des composés fluorescents 164
aux écoulements du LSBB ainsi qu'aux sources de Millet, St Trinit et de la Nesque.

I. Introduction

La matière organique se distingue des molécules inorganiques par la présence d'un ou plusieurs atomes de carbone liés entre eux ainsi qu'à d'autres éléments comme l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le soufre le phosphore, le magnésium, le sodium, le potassium, ou encore les halogènes (fluor, chlore, brome, iode ; Duchaufour et al., 2020). La matière organique est présente dans tous les compartiments de l'environnement. Les molécules qui la constituent peuvent être naturelles comme celles issues des débris végétaux et animaux dont l'origine peut également être liée à l'agriculture ou encore l'élevage; ou anthropiques comme les résidus médicamenteux, les pesticides et les rejets organiques liés aux eaux usées (domestiques/urbaines et/ou en lien avec les élevages). Dans les eaux souterraines, la matière organique est étudiée principalement dans trois objectifs: i) identifier, évaluer ou tracer une contamination d'origine anthropique (eaux usées, élevage, décharge ; Jiang et al., 2019; Li et al., 2019; Quiers et al., 2014; Zhang et al., 2021); ii) caractériser l'origine des eaux souterraines (Richards et al., 2019; Rutledge et al., 2015); ou iii) estimer leur temps de séjour (Batiot, 2002; Blondel et al., 2012; Charlier et al., 2010).

I.1 La matière organique naturelle - du sol à l'aquifère

Hors contamination anthropique, la majorité de la matière organique dissoute retrouvée dans les eaux souterraines dérive ou provient directement de celle du sol, elle-même provenant de la végétation en surface. L'activité biologique est à l'origine de la transformation et de la dégradation de la matière organique fraîche constituée principalement de litières, d'organismes morts, et de racines (Duchaufour et al., 2020). Oades et al. (1989) a mis en évidence que la matière organique fraîche contenait de l'ordre de 20% de produits solubles. Par l'action des microorganismes et des êtres vivants, certains processus de transformation peuvent mener à la production d'autres composés solubles. L'ensemble des composés hydrophiles se retrouvent ainsi dans les pores du sol contenant de l'eau.

Le transfert de cette eau du sol vers l'aquifère est régi par la connectivité entre les pores du sol. Différentes études recensées dans la revue de Kalbitz et al. (2000) ont d'ailleurs mis en évidence que l'hydrologie contrôlait le transport de la matière organique depuis sa solubilisation dans le sol jusqu'à l'aquifère (Bracken et al., 2013; Covino, 2017). Worrall et al. (2008) vont même jusqu'à suggérer que la quantité de matière organique dissoute transportée depuis le sol jusqu'au milieu souterrain est plus conditionnée par les conditions

hydrologiques que par la production de matière organique. En effet, l'apport d'eau par les précipitations augmente la connectivité entre les pores du sol contenant de l'eau, permettant à la fois le renouvellement de l'eau du sol et le transfert d'un mélange d'eau du sol et d'eau de pluie jusqu'à l'aquifère.

Tout au long de son transport depuis le sol jusqu'à l'aquifère, la matière organique est susceptible d'être transformée selon différents processus biologiques : l'humification, la dégradation et la minéralisation (Duchaufour et al., 2020). L'humification correspond à la combinaison de différentes molécules en molécules plus complexes, alors que la dégradation est le phénomène inverse : la désagrégation de molécules de taille variable en molécules plus petites. La minéralisation est une forme de dégradation conduisant au relargage de petites molécules inorganiques et d'ions en solution (exemple: NO_3^- , SO_4^{2-} , Mg^{2+}). Humification et dégradation sont antagonistes mais peuvent néanmoins coexister dans un même milieu (Wang et al., 2022). La matière organique est également susceptible de s'adsorber ou se désorber, particulièrement sur les oxydes et hydroxydes de Fe, Al et les argiles (Moore et al., 1992). Le potentiel d'adsorption de la matière organique augmente en présence de noyaux aromatiques, groupements carboxyliques ou encore lorsque les molécules organiques comportent des atomes d'azote et de soufre (McKnight et al., 1992). La désorption des composés organiques dépendra alors de la solution en contact, stabilisant ou non les oxydes et hydroxydes de fer; et de la concentration des composés présents dans la phase aqueuse (Marschner and Kalbitz, 2003).

La quantité de matière organique dans les eaux souterraines peut être estimée par le Carbone Organique Total (COT; Thurman, 1985). Ce COT correspond à la quantité de l'ensemble du carbone organique présent dans la phase aqueuse, soit à la fois le Carbone Organique Particulaire (COP - taille supérieure à $0,45 \mu\text{m}$) et le Carbone Organique Dissous (COD - taille est inférieure à $0,45 \mu\text{m}$). COT et COD se confondent dans les eaux souterraines du fait de la très faible proportion de COP (Thurman, 1985; Figure 3.1)

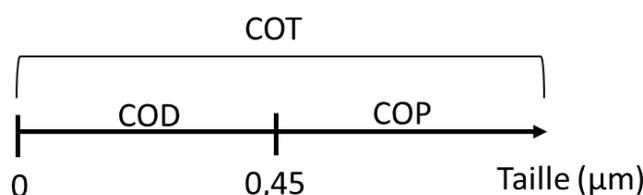


Figure 3. 1 : Schéma des formes de carbone dans les eaux : carbone organique total (COT), particulaire (COP) et dissous (COD) d'après (Thurman, 1985).

I.2 La matière organique fluorescente

Parmi les matières organiques représentées par le COT, une partie seulement est capable d'émettre un signal de fluorescence (Coble, 2014). Le phénomène de fluorescence résulte de l'interaction d'un photon incident avec une molécule dont l'état d'excitation va augmenter (voir diagramme de Jablonski, annexe 3.1). Pour retrouver son état d'excitation initial, la molécule peut vibrer, ou émettre un photon de longueur d'onde différente. Cette différence d'énergie entre photon absorbé et émis s'explique par une première phase de relaxation non radiative, à laquelle succède la relaxation radiative qui constitue la fluorescence. La fluorescence de la matière organique dépend ainsi de la capacité de la molécule à vibrer, aptitude dépendante de sa structure. En effet, la vibration n'est possible qu'au niveau d'atomes reliés par des liaisons simples. Ainsi, les liaisons conjuguées et les noyaux aromatiques fréquents dans les matières organiques rigidifient leur structure rendant impossible toute vibration (Coble, 2014). Le décalage entre la longueur d'onde du photon émis par fluorescence et celle du photon incident varie selon les molécules en fonction de sa capacité à vibrer, permettant ainsi de caractériser différentes structures et familles de composés organiques (Hudson et al., 2007).

La représentation usuelle de la signature en fluorescence d'un échantillon se fait par le biais de spectres 2D (spectres d'émission à longueur d'onde d'excitation fixe) ou de matrices 3D aussi appelées matrices d'excitation-émission (EEM). Dans les milieux aquatiques, différentes familles de composés fluorescents, aussi appelés fluorophores, ont pu être identifiés et se regroupent en deux grandes familles : les composés plutôt complexes aux grandes longueurs d'ondes d'émission ou humic-like, et les composés plus simples ou protein-like (Tableau 3.1; Coble et al., 2014). Parmi les matières organiques de type humic-like, on retrouve deux groupes : les composés de type C, et les composés de type M. Les composés humic-like C sont généralement observés sous la forme de deux pics A_C et C (Figure 3.2). Ils ont les longueurs d'onde d'émission les plus importantes car ils sont en partie composés de dérivés de la lignine, matière organique végétale très complexe retrouvée dans le sol puisque les humic-like C dérivent directement de la matière organique fraîche. La provenance des composés humic-like C dans les eaux souterraines est ainsi attribuée au sol (Coble et al., 2014). Les humic-like de type M sont aussi généralement observés sous la forme de deux pics A_M et M, à des longueurs d'onde d'émission un peu plus faibles que les humic-like C. Au départ observés en environnement marin (Coble, 1996), puis dans des eaux

douces (Stedmon and Markager, 2005a), les composés humic-like M dérivent de la complexation de résidus de l'activité biologique (Parlanti et al., 2000). Ils peuvent ainsi être autochtones et produits au sein de l'hydrosystème et/ou allochtones et avoir été transportés depuis le sol ou d'autres milieux (eaux de surface) avant de s'infiltrer au sein de l'aquifère.

Composé organique	Nom du pic	Excitation/Emission (nm)
Tyrosine-like protein-like	A _B	230/305
	B	275/305
Tryptophan-like protein-like	A _T	230/340
	T	275/340
Humic-like M	A _M	240/350-400
	M	290-310/370-420
Humic-like C	A _C	260/400-460
	C	320-365/420-470

Tableau 3.1 : Composés organiques fluorescents des eaux naturelles (Coble et al., 2014).

Les composés protein-like sont des composés simples aux longueurs d'ondes d'émission faibles (Figure 3.2). Le Tryptophane est souvent observé sous la forme de deux pics, T et A_T; tout comme la Tyrosine (B et A_B). Tous deux dérivent directement de l'activité biologique et peuvent à la fois être produits dans le sol et dans l'aquifère, ou bien provenir d'une contamination d'origine anthropique (Coble, 2014). Les composés protein-like ont un plus faible potentiel d'adsorption et un potentiel de biodégradabilité plus important du fait d'un nombre plus limité de noyaux aromatiques (McKnight et al., 1992). Cela favorise leur biodégradation, contrairement aux composés humic-like. En effet, les noyaux aromatiques font partie des structures organiques les plus stables, dont la dégradation n'est possible que par peu de microorganismes et dans des conditions très spécifiques difficilement atteintes dans les aquifères (Gibson, 1968).

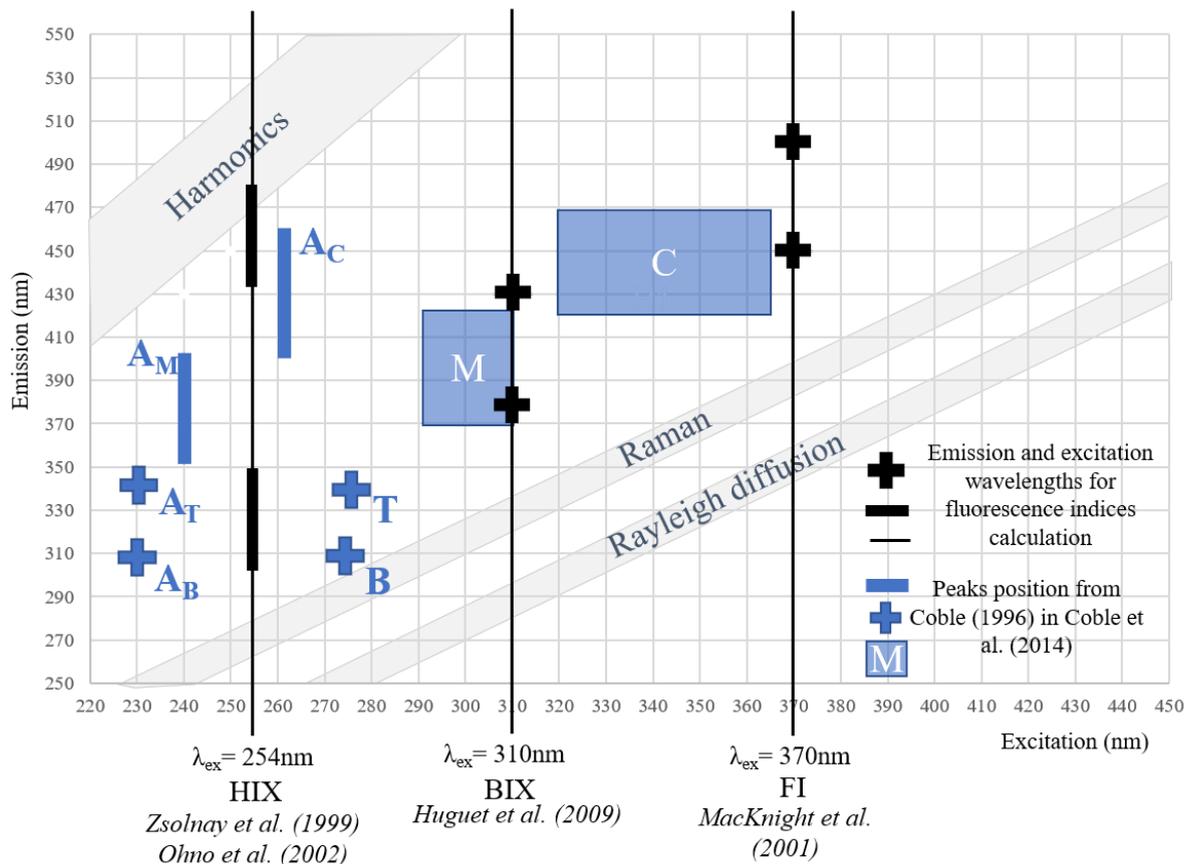


Figure 3. 2 : Matrice d'excitation-émission présentant les principaux fluorophores retrouvés en milieu aquatique d'après Coble et al. (2014) et localisation des spectres 2D nécessaires au calcul des principaux indices de fluorescence (HIX, BIX et FI) utilisés dans la littérature.

I.3 Utilisation de la fluorescence de la matière organique en milieu aquatique

La fluorescence de la matière organique peut être caractérisée de différentes manières, souvent combinées : i) via les spectres 3D ou matrices d'excitation-émission (EEM), ou ii) en utilisant des indices de fluorescence calculés à partir de spectres 2D (Gabor et al., 2014).

Les matrices d'excitation-émission permettent de caractériser les familles de composés organiques présents, par comparaison de la localisation des différents pics de fluorescence (intensités maximales d'excitation et d'émission) à une base de données de référence, en général celle de Coble (1996). Elle peut se faire par identification manuelle (pointage), ou via des procédures automatiques (utilisant par exemple les logiciels d'analyse statistique les plus usuels R et matlab). D'autres procédures automatisées permettent d'extraire les fluorophores indépendants des matrices 3D, par exemple par analyse factorielle comme le propose la méthode PARAFAC (Murphy et al., 2013; voir partie II.3.3).

Les indices de fluorescence correspondent à des ratios d'intensité de fluorescence mesurés à des longueurs d'onde d'émission spécifiques de spectres 2D. Les plus fréquemment utilisés sont l'**indice d'humification HIX** ayant pour objectif d'estimer le degré d'humification de la matière organique (Ohno, 2002; Zsolnay et al., 1999); l'**indice biologique BIX** ayant pour objectif d'estimer la quantité de matière organique autochtone (Huguet et al., 2009); et l'**indice de fluorescence FI** qui a pour but d'identifier les précurseurs des humic-like (sol ou microbien ; McKnight et al., 2001; voir partie III).

I.4 Problématique & objectifs

Le potentiel de l'étude de la fluorescence de la matière organique pour améliorer la compréhension des hydrosystèmes n'est plus à prouver ; cependant son utilisation pourrait être améliorée. Par exemple, la revue critique de D'Andrilli et al. (2022) met en évidence un chevauchement des valeurs de HIX et FI des différents compartiments de l'environnement. Ce chevauchement est attribué à l'interconnection et aux échanges de flux d'eau et de matière entre ces derniers, mais il pourrait également être le reflet de l'inadaptation des méthodes de calcul des indices. En effet, un décalage des longueurs d'onde d'émission des fluorophores est souvent observé d'un site à l'autre, et d'un type de milieu aquatique à l'autre (eau douce, marine, eau du sol; Baker and Genty, 1999; Conmy et al., 2009). L'utilisation de fenêtres prédéfinies pour le calcul des indices de fluorescence comme pour l'identification automatique des composés fluorescents peut être ainsi remise en cause étant donné que la position exacte des fluorophores caractérisant une même famille de composés organiques varie d'un compartiment du cycle hydrologique à un autre (eau du sol, eau douce, eau marine). Ce décalage est principalement observé pour les composés de type humic-like et est lié aux différents types de précurseurs de ces composés d'origine microbienne ou du sol (Coble et al., 2014). Cependant, les fenêtres d'excitation-émission prédéfinies, notamment pour le calcul des indices de fluorescence, sont utilisées dans tous les compartiments du cycle hydrologique. Par exemple, bon nombre d'études utilisent le HIX de Zsolnay et al. (1999) calibré pour des eaux du sol sur des eaux souterraines (Hu et al., 2023; Jiang et al., 2019; Nelson et al., 2015; Zheng et al., 2020), notamment celle de Blondel et al. (2012) proposant une relation entre cet indice et le temps de transit.

L'objectif de ce chapitre de thèse est ainsi d'améliorer les méthodes d'utilisation de la fluorescence de la matière organique dans les eaux souterraines et de proposer une amélioration de l'utilisation des indices de fluorescence. Pour cela, après avoir présenté les

méthodes utilisées dans le cadre de ce travail et les corrections nécessaires (partie II), ce chapitre questionnera l'utilisation actuellement faite des trois principaux indices de fluorescence HIX, BIX et FI (partie III). Ensuite, une attention particulière sera apportée à l'une des utilisations du HIX, liée au temps de séjour par Blondel et al. (2012), et aboutira à une proposition d'amélioration de cette approche par le biais d'un nouvel indice appelé le Transit Time index (TTi - partie IV). Enfin, le TTi sera testé en milieu non saturé et non anthropisé par le biais des écoulements du LSBB. La conclusion de ce chapitre propose quelques perspectives d'utilisation de la fluorescence de la matière organique.

II. Méthodologies d'analyses spécifiques à la fluorescence de la matière organique naturelle

II.1 Méthodes d'analyses des échantillons d'eau

Les échantillons d'eau prélevés pour l'analyse de la fluorescence de la matière organique doivent être conditionnés dans des flacons préalablement décontaminés selon le protocole décrit en annexe 3.2. L'analyse se fait sur l'eau brute (non filtrée) au plus tard 48h après son prélèvement. L'échantillon est versé dans une cuve en quartz spécifique soigneusement rincée entre chaque analyse (trois fois à l'eau ultra pure, 3 fois à l'éthanol, puis de nouveau trois fois à l'eau ultra-pure).

Le spectrofluorimètre utilisé au laboratoire HydroSciences Montpellier est un SHIMADZU RF-5301. Il permet de mesurer des longueurs d'onde de 220 à 750 nm (λ_{em}) et d'en émettre de 220 à 900 nm (λ_{ex}) grâce à une source lumineuse de 150W de type Xenon via le logiciel LabSolutions RF.

La calibration de l'appareil s'articule autour de trois grandes étapes: (i) réaliser le blanc de la machine en vérifiant que l'intensité de fluorescence de l'eau MilliQ pour $\lambda_{ex} = 500$ nm et $\lambda_{em} = 350$ nm soit entre 0,2 et 0,7 (recommandations du constructeur) ; (ii) Mesurer le Raman de l'eau grâce à un spectre 2D ($\lambda_{ex} = 350$ et 348 nm ; $\lambda_{em} = [220 ; 450]$ nm) pour vérifier que l'intensité du pic soit comprise entre 10 et 15 ua (unité arbitraire); (iii) Mesurer le bruit de fond de l'appareil afin de vérifier sa linéarité.

A l'issue de la calibration, il est possible de réaliser des matrices 3D et des spectres 2D pour chacun des échantillons selon des méthodes d'analyses préalablement établies par l'utilisateur, sans oublier de réaliser un blanc pour chaque journée d'analyse avec de l'eau

ultra-pure qui sera utilisé ultérieurement pour corriger les spectres EEM obtenus (voir partie II.3.1). Les matrices 3D, ou matrices d'excitation-émissions sont réalisées avec le paramétrage suivant : $\lambda_{\text{ex}} = 220$ à 450 nm (intervalle de 10 nm), $\lambda_{\text{em}} = 250$ à 550 nm (intervalle de 1 nm). Les spectres 2D réalisés dans le cadre de ce travail permettent de calculer l'indice d'humification HIX, ont été analysés comme suit : $\lambda_{\text{ex}} = 254$ nm et $\lambda_{\text{em}} = [220 ; 530]$ nm (intervalles de 1 nm). Les spectres pour calcul du HIX ne subissent pas de soustraction du blanc car le spectre HIX de l'eau ultra-pure est négligeable (annexe 3.3).

II.2 Utilisation des spectres 2D pour le calcul de l'indice d'Humification (HIX)

Afin de calculer l'indice d'humification de manière systématique pour les échantillons du suivi bi-mensuel 2020-2021, un code a été créé sur R. Le package ou « boîte à outil » utilisé est Tidyverse. Il s'agit d'un package permettant de réaliser des traitements de données usuels. Le code créé permet d'importer les données, tracer et sauvegarder les spectres et calculer l'indice d'humification HIX pour l'ensemble des fichiers présents dans un dossier (code en annexe 3.4).

L'indice d'humification est obtenu par la méthode de Ohno (2002) grâce à L et H qui correspondent à des intégrales sous la courbe d'émission obtenue à 254 nm d'excitation entre des longueurs d'onde d'excitation précises, à savoir $\lambda_{\text{em}} = [300 ; 345]$ pour L et $\lambda_{\text{em}} = [435 ; 480]$ pour H (Figure 3.2 et chapitre 1, partie II.4.2). Ces intégrales sont calculées avec la méthode des trapèzes qui correspondent finalement à deux fois la somme des intensités comprises dans l'intervalle de longueurs d'ondes choisies ; somme à laquelle on retire la première et la dernière valeur d'intensité. Le HIX correspond alors à $H/(L+H)$.

II.3 Analyse des matrices d'excitation-émission avec le package staRdom sur R

Pour traiter les matrices d'excitation-émission, il est possible d'utiliser différents logiciels de traitement statistiques, parmi les plus communs se trouvent Matlab avec sa toolbox drEEM (Murphy et al., 2013) et R avec le package staRdom (Pucher et al., 2019; [PARAFAC analysis of EEM data to separate DOM components in R](#)). R étant un logiciel libre de droit, notre choix s'est naturellement porté vers cet outil. StaRdom est une combinaison des packages nécessaires à la préparation et au traitement des données en faisant appel aux packages eemR (pré-traitement des données) et multiway (calcul du modèle

PARAFAC), auxquels ont été ajoutés d'autres fonctionnalités telles que la représentation de graphiques, statistiques, calculs additionnels comme le peak picking (voir Figure 3.3, Pucher et al., 2019). L'ensemble des données de fluorescence 3D utilisées dans le cadre de cette thèse a ainsi été traité grâce aux fonctions proposées par le package staRdom.

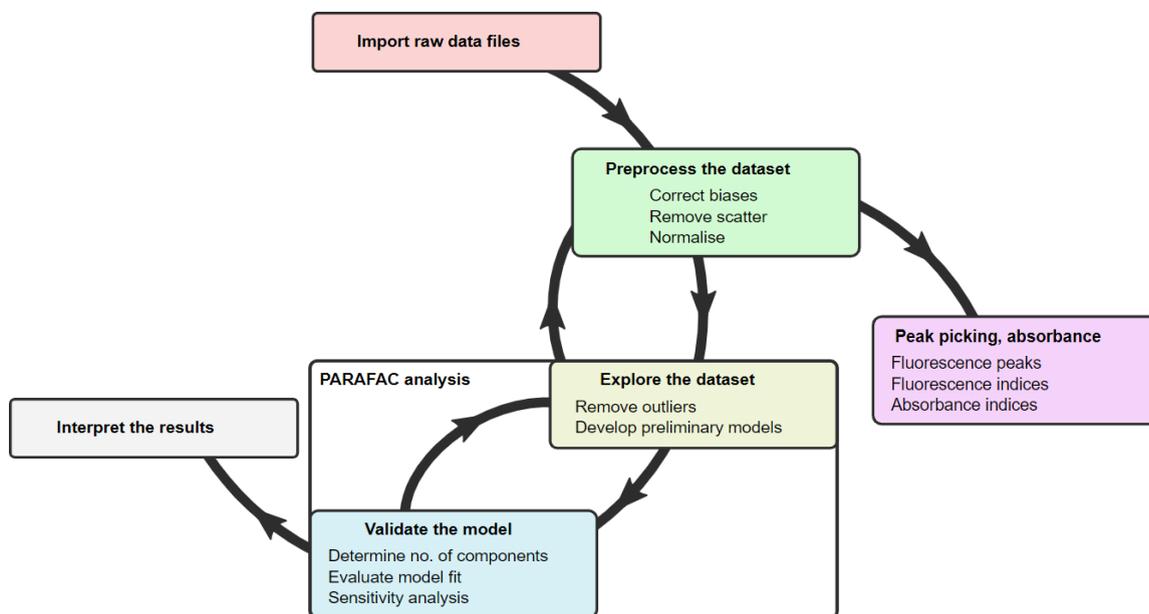


Figure 3. 3 : Schéma de l'analyse factorielle parallèle PARAFAC et de l'extraction des indices grâce au package staRdom sur R (Pucher et al., 2019).

II.3.1 Préparation des données, importation et corrections

La préparation des données est une étape nécessaire avant tout traitement des données. Cette préparation consiste ici à un ensemble de corrections visant à éliminer les rayonnements parasites qui ne relèvent pas de la matière organique naturelle. Parmi ces rayonnements parasites on retrouve le Raman de l'eau, la dispersion de Rayleigh, la diffusion de Tyndall et les harmoniques (Zepp et al., 2004; Figure 3.2).

Le **Raman de l'eau** correspond à la diffusion du rayonnement d'excitation de l'appareil par les molécules d'eau. Ce rayonnement se traduit par des bandes de fréquences qui dépendent du solvant et de la longueur d'onde d'excitation. Ainsi, pour l'étude de la matière organique dans les eaux souterraines, il faut soustraire une EEM d'eau ultrapure à chaque échantillon. L'influence du Raman de l'eau est d'autant plus importante que la concentration en soluté fluorescent est faible (Coble, 1996; Zepp et al., 2004). Le package staRdom sur R permet de le corriger grâce à la fonction `eem_remove_blank`. Ensuite, la fonction `eem_raman_normalisation2` permet de normaliser le Raman de l'eau entre des analyses

spectroscopiques réalisées sur différents appareils, différents paramétrages, ou différentes journées d'analyses sur un même appareil. Cette normalisation à une unité standard du Raman est faite en divisant toutes les intensités par l'intégrale du pic du Raman de l'échantillon d'eau ultra-pure ($\lambda_{\text{ex}} = 350 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = [371 ; 428] \text{ nm}$; Lawaetz and Stedmon, 2009).

La **dispersion de Rayleigh** correspond à la diffusion du rayonnement d'excitation par les molécules en solution dans toutes les directions et sans modification de longueur d'onde d'excitation. Cette dispersion peut être importante et altérer le signal de fluorescence si l'intensité de fluorescence des substances est faible par rapport à la longueur d'onde d'excitation.

La **diffusion de Tyndall** correspond à la diffusion du rayonnement d'excitation par des molécules en suspension, sans modification de longueur d'onde d'excitation. Les effets de cette diffusion sont les mêmes que la dispersion de Rayleigh (Rouessac and Rouessac, 1998). Des **harmoniques** apparaissent également sur les matrices d'excitation-émission. La fonction `eem_rem_scatter` permet de retirer des bandes dont la largeur est définie au préalable par l'utilisateur et correspondant à la dispersion de Rayleigh, à la diffusion de Tyndall et aux harmoniques. La fonction `eem_interp` permet ensuite d'interpoler les données au niveau des bandes qui ont été retirées.

La prise en compte de la dilution des échantillons d'eau est facilitée par la fonction `eem_dilution`, faisant appel à une table de métadonnées que l'utilisateur crée avec le nom des fichiers à traiter, leur localisation, et le facteur de dilution. Enfin, la fonction `eem_smooth` permet de lisser les données, ce qui peut être bénéfique pour le peak picking, mais n'est pas conseillé pour la création d'un modèle PARAFAC afin de limiter les biais de l'analyse statistique.

II.3.2 Peak Picking et indices

Le peak picking permet de caractériser la matière organique fluorescente présente dans les échantillons. Cela consiste à identifier le maximum de fluorescence à des longueurs d'ondes prédéfinies ou dans des plages de longueurs d'ondes afin d'identifier les composés organiques présents (Aiken, 2014). Dans le cadre de cette thèse, ce travail a d'abord été réalisé manuellement sur plus de 10% du set de données acquis (une trentaine de matrices d'excitation-émission), en identifiant plus de 80 fluorophores représentant 7 familles différentes de composés organiques. Cela a servi à déterminer précisément les fenêtres

d'excitation-émission à utiliser avec la fonction `eem_peaks` de `staRdom` pour extraire les intensités maximales au sein de chacune d'entre elles dans les matrices EEM. Cependant, la procédure `staRdom` étant automatisée, l'intensité maximale relevée au sein de ces fenêtres ne reflétait pas toujours la présence d'un fluorophore, c'est pourquoi ces résultats ne seront pas considérés dans la suite de ce travail. Néanmoins, les fenêtres pré-établies ont servi à valider le modèle PARAFAC obtenu qui sera abordé dans la partie suivante.

Le package `staRdom` permet également de calculer les indices de fluorescence les plus couramment utilisés, à savoir le BIX (Fellman et al., 2010; Huguet et al., 2009), le FI (McKnight et al., 2001) et le HIX (Ohno, 2002). Lorsque la longueur d'onde d'excitation 254 nm n'est pas disponible dans les EEM, `staRdom` propose une interpolation entre les 2 spectres d'émission disponibles dans la matrice EEM, pour les λ_{Exc} encadrant la λ_{Exc} de 254 nm. Ces trois indices ont été calculés grâce à ce package, la longueur d'onde d'excitation 254 nm a ainsi été interpolée entre 250 et 260 nm.

II.3.3 Modélisation PARAFAC

La méthode PARAFAC est une méthode d'analyse factorielle appliquée aux matrices d'excitation-émission. Elle extrait des fluorophores indépendants à partir des matrices d'excitation-émission en 3 dimensions (Figure 3.4; Murphy et al., 2013). Le package `staRdom` permet de calculer des modèles PARAFAC grâce à diverses fonctions en suivant plusieurs étapes détaillées en annexe 3.5.

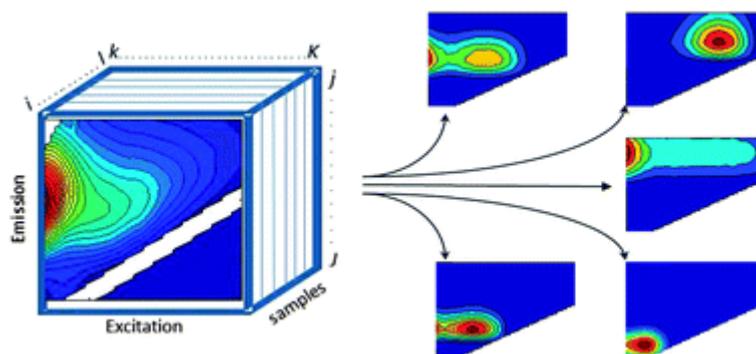


Figure 3. 4 : Matrice d'excitation-émission 3D décomposée en 5 composantes à l'aide du modèle PARAFAC (Murphy et al., 2013).

III. Indices de fluorescence de la matière organique dans les eaux souterraines et les autres environnements aquatiques: proposition d'amélioration

III.1 Résumé

Les trois principaux indices de fluorescence sont l'indice de fluorescence FI, l'indice d'humification HIX, et l'indice biologique BIX. Tous trois ont été développés dans des eaux d'environnements différents, respectivement eau douce (McKnight et al., 2001), eau du sol (Zsolnay et al., 1999), et eau de mer (Huguet et al., 2009). Cependant, ces indices sont parfois appliqués sur des eaux différentes de celles pour lesquelles ils ont été développés, ce qui peut être une source d'erreur non négligeable dans leur détermination. En effet, l'intensité nécessaire au calcul de ces indices est supposée correspondre au maximum d'intensité de fluorescence de chaque famille de composés. La localisation de cette intensité maximale est fixée à des longueurs d'ondes précises dans la définition de ces indices. Un décalage de la localisation de l'intensité maximale de fluorescence est pourtant possible (diminution de la longueur d'onde d'émission depuis le sol, les eaux de surface et souterraines jusqu'aux eaux marines; Baker and Genty, 1999; Conmy et al., 2009).

L'un des premiers objectifs de l'article (en préparation) présenté ci-après, est tout d'abord d'évaluer la cohérence des longueurs d'ondes utilisées pour le calcul de ces indices avec les échantillons d'eaux souterraines prélevés dans le cadre de cette thèse. Ce travail met en évidence un décalage qui prouve que la transférabilité de ces indices d'un environnement aquatique à l'autre et même d'un site à l'autre peut être compromise. Une liste de précautions à prendre lorsqu'on utilise des indices de fluorescence prédéfinis a ainsi été élaborée. Cette liste rappelle d'abord l'importance de respecter les conditions d'utilisation des indices de fluorescence, notamment en montrant que l'interpolation de certaines longueurs d'ondes d'excitation (en l'occurrence 254 nm pour le calcul du HIX) peut engendrer une surestimation de l'indice. Elle met également l'accent sur la nécessité de s'assurer que la méthode est applicable en vérifiant la cohérence des longueurs d'ondes préconisées des composés fluorescents observés sur les échantillons testés. Pour l'interprétation des résultats, il est capital d'avoir une idée de l'origine et du devenir des composés fluorescents, notamment pour le BIX. En effet, cet indice attribue les composés humic-like M à une production

autochtone, alors qu'en cas de contamination anthropique elle peut être allochtone (Coble, 2014).

L'essor de l'utilisation des matrices d'excitation-émission (3D) pourrait être la clé de l'amélioration de ces indices, construits à partir de spectres 2D, puisqu'elles permettent l'identification de l'ensemble des composés fluorescents, notamment par le biais des modélisations PARAFAC. Différentes études ont déjà proposé leurs propres indices basés sur les intensités maximales des composantes PARAFAC (Jiang et al., 2019; Yang et al., 2020), mettant clairement en évidence le besoin d'actualiser les méthodes de calcul des indices de fluorescence. Cette amélioration pourrait se faire en proposant des gammes de longueurs d'onde d'émission plutôt que des valeurs fixes lorsqu'on utilise des spectres 2D. Un autre moyen serait d'utiliser les composés fluorescents résultant des modélisations PARAFAC afin que les indices soient adaptés à chaque site d'étude.

Les résultats de l'étude présentée dans l'article ci-après visent ainsi à questionner l'ensemble des utilisateurs des indices de fluorescence sur les méthodes de calculs. Cette étude encourage à repenser les indices de fluorescence, particulièrement en utilisant pour leur calcul les poids des composés PARAFAC plutôt que l'intensité des pics.

III.2 Fluorescence indices of organic matter in groundwater and other aquatic environments: proposal for improvement

Leïla Serène¹, Naomi Mazzilli², Christelle Batiot-Guilhe¹, Christophe Emblanch², Milanka Babic², Julien Dupont², Roland Simler², Matthieu Blanc, Gérard Massonnat³

¹HSM, Univ Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier, France

²UMR 1114 EMMAH (AU-INRAE), Université d'Avignon, 84000 Avignon, France

³TotalEnergies, CSTJF, Avenue Larribau, CEDEX 64018 Pau, France

Abstract

Fluorescence indices are particularly well adapted to characterize dissolved organic matter. In environmental studies, the three most often used fluorescence indices are the Fluorescence index (FI), the Humification index (HIX) and the Biological index (BIX). These three indices were developed in different aquatic environments, respectively stream/riverine (McKnight et al., 2001), soil (Zsolnay et al., 1999) and marine (Huguet et al., 2009) waters. These indexes are based on ratios of intensities corresponding to specific organic matter compounds families at specific emission wavelengths from 2D spectra at defined excitation wavelengths. Two main remarks can be made regarding the use of these indexes. First, they

are often applied in aquatic environments different from those where they were developed. However, the specific emission wavelengths used to calculate fluorescence indices are based on the location of the maximal intensity of fluorescent compounds families which is likely to be blue-shifted (shifted towards shorter emission wavelength) along the water cycle (from soil, surface, ground, to marine waters; Baker and Genty, 1999 and Conmy et al., 2009 in Coble et al., 2014). For example, previous study from (Serène et al., 2022) put into relief the inadequacy of soil's excitation and emission wavelengths used to calculate HIX in groundwater (Zsolnay et al., 1999). Second, they are defined on 2D spectras, while excitation-emission matrices (EEM - 3D matrices) are becoming more widespread and allow, thanks to PARAFAC modeling, the identification of specific maximal fluorescence intensities related to fluorescent compounds families. EEM may thus have the potential to better assess the relative concentrations of organic matter compounds families, and thus the ratios between these compounds. Indeed, several recent studies developed their own fluorescence indices based on PARAFAC components (Li et al., 2019; Serène et al., 2022; Yang et al., 2020) putting into relief the need for a methodological update of fluorescence indices calculation. The present study addresses the above-mentioned methodological issues related to the calculation of fluorescence indices. First, we put into relief the inadequacy of the wavelengths required to calculate BIX and FI for groundwater. A list of points to pay particular attention to when calculating fluorescence indexes is proposed, highlighting the need for knowledge of fluorescent compounds sources in the water samples studied. Second, we propose to update fluorescence indices calculation by identifying specific ranges of excitation and emission wavelengths for each aquatic environment (freshwaters, soil and marine waters), or using fluorescence indices derived from PARAFAC components. Finally, the results of this study warn against unsupervised calculation of most usual fluorescence indices. It also greatly encourages the rethinking of fluorescence indices, particularly by considering the PARAFAC components loadings or weights instead of peaks.

III.2.1 Introduction

III.2.1.1 Fluorescence of natural organic matter in water studies

Fluorescence of natural organic matter was first developed as a tool that would improve the identification and classification of fluorescent organic compounds from soils, composts and sludges (Miano and Senesi, 1992; Senesi, 1990; Senesi et al., 1991). Indeed, organic matter corresponds to an assembly of carbon and hydrogen whose complexity (e.g.

presence of conjugated bonds or aromatic nuclei) is associated with higher emission wavelength (Ewald et al., 1988; Zsolnay et al., 1999). For example, in aquatic environments Coble (1996) identified 5 types of fluorescent compounds (A, B, C, M and T). A, C and M correspond to complex fluorescent molecules having high emission wavelength (humic-like compounds) while B (Tyrosine) and T (Tryptophan) are simpler molecules with shorter emission wavelength (protein-like compounds). In order to facilitate the fluorescence of natural organic matter interpretation in both soil and water, several fluorescence indices were developed (Gabor et al., 2014). The most widely used are the biological index (BIX, Huguet et al., 2009), the fluorescence index (FI, McKnight et al., 2001) and the humification index (HIX, Zsolnay et al., 1999). These three fluorescence indices are most frequently interpreted in combination with the aim to characterize dissolved organic matter. Indeed, they allow the qualitative assessment of fluorescent compounds sources (BIX: autochthonous or allochthonous; FI: humic-like soil or microbial precursors) and of the decomposition/humification state (HIX). These parameters vary from one water type to the other according to biological activity, organic matter sources (anthropogenic / natural, fresh organic matter derived/ microbiological derived) and residence time (degradation and mineralisation of organic matter). Applications of these indices cover many fields of research. For example in the field of marine biology, Nelson et al. (2015) show that the signature of submarine springs of Hawaii and other Pacific high islands is depleted in dissolved organic matter and enriched in nutrients, which indicates that groundwater is a key parameter to algal and benthic coral development of nearshore reefs. In hydrogeology, fluorescence indices are often used to assess the contamination of water by organic pollutants. For example, they are used by Zhang et al. (2021) to identify contamination by livestock farming in a sandstone aquifer of northwest China, as this contamination enhances microbially derived organic matter and degree of aromaticity. An application to the study of the migration and evolution of contamination of groundwater by leachates is found in Jiang et al. (2019). Organic matter is also a key parameter to study non-organic anthropogenic contaminants as it can easily adsorb and desorb contaminants, and therefore facilitate their transport. Mobilization of organic colloids in a cave was thereby studied by Liao et al. (2021) with the view to preserve karst groundwater from anthropogenic contamination. Trace metals such as Arsenic are very likely to be sorbed on organic matter, and as organic matter they are particularly sensitive to biological activity which plays an important role in trace metals mobilization (Guo et al., 2019; Mladenov et al., 2010). Therefore, numerous studies also use fluorescence indices in

order to assess and understand groundwater contamination by trace metals (e.g. Kulkarni et al., 2017; Li et al., 2019; Schittich et al., 2018; Yang et al., 2020).

III.2.1.2 Definition and limits of the indices

The **Humification index HIX** is a commonly used parameter in soil sciences which assesses soil maturity. Humification corresponds to the complexation of organic matter. This process increases the number of conjugated bonds and aromatic nuclei, and therefore lengthens the emission wavelength (Duchaufour et al., 2020). Zsolnay et al. (1999) proposed a way to assess HIX using a 2D spectra (excitation 254 nm). HIX is thus defined as the ratio of the integral under the intensity curve corresponding to heavy organic matter (peak C) to the one corresponding to light organic matter (peaks B and T). Even though this method of calculation was calibrated on soil waters, Zsolnay et al. (1999) definition is the most frequently used in water studies (Gabor et al., 2014). However, the selected emission and excitation wavelengths may prove inconsistent with the location of peaks C, B and T in excitation emission spectra from groundwater (Serène et al., 2022) which poses a challenge for the transferability of the method from one aquatic environment to another (soil, surface, ground or marine waters).

The **Fluorescence index FI** was first proposed by McKnight et al. (2001) in order to identify the different precursors of humic-like compounds. It is based on the fact that humic-like substances derived from soil or plants have higher carbon to nitrogen ratio and higher aromaticity and therefore longer emission wavelength than the ones deriving from microbial material because of the presence of lignin as precursor (Aiken et al., 1996; McKnight et al., 1994). As HIX, FI is calculated from a 2D spectra (excitation 370 nm). It corresponds to the ratio of intensity at maximal and minimal emissions wavelengths of peak C. It aims to assess whether peak C is shifted towards higher (soil organic matter precursors) or shorter (microbial products precursors) emission wavelengths. This index was calibrated on stream and riverine waters. However, the emission wavelengths selected (450 and 500 nm, McKnight et al., 2001) do not match the peak C emissions wavelengths commonly referenced in aquatic environments (420 to 460 nm) summarized by Coble et al. (2014). As HIX, the transferability of this method to other aquatic environments may also be questioned.

The **biological index (BIX**, initially named freshness index) was developed to identify microbial influence on dissolved organic matter in marine environments (Parlanti et al., 2000). According to these authors, peaks M and B correspond to autochthonous organic compounds produced by biological activity in water, while peak C corresponds to

allochthonous compounds produced in soil from fresh organic matter such as lignin. The ratio M/C is thus considered as a proxy of the relative quantity of organic matter recently produced by microbial activity in marine and estuarine waters. Low values are interpreted as resulting from relatively low autochthonous organic matter production, while high values are supposed to stem from relatively high biological activity resulting in greater autochthonous production. Huguet et al. (2009) proposed to calculate BIX thanks to a 2D spectra (excitation wavelength 310 nm) using the ratio of intensities at emission wavelengths corresponding to peaks M and C. Even if peak M is rarely found in natural waters (Coble et al., 2014), BIX is often used in such environments (Cao et al., 2023; Jiang et al., 2019; Lee et al., 2019). Furthermore, the correct interpretation of this index requires a correct model of the sources and fates of M and C compounds. Indeed, interpretation of BIX proposed by Parlanti et al. (2000) assumes autochthonous production of peak M and allochthonous production of peak C. However, humic M may be produced in contaminated surface water, and then be considered as allochthonous in a groundwater body with recharge from these contaminated surface water. The index interpretation may also have to account for the mixing of different types of waters.

III.2.1.3 Towards a fluorescence indices update

The fluorescent indices based on 2D spectra were developed in different aquatic environments, respectively stream/riverine (FI), soil (HIX) and marine (BIX) waters whereas they are frequently used in compartments of the water cycle different from those in which they were developed. For example, the critical review from D'Andrilli et al. (2022) put into relief an overlap of indices value from one aquatic compartment of the environment to the other for HIX and FI. Such overlap is attributed to aquatic compartment interconnection, but to some extent, it could also result from the inadequacy of the method used to calculate fluorescent indices. Indeed, a shift of the emission wavelengths of some fluorescent compounds (at least peaks C and A_C) is commonly observed between waters from different aquatic compartments of the environment (soil, surface, ground, marine waters ; (Baker and Genty, 1999; Conmy et al., 2009). It is therefore very likely that FI, BIX and HIX, as they are based on emission wavelengths characteristics from peak C, may prove inadequate when applied to other aquatic compartments of the environment than the one they were calibrated for. This inadequacy was already put into relief for HIX from Zsolnay et al. (1999) applied to groundwater by Serène et al. (2022). As done for HIX by Serène et al. (2022), the present study will first assess the relevance of BIX and FI pre-established excitation and emission wavelengths for a karst groundwater dataset.

The rise of excitation-emission matrices (EEM) leads to the decline of 2D spectra analysis. This technological evolution has a side effect especially for HIX calculation as the 254 nm excitation wavelength is not systematically measured in the 5 nm excitation intervals of EEM (Pucher et al., 2019). Interpolation of EEM to the missing excitation wavelengths is possible using e.g. statistical tools such as staRdom package in R (Pucher et al., 2019). The second aim of the present study is to illustrate the eventual impact of this interpolation from EEM.

Recent studies from Li et al. (2019) and Yang et al. (2020) complete the usual fluorescence indices by their own indices based on the PARAFAC component of the sample's EEM in order to further characterize the nature of dissolved organic matter. The proposed indices are the protein to humic index (PHI) calculated as the ratio of the maximum fluorescence intensities of protein-like to humic-like compounds; and the microbial to terrestrial index (MTI) calculated as the ratio of the sum of microbially-derived to the terrestrially-derived compounds. These two lastly cited studies illustrate the increasing questioning of the 2D-spectra based fluorescence indices developed before the rise of EEM and PARAFAC models. The final aim of this study is to suggest some possible ways for updating fluorescence indices.

III.2.2 Dataset and methods

289 karst water samples were taken from June 2020 to October 2021 at bi-monthly time step in springs of the Fontaine de Vaucluse observatory belonging to [SNO KARST](#) (St Trinit, Millet, Nesque, Fontaine de Vaucluse outlet), in unsaturated zone flows (thanks to the LSBB galleries <https://lsbb.cnrs.fr>), and at the outlet of a lake (Nesque losses, see Figure 3.5). 2D spectras ($\lambda_{em}=[220;530]$ nm; interval = 1 nm and $\lambda_{ex}= 254$ nm) were performed at the laboratory of HydroSciences Montpellier thanks to a SHIMADZU RF-5301 PC spectrofluorimeter (150W xenon lamp) in order to manually calculate HIX according to Ohno (2002) formula because it directly integrates the correction required by Zsolnay et al. (1999). The same device was used to perform EEM ($\lambda_{em}=[250;550]$ nm; interval = 1 nm and $\lambda_{ex}=[220;450]$; interval = 10 nm) which were corrected thanks to staRdom package on R software (Pucher et al., 2019). PARAFAC modeling (Andersen and Bro, 2003) performed by Serène et al. (2022) reveals the presence of peaks A, B, C, M, and T. A second PARAFAC model using exactly the same data and parameters but adding a fifth component was performed in the present study.

To first reconsider the interpolation of the 254 nm excitation wavelength required to calculate HIX, 2D spectra results were compared with the 254 nm excitation wavelength interpolation proposed by staRdom, also according to Ohno (2002).

As done for HIX in Serène et al. (2022), 2D spectra at excitation 310 nm and 370 nm were extracted from EEM in order to study the accuracy of BIX (from Huguet et al., 2009) and FI (from McKnight et al., 2001) with pre-established windows in a karst groundwater dataset.

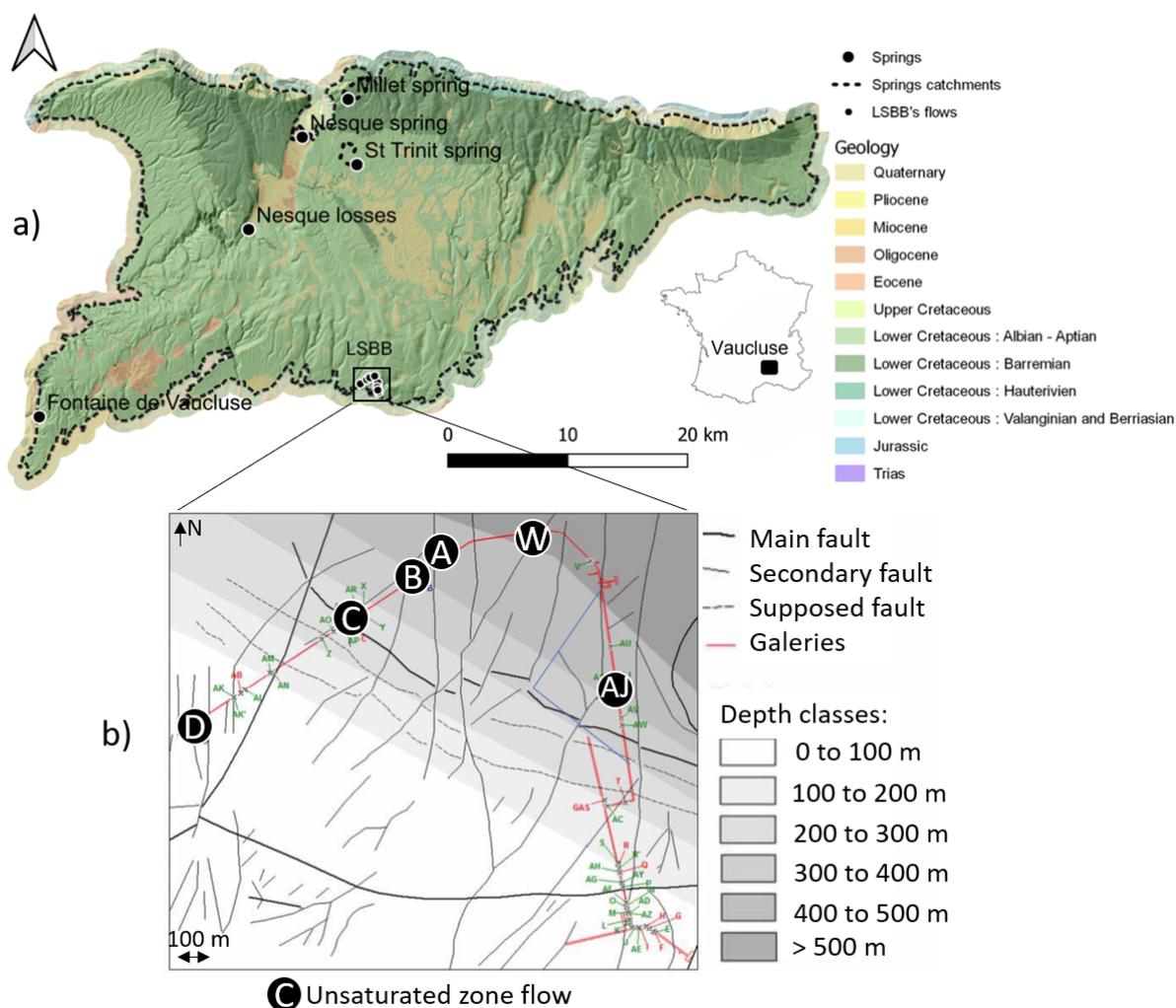


Figure 3. 5 : Localisation of the sampling point at the Fontaine de Vaucluse karst system in France.

III.2.3 Limits of the use of fluorescence indices calculated from pre-established peaks position

Serène et al. (2022) show the inconsistency of the HIX (Zsolnay et al., 1999) excitation and emission windows for a karst groundwater dataset. This mismatch was attributed to the application of this method to another aquatic environment (groundwater) than the one it was

developed for (soil water). In what follows, we investigate the adequacy of BIX and FI excitation and emission windows under this same karst groundwater dataset.

The two wavelength pairs used to calculate BIX by Huguet et al. (2009) are supposed to correspond to the maximum intensities of M and C compounds. But Figure 3.6a shows that the Huguet et al. (2009) selected emission wavelengths do not correspond to peaks M and C observed in groundwater samples from our dataset.

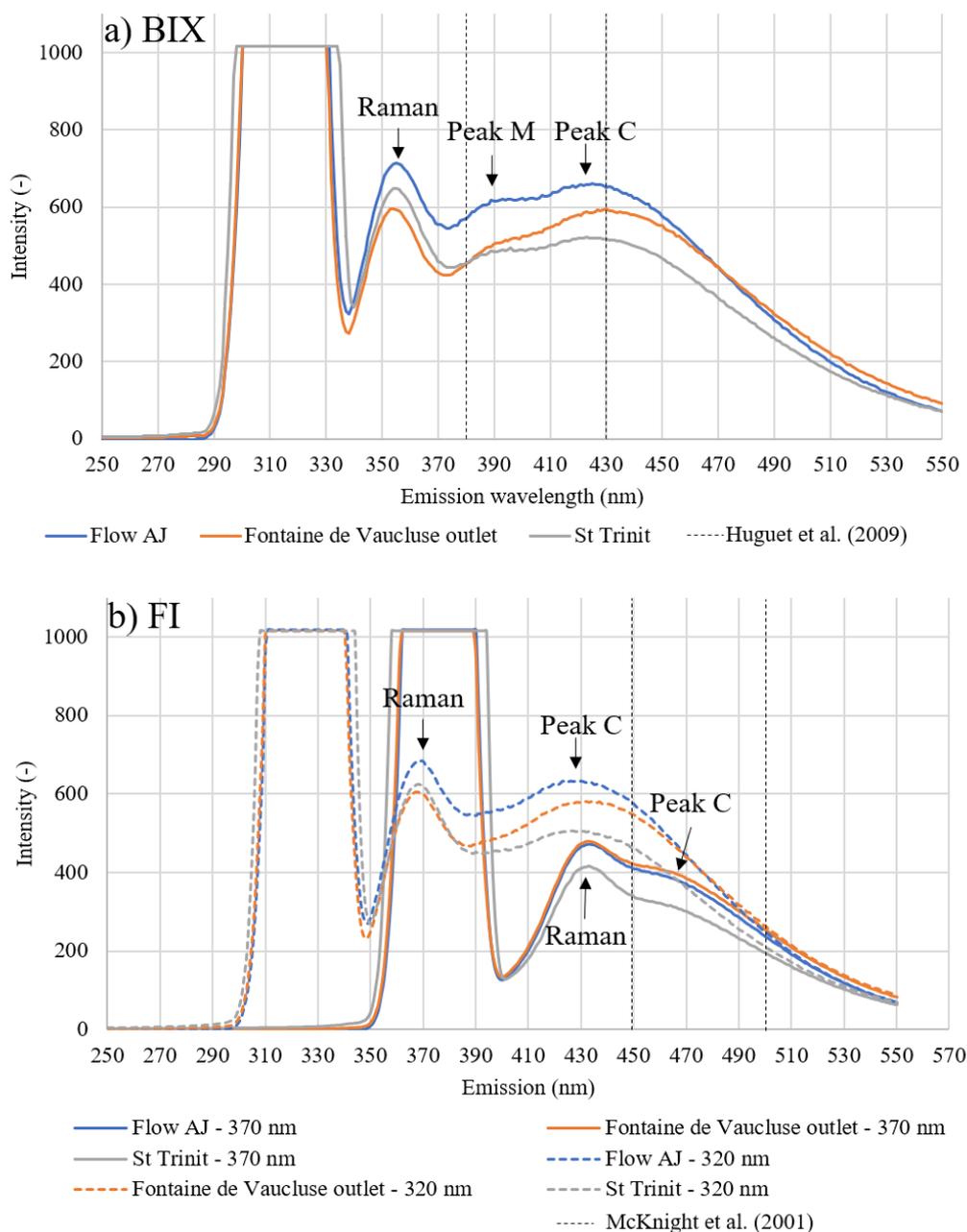


Figure 3. 6 : Extraction of 2D emission spectra at different fixed λ_{Ex} from raw EEM in order to calculate a) BIX and b) FI. In both figures, samples considered are: the unsaturated zone flow AJ (August 31th, 2020), Fontaine de Vaucluse outlet (February 1st, 2021) and St Trinit spring (June 16th, 2020). Dashed lines correspond to the emission wavelengths position used in BIX and FI calculation by Huguet et al. (2009) et McKnight et al. (2001).

As for HIX, this shift may be caused by the application of the BIX method to another aquatic environment (groundwater) than the one it was developed for (estuarine waters). Since the fluorescence indices are calculated by ratio, one would expect that the mismatch of the selected wavelength with the maximal intensity of peaks would not impact the final ratio due to a similar shift for both peaks. But the peak width may be different for the two selected peaks and therefore affect the final ratio. Moreover, it uses the M peak which is rarely observed in riverine and groundwaters (Coble et al., 2014). Peak A_M observed at shorter excitation wavelengths is more often observed (partie V.2 et Xia et al., 2022) than peak M because its intensity is higher. As peaks A_M and M are co-produced, it would be possible to use peak A_M instead of peak M. Therefore, both peaks choice and excitation-emission wavelength could be adapted.

The FI was developed from streams and rivers. This is probably why, unlike HIX and BIX, the selected emission wavelengths better match our data. Indeed, they correspond to the maximal intensity of peak C, and the maximum of the C band (Figure 3.6b). However, at 370 nm of excitation wavelength peak C appears to have a very low intensity whereas it dominates most of aquatic waters (Coble et al., 2014). The peak C intensity is higher at 320 nm of excitation wavelength (Figure 3.6b) which is consistent with the maximal intensity of peak C extracted from PARAFAC modeling (Figure 3.7).

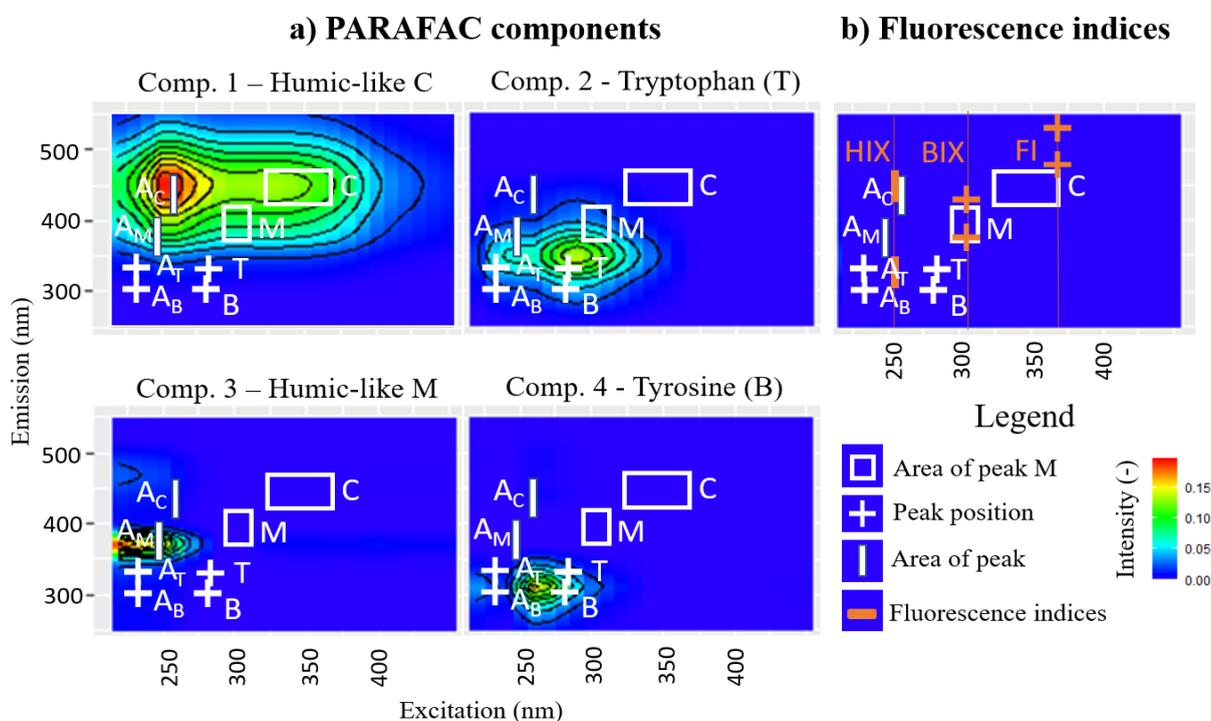


Figure 3. 7 : Identification of the fluorescent compounds of the Fontaine de Vaucluse karst spring water with a) PARAFAC modeling at 4 components ; b) indices positions in literature.

This excitation wavelength better matches our raw EEM data and allows a better observation of peak C (Figure 3.6b). Therefore, the use of pre-established excitation and emission wavelengths to calculate fluorescence indices is not only questionable when applied to another aquatic environment than the one it was developed for, it may also be when applied to other water samples coming from the same type of aquatic environment.

The misfit of HIX, BIX and FI with 2D spectras from our dataset suggests that these fluorescence indices need to be adapted to the fluorescent compounds present in each aquatic environment (marine, soil, ground or surface waters), and/or in each study site and should not be used in an unsupervised way.

III.2.4 Red flags and ways forwards for fluorescence indices calculation

III.2.4.1 Using and comparing fluorescence indices from 2D spectras

The use of a pre-existing method always requires some precautions to be taken, such as checking that the conditions for the application of the method are valid, and respecting the different steps of the methodology.

As discussed in section III.2.3, pre-established fluorescence indices application in various environmental compartments and types of waters requires a preliminary analysis to check the consistency of the defined wavelengths with the tested samples. It is also very important to have first an idea of the source of fluorescent compounds in the studied water samples, particularly for indices aiming to assess the autochthonous production of organic matter (BIX and FI). For example, sewage or livestock farming contamination can be a source of protein-like compounds whereas protein-like compounds are often defined as autochthonous (Baker and Lamont-Black, 2001; Coble et al., 2014; Zhang et al., 2021). Use of BIX also requires a specific check of the presence of humic M compounds in the tested samples.

Strict compliance with the calculation methods is obviously required, as well as full transparency of the calculation details in order to facilitate comparisons between studies. Gabor et al. (2014) summarized prior correction and standardization that are necessary to correctly use fluorescence indices : instrument-specific effect and proper EEM corrections, concentration issues and inner-filtering effect, pH effect on fluorescence. D'Andrilli et al. (2022) also put into relief the fact that many researchers use fluorescence spectroscopy without reporting the metrics.

In addition, it is essential when using pre-established fluorescence indices to respect exactly the method, for example by preferring the measure of the 254 nm excitation wavelength

instead of interpolating it to calculate HIX. Indeed, as in most dataset, our EEMs do not contain the 254 nm excitation wavelength but only the emission spectra for 250 nm and 260 nm excitation wavelengths because of a 10 nm step for excitation incrementing. To avoid making separate 2D spectra, Pucher et al. (2019) proposed staRdom package to interpolate automatically the required excitation wavelength between existing measurements. To evaluate the influence of 2D spectra interpolation at 254 nm on HIX calculation, we compared HIX values (Ohno, 2002 formula) obtained i) through the interpolation of EEM using the staRdom package and ii) through direct use of 2D spectra (emission spectra for 254 nm excitation wavelength). Interpolation seems to globally overestimate the HIX as compared to the reference 2D calculation (Figure 3.8a and Figure 3.8b). This overestimation can be neglected for half of the samples as it corresponds to less than ± 0.1 for almost 54 % of the dataset (156 samples, Figure 3.8b). But for the other part of the dataset, this overestimation can reach more than 0.6 corresponding to the average HIX of the dataset based on 2D spectra (Figure 3.8a). The interpolation of the 254 nm excitation wavelength from EEM may still provide an overview of HIX, but results need to be taken with caution particularly when the interval of excitation wavelength is important (10 nm or more). We advise to pay attention to the comparison of indices values obtained with different techniques (in particular with and without interpolation).

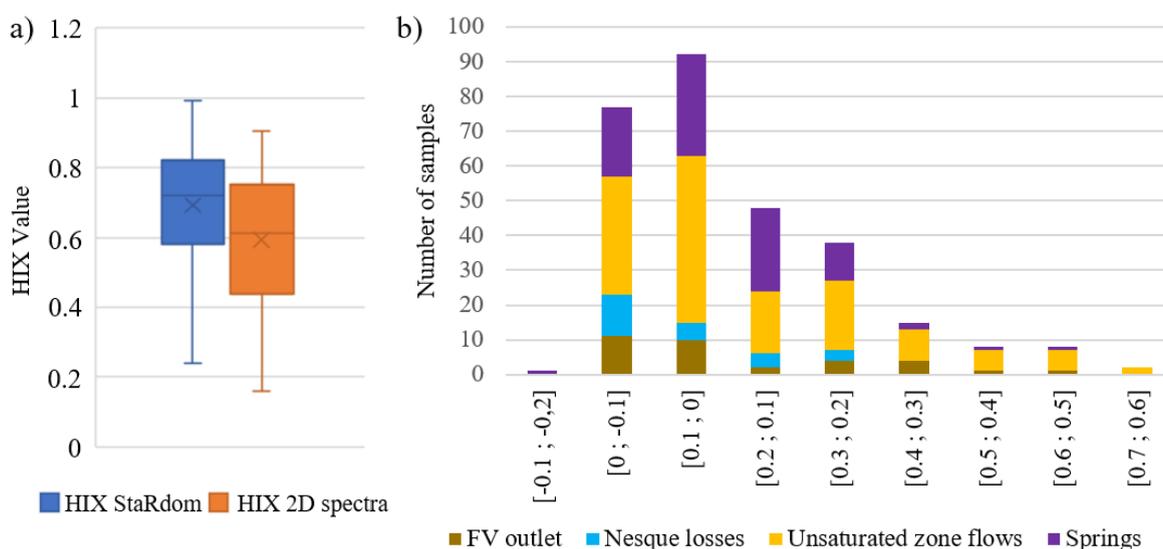


Figure 3. 8 : Comparison of HIX calculated with 2D spectra and using staRdom interpolation of the 254 nm excitation wavelength from EEM, for 289 karst water samples. (a) Boxplot; (b) Distribution of the difference between staRdom HIX and 2D spectra for Fontaine de Vaucluse outlet (33 samples), Nesque losses (24 samples), unsaturated zone flows (143 samples) and 3 springs (89 samples).

Beside all these precautions, we may also question the calculation of fluorescence indices based on pre-established excitation and emission wavelengths. An adaptation of these wavelengths to each aquatic environment (water, surface, ground and marine waters) is possible but insufficient as it does not account for wavelengths variability within each aquatic environment. Moreover, as put into relief by D'Andrilli et al. (2022), all the aquatic environments are connected with each other suggesting the impossibility to identify fluorescence indices method of calculation specific to each of them. Another alternative to pre-established excitation and emission wavelengths is to identify an excitation wavelength required for the 2D spectra for each aquatic environment but to propose a range for emission wavelength allowing its adaptation to each study site or water sample. Such an approach was for example proposed by Wilson and Xenopoulos (2009) for the BIX from Huguet et al. (2009). They proposed to select the maximal intensity between 420 and 435 nm instead of the emission at 430 nm advised by Huguet et al. (2009). However, the use of 2D spectra is still limiting as the excitation wavelength of the 2D spectra may also need to be adapted to each study site.

III.2.4.2 Calculating fluorescence indices using excitation-emission matrices (EEM)

The rise of EEM may be the key to the application of fluorescence indices in a lot of environmental compartments and types of waters because EEM allow the identification of the fluorescent compounds required for the calculation of the indices. Note that use of EEM does not exempt from the characterization of the sources and fate of fluorescent compounds required to interpret fluorescence indices.

EEM allows the identification of the principal fluorescent compounds families, either by hand picking or automatically (PARAFAC models), and the extraction of excitation and emission wavelengths. Peak intensity of these components may then be used to calculate fluorescence indices. For example, in our dataset, PARAFAC modeling identified 4 different fluorescent compounds corresponding to peak C, M, T and B (Serène et al., 2022; partie V.2). As BIX corresponds to the ratio M/C, an adaptation for our dataset would be to divide the intensity at $\lambda_{\text{ex}} = 230$ nm and $\lambda_{\text{em}} = 460$ nm corresponding to peak M by the intensity at $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm and $\lambda_{\text{em}} = 370$ nm corresponding to peak C. As HIX is the ratio of heavy compounds (humic C) to light compounds (M, T and B) one adaptation could be to divide the intensity at the humic C peak by the sum of the intensities of peaks M, T ($\lambda_{\text{ex}} = 290$ nm and $\lambda_{\text{em}} = 350$ nm) and B ($\lambda_{\text{ex}} = 260$ nm and $\lambda_{\text{em}} = 300$ nm). Finally, for FI which aims to assess the shape of peak

C, the intensity around emission 400 nm may be divided by the one around 500 nm. This procedure can be done automatically for the all dataset using, for example, the peak picking function from staRdom (Pucher et al., 2019).

EEM and PARAFAC modeling can also be used to directly extract the maximal intensity of the identified components (F_{max}). Such application was performed using DOMFluor toolbox on Matlab by (Li et al., 2019; Yang et al., 2020) in order to calculate their own fluorescence indices : the protein to humic index (PHI) and the microbial to terrestrial index (MTI). Another way to directly use PARAFAC compounds is by using the components loadings, instead of the peaks. Indeed, PARAFAC modeling often groups different fluorescent components such as peaks C and A_C , A_T and T, A_B and B as they correspond to the same families (Figure 3.9, Coble et al., 2014). These two peaks rarely have the same intensities, and maximum intensity may not always be reached by the same one. Therefore, when the maximal intensity of a PARAFAC dual-peak component is selected, it corresponds to the maximal intensity of one peak instead of both. It may underestimate the contribution of the considered compound to the all fluorescence of the sample. As most compounds do not have precise peak location because they correspond to families (particularly humic C, Coble et al., 2014), taking into account their weight of the PARAFAC component seems more adequate. Such an approach was proposed for HIX by Serène et al. (2022). Following the same procedure, BIX could be calculated as the ratio of the sum of the weight of autochthonous compounds to the sum of the weight of allochthonous compounds. Proposing an adaptation to FI may be less straightforward as it is only based on the humic C compounds. Therefore, it would be possible to (i) develop a new index to illustrate the peak C shape based on the FI, or to (ii) use the different families of humic-like C that may be identified by PARAFAC modeling. Possibility (i) is a challenging task whereas (ii) is easier to perform involving only the ability of the PARAFAC model to distinguish several families of component humic-like C. For example, humic-like C compounds are summarized in only one component in the PARAFAC modeling retained for our dataset (Figure 3.7). But adding one component to the PARAFAC modeling at 4 components (Figure 3.7) results in the split of humic C compounds in two different components having different emission wavelengths (Figure 3.9).

The component having longer emission wavelength (Humic C1) can be used as a proxy of humic C having soil organic matter precursors, whereas the one having shorter emission (Humic C2) as a proxy of humic C having microbial products precursors. Therefore, the ratio of the weight of humic C1 to humic C2 may correspond to a more accurate way to calculate

FI than the one proposed by McKnight et al. (2001). Therefore, even if the choice of the number of components needs to be taken with caution when using PARAFAC components, EEMs have the potential to improve the calculation of all fluorescent indices by adapting them to each study site.

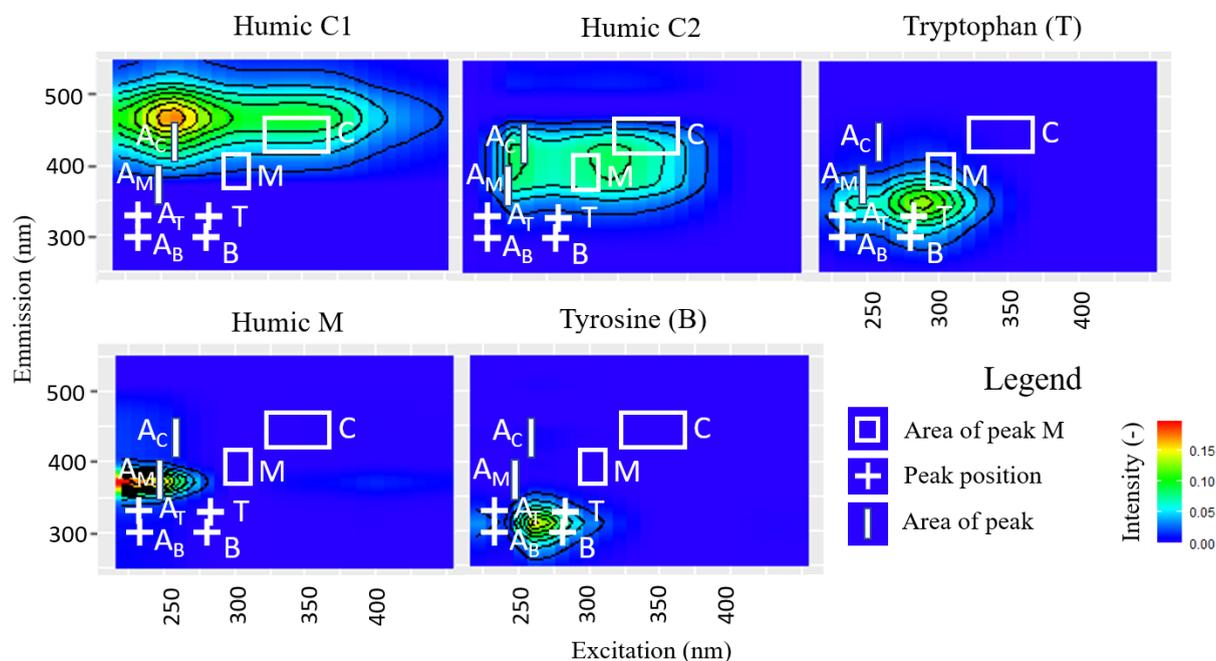


Figure 3. 9 : Identification of the fluorescent compounds of the Fontaine de Vaucluse karst spring water with PARAFAC modeling at 5 components, compared with Coble et al. (2014) peaks.

III.2.5 Conclusion

Fluorescences indices are particularly well adapted to characterize dissolved organic matter. In environmental studies, the three most often used fluorescences indices are the Fluorescence index (FI), the Humification index (HIX) and the Biological index (BIX). These three indices were developed in different aquatic environments, respectively stream/riverine (McKnight et al., 2001), soil (Zsolnay et al., 1999) and marine (Huguet et al., 2009) waters. These indexes are based on ratios of intensities at specific emission wavelengths from 2D spectra at defined excitation wavelengths. These wavelengths are attributed to different organic matter compounds families. Two main remarks can be made regarding the use of these indexes. First, they are often applied in aquatic environments different from those where they were developed. However, the specific emission wavelength used to calculate fluorescence indices are based on the location of the maximal intensity of fluorescent compounds families which is likely to be blue-shifted (shifted towards shorter emission wavelength) along the water cycle (from soil, surface, ground, to marine waters; Baker and

Genty, 1999; Conmy et al., 2009). For example, previous study from Serène et al. (2022) put into relief the inadequacy of soil's excitation and emission wavelengths used to calculate HIX (Zsolnay et al., 1999) in groundwater. Second, they are defined on 2D spectras, while excitation-emission matrices (EEM - 3D matrices) are becoming more widespread and allow, thanks to PARAFAC modelisation, the identification of specific maximal fluorescence intensities related to fluorescent compounds families.

Fluorescence indices are frequently used and are particularly adapted to characterize the composition and sources of dissolved organic matter (Gabor et al., 2014). But they are often applied in aquatic environments different from those where they were developed (HIX for soil waters; FI for freshwaters; BIX for estuarine waters). Results of a previous study from Serène et al. (2022) already put into relief the inadequacy of the wavelength required to calculate HIX for groundwater samples. Using the same dataset, results of the present study show the same inadequacy for BIX and FI, showing that the wavelengths used to calculate fluorescence indices may need to be adapted to each study site and types of waters. At least, it is advised to check the consistency of these wavelengths with the water samples. The present study also puts into relief that when using pre established method to calculate fluorescence indices, it is essential to respect strictly the method, in particular for the emission spectra at 254 nm excitation wavelength required to calculate HIX. Indeed, results show that the interpolation of this wavelength from EEM may result in a HIX overestimation. Moreover, a conceptual model of the source and fate of fluorescent compounds is necessary to correctly interpret and use the fluorescence indices, particularly BIX and FI. To improve the method to calculate fluorescence indices with 2D spectra, it is better to advise ranges of wavelengths selected by users rather than specific methods for each aquatic environment as they are interconnected (D'Andrilli et al., 2022). Another way to improve the fluorescence indices calculation would be to use EEM (3D matrices) instead of 2D spectra as they allow the clear identification of the different compounds. Several proposals were already experimented using PARAFAC modeling by extracting the maximal intensity of the compounds (Li et al., 2019; Yang et al., 2020) or using their loadings (Serène et al., 2022). Loadings appeared to be more accurate as they take into account the different peaks constituting a family of organic compounds instead of only one. Therefore, EEMs appear to have the potential to greatly improve the ways to calculate fluorescence indices. The present study therefore draws the attention of fluorescence indices users to unsupervised calculation of usual fluorescence indices. It also greatly encourages the rethinking of fluorescence

indices in order to make them all terrain, allowing their application and comparison with water from all environments.

IV. Développement d'un indice de fluorescence (Transit Time index - TTi) comme traceur naturel des courts temps de séjour dans les systèmes karstiques

IV.1 Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France)

Après s'être intéressés aux méthodes de calcul des indices de fluorescence en partie III, nous allons nous intéresser plus particulièrement à l'indice d'humification HIX. Cet indice a été utilisé comme indicateur des temps de transit en milieu karstique dans une précédente étude de Blondel et al. (2012) mettant en évidence le potentiel de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des courts temps de transit (0 – 6 mois). L'un des objectifs du travail présenté ci-après et faisant l'objet d'un article publié (Serène et al., 2022; ci-dessous) est d'améliorer les connaissances sur ce potentiel nouveau traceur naturel, tout en optimisant son utilisation.

Cet article met tout d'abord en évidence un certain nombre de biais dans l'approche proposée par Blondel et al. (2012) dont le principal est l'utilisation d'une longueur d'onde d'excitation de 260 nm plutôt que 254 nm préconisée par Zsolnay et al. (1999). Ensuite, une incompatibilité abordée en partie III entre les fenêtres d'excitation-émission définies pour le calcul du HIX par Zsolnay et al., (1999) sur des échantillons d'eau du sol et les échantillons de notre étude a pu être identifiée et attribuée à la différence de type d'eau (eau du sol / eau souterraine). Enfin, à partir des résultats d'une modélisation PARAFAC, l'élaboration d'un nouvel indice a été proposé, appelé Transit Time index (TTi). Ce nouvel indice est inspiré de l'indice d'humification (HIX) de Ohno (2002) et il intègre la correction de l'inner-filtering effect préconisée par Zsolnay et al., (1999). Le TTi est défini comme le ratio entre le poids des composés humiques obtenu via PARAFAC et la somme des poids de l'ensemble des composés fluorescents. D'après les fondements de l'approche développée par Blondel et al. (2012), une plus forte proportion de composés de type humique peut-être reliée à des temps

de séjours plus longs, du fait d'une dégradation plus rapide des composés de type protein-like. De ce fait, les valeurs de TTi proches de 1 relatent des temps de séjour plutôt longs, alors que les plus faibles valeurs sont associées à des temps de séjour plus courts. Afin de vérifier la cohérence du TTi avec les temps de séjour, une étude plus approfondie a été menée sur la source de Millet par le biais de différentes représentations (chroniques temporelles, analyse en composante principale (ACP) et une analyse corrélative) des variables suivantes : conductivité électrique, oxygène 18, magnésium, COT, silice, chlorures, nitrates et sulfates. Cette étude a permis de mettre en évidence différentes classes de temps de transit associées à différents composés organiques. L'ACP a clairement montré la capacité du TTi à détecter une faible quantité d'eau récemment infiltrée au sein d'un mélange, là où d'autres traceurs naturels n'apportent peu ou pas d'information aussi précise.

Enfin, une comparaison des valeurs du TTi aux différentes sources du système (Millet, St Trinit, la Nesque) a permis de mettre en évidence la cohérence de ce nouvel indice avec les temps de transit attendus du fait des différents degrés de karstification au sein de ces sous-systèmes appartenant au système karstique régional des Monts de Vaucluse. Le TTi peut donc être considéré comme un traceur naturel qualitatif pertinent des courts temps de séjour en milieu karstique. Cependant son adaptation en traceur naturel quantitatif n'en demeure pas moins une tâche complexe, puisqu'elle nécessiterait une étude approfondie des mécanismes de dégradation de la matière organique dans les eaux naturelles avec le couplage d'autres paramètres capables d'obtenir des temps de séjours précis (ex. : utilisation d'isotopes radioactifs, traçage artificiel).



Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France)

Leïla Serène¹, Christelle Batiot-Guilhe¹, Naomi Mazzilli², Christophe Emblanch², Milanka Babić², Julien Dupont², Roland Simler², Matthieu Blanc³, and Gérard Massonnat⁴

¹HSM, Univ. Montpellier, CNRS, IMT, IRD, Montpellier, France

²UMR 1114 EMMAH (AU-INRAE), Université d'Avignon, 84000 Avignon, France

³Independent Researcher, Montpellier, France

⁴Total Energies, CSTJF, Avenue Larribau, CEDEX 64018 Pau, France

Correspondence: Leïla Serène (leila.serene@umontpellier.fr)

Received: 9 March 2022 – Discussion started: 31 March 2022

Revised: 6 June 2022 – Accepted: 19 June 2022 – Published: 11 October 2022

Abstract. Transit time can be estimated thanks to natural tracers, but few of them are usable in the 0–6-month range. The main purpose of this work is to analyze the potential of the ratio of heavy- to light-weight organic compounds (the humification index (HIX); Ohno, 2002; Zsolnay et al., 1999) as a natural tracer of short transit time (Blondel et al., 2012). Critical analysis of former studies shows that although the link between HIX and transit time seems consistent, the whole methodological approach needs to be consolidated. Natural organic matter fluorescence from 289 groundwater samples from four springs and 10 flow points located in the unsaturated zone of the Vaucluse karst system is characterized by parallel factor analysis (PARAFAC) thanks to the excitation–emission matrix (EEM), thus (i) allowing for the identification of main fluorescent compounds of sampled groundwater and (ii) evidencing the inadequacy of HIX 2D emission windows to characterize groundwater organic matter. We then propose a new humification index called the Transit Time index (TTi) based on the Ohno (2002) formula but using PARAFAC components of heavy and light organic matter from our samples instead of 2D windows. Finally, we evaluate TTi relevance as a transit time tracer by (i) performing a detailed analysis of its dynamics on a selected spring (Millet) and (ii) comparing its mean value over karst springs of the Vaucluse karst system. Principal component analysis (PCA) of TTi and other hydrochemical parameters monitored

at Millet spring put in relief the different ranges of transit time associated with the different organic matter compounds. PCA results also provide evidence that TTi can detect a small proportion of fast infiltration water within a mix, while other natural tracers of transit time provide no or less sensitive information. TTi distributions at monitored karst springs are consistent with relative transit times expected for the small-scale, short average transit time systems. TTi thus appears as a relevant qualitative tracer of transit time in the 0–6-month range where existing tracers fail and may remain applicable, even in the case of anthropic contamination thanks to PARAFAC modeling. Transforming it into quantitative information is a challenging task which may be possible thanks to intensive studies of organic matter degradation kinetics in natural waters with the help of radiogenic isotope usage or an artificial tracer test.

1 Introduction

Karst aquifers are essential for water supply at both global and local scales as they provide 9.2% of the world's drinking water and contribute to 13% of the total global withdrawal of groundwater (Stevanović, 2019). But karsts are also really complex and compartmentalized systems which offer very different paths to the infiltrated water. The hier-

archized network of karst conduits allows for a fast transit of recharge which is very specific to karst systems (White, 2002) and makes it essential to develop natural tracers of transit on short timescales (< 6 months). Natural tracers of stored water include major element contents, isotopes, and dissolved gas (Malík et al., 2016; Musgrove et al., 2019; Pérotin et al., 2021; Zhang et al., 2021), but few of these tracers allow fast infiltration to be characterized. Indeed, natural tracers of transit time of this range must, by definition, see their contents vary at this timescale. While variations in inorganic compounds are small on this timescale, living and organic components of water like bacteria, total organic carbon (TOC), or natural organic matter fluorescence (Batiot et al., 2003; Lapworth et al., 2008; Mudarra et al., 2011; Pronk et al., 2009; Sorensen et al., 2020) are suited to this goal. Indeed, TOC represents the quantity of organic matter present in the water, and its mineralization (or degradation) is complete after 6 months (Batiot, 2002). Fluorescent organic matter is a small part of the total organic matter represented by TOC and will therefore also be completely degraded after a maximum of 6 months. Its potential as a natural tracer of groundwater was already put in relief in Baker and Lamont-Black (2001). Our study focuses on fluorescent organic matter and its relation with transit time through the humification index (HIX), as initially proposed by Blondel et al. (2012).

Fluorescent organic matter compounds are degraded in the natural environment. The rate of this degradability is constrained by two aspects: the type of organic matter and biological activity. The influence of the organic matter type is well documented; complicated molecules of organic matter have a higher emission wavelength and less digestibility (Zsolnay, 1999). For example, humic-like organic matter is less digestible than protein-like organic matter and thus takes more time to be degraded.

The humification index (HIX) expresses the maturation level of organic matter. Humification refers to the gradual transition of organic matter to highly metabolized compounds (humins). HIX is defined as the ratio of humic to non-humic compounds. Because this ratio is related to the maturation of organic matter, it has the potential to be related to transit times in the range 0 to 6 months (before maturation is complete).

In a study which aimed at identifying dissolved organic matter (DOM) sources in soil and sediment waters, Zsolnay (1999) proposed a methodology to derive HIX from fluorescence measurements. He identified the excitation wavelength most representative of fluorescent organic matter in soil water (254 nm). Next, he identified emission wavelengths corresponding to light (L from 300 to 345 nm) and heavy (H from 435 to 480 nm) organic compounds in the emission spectra with the assumption that emission wavelengths of fluorescent molecules increase while molecules get more condensed (Ewald et al., 1988; Zsolnay et al., 1999). HIX was then defined by the ratio H/L of the integral under the emission curve of 2D spectra at 254 nm of excitation wavelength.

This way of calculating HIX is dependent on DOM concentration because of the inner-filtering effect (Ohno, 2002). The inner-filtering effect results from either the absorption of excitation light by fluorescent molecules before it gets to the monitored zone (primary inner-filtering effect) or the absorption of emission light coming from photons (secondary inner-filtering effect; Tucker et al., 1992). Using the H/L ratio to calculate HIX permits correction for the primary inner-filtering effect which affects each wavelength equally. But the secondary inner-filtering effect still needs to be corrected if different study sites are to be compared (Mobed et al., 1996). Ohno (2002) thus proposed another HIX formula that corrects for both inner-filter effects:

$$\text{HIX} = \frac{H}{L + H}. \quad (1)$$

A quantitative relation between HIX and transit time was proposed by Blondel et al. (2012) based on natural fluorescence monitoring of four flow points collected in the unsaturated zone of the Fontaine de Vaucluse system (France) during two hydrological cycles (2006–2007 and 2007–2008). Careful examination of this work revealed several methodological weaknesses. The calculated HIX used Zsolnay's formula (Zsolnay, 1999), which lacks secondary inner-filtering effect correction and thus prevents comparison between study sites or flows. The excitation wavelength was 260 nm instead of 254 nm as recommended by Zsolnay (1999). In any case, Zsolnay emission windows were calibrated for soil water; it is thus possible that they may be unsuitable for groundwater. The relation between HIX and transit time was obtained by considering the mean total organic carbon (TOC) value for each hydrological cycle and each flow point: the relation between transit time and TOC proposed by Batiot et al. (2003) allowed transit time values to be connected to HIX. However, this relation was based on a very limited number of samples and had a high uncertainty.

In spite of these limitations, Blondel's study results were consistent and led to the identification of a clear link between HIX and transit time. Based on the critical analysis of these previous studies, we first analyzed water fluorescence on 289 groundwater samples from four springs and 10 flow points located in the unsaturated zone of the Vaucluse karst system. The 2D spectra of organic matter fluorescence were compared with Zsolnay emission windows. Main organic matter fluorescent compounds in water samples were identified based on parallel factor analysis (PARAFAC) and bibliographical review. We then proposed a new humification index called the Transit Time index (TTi) based on the Ohno (2002) formula but using PARAFAC components of heavy and light organic matter compounds from our samples instead of 2D windows. Finally, we evaluated TTi relevance as a transit time tracer by (i) performing a detailed analysis of its dynamic on a selected spring (Millet) and (ii) comparing its mean value over karst springs of the Fontaine de Vaucluse system.

2 Materials and methods

2.1 Study site

This study was carried out in the Vaucluse karst system (southeastern France) (Fig. 1). This hydrosystem, mainly composed of outcropping marine Cretaceous limestones, is unusual in terms of dimension and volume. Its main outlet, Fontaine de Vaucluse spring, has a mean flow rate of $23.3 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (from January 1877 to June 2006; Cognard-Plancq et al., 2006), which is one of the highest in Europe. It is also characterized by a particularly thick unsaturated zone ($\sim 800 \text{ m}$). Monitoring of flows in its unsaturated zone at depths ranging from $\sim 30 \text{ m}$ to almost 500 m is made possible through the artificial galleries of the LSBB (<https://lsbb.cnrs.fr>, last access: 27 September 2022). Several outlets of less importance are also located on the recharge area of the Vaucluse karst system, the main ones being Millet, St Trinit, and Nesque springs (Table 1). The main karstification mechanism is epigenetic, but there is evidence of hypogenetic karstification at the southern edge of the Fontaine de Vaucluse system (Audra et al., 2011).

2.2 Sampling and fluorescence analysis methods

Bimonthly sampling of all flow points was performed during a 1-year monitoring period (June 2020 to October 2021). Measurements of major elements, TOC, and water stable isotopes were performed by UMR 1114 EMMAH with ion chromatography on the Dionex ICS-1100, Aurora 1030 TOC analyzer, and Picarro L2130-i, respectively. The excitation–emission matrix (EEM) and 2D spectra of organic matter fluorescence were analyzed at HydroSciences Montpellier using a spectrofluorometer (SHIMADZU RF-5301 PC; 150 W xenon lamp) (Serene et al., 2022). Wavelength windows for EEMs were $\lambda_{\text{ex}} = [220; 450] \text{ nm}$ and interval = 10 nm and $\lambda_{\text{em}} = [250; 550] \text{ nm}$ and interval = 1 nm . Wavelengths for the 2D spectrum were $\lambda_{\text{ex}} = 254 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{em}} = [220; 530] \text{ nm}$. The temperature was stabilized at 20°C in a bath with a thermostat. Slit widths of 15 nm were used for the monochromators with a fast default scan speed. The stability of the apparatus was checked based on the Raman peak on fresh MilliQ water excited at 348 nm .

Identification of natural organic matter components in our samples was performed by both manual and automatic procedures. Manual peak picking was performed on raw EEMs of over 10 % of representative samples of the dataset, leading to the identification of about 80 fluorophores corresponding to seven different components. EEMs were also treated thanks to R software and the staRdom package (Pucher et al., 2019). Each of the 289 EEMs was corrected with blank subtraction, Raman normalization (Lawaetz and Stedmon, 2009), and scattering removal (Lakowicz, 2006; Murphy et al., 2013). Removed scatter was interpolated with spline interpolation (Lee et al., 1997). PARAFAC modeling was then

performed to extract organic matter components thanks to the same software and package using non-negative constraints for all modes, following the method described by Andersen and Bro (2003).

2.3 Transit Time index (TTi) definition

Based on the fluorescence analysis of our samples, we propose the Transit Time index (TTi) which derives from the HIX definition of Ohno (2002) but differs by the analytic method of organic matter (2D vs 3D). TTi is thus the ratio of heavy organic matter (high-emission wavelengths, humic-like organic matter) to heavy and light organic matter (low-emission wavelengths, protein-like organic matter):

$$\text{TTi} = \frac{\text{humic-like}}{(\text{humic-like}) + (\text{protein-like})}, \quad (2)$$

where humic-like and protein-like parameters correspond to the sum of all compound weights of each type from the PARAFAC model. Unlike HIX, TTi considers the totality of fluorescent organic matter compounds in groundwater. TTi value close to 1 means that organic matter is composed of low digestible organic matter (humic-like), which indicates a relatively long transit time. On the other hand, TTi close to 0 means that organic matter is composed of highly digestible organic matter (protein-like), which indicates a very short transit time.

3 Results and discussion

3.1 Identification of organic matter compounds

3.1.1 2D spectra results

The emission wavelengths of windows used to compute HIX have been compared to 2D spectra of natural fluorescence of representative samples from our dataset (Fig. 2). As compared to the proposed windows, (i) the protein peak of the Millet spring sample only partially fits inside, and (ii) the 370 nm protein peak of the St Trinit spring sample is shifted towards longer wavelengths. In both cases, emission of fluorescence of protein organic matter components is not correctly considered by HIX calculation. Proposed fluorescence windows are thus not appropriate to characterize organic matter in groundwater. We hypothesize that this mismatch may be related to the fact that groundwater's organic matter is more digested than that of its own source, which is the soil.

3.1.2 PARAFAC model results

The resulting PARAFAC model managed with non-negative constraints contains four different components of organic matter. It was chosen for its explained variance of 0.9825 and its core consistency of 92.7 %, and it was checked thanks to

Table 1. Main characteristics of monitored flow points from Batiot (2002), Blondel (2008), Emblanch et al. (1998), Lastennet (1994), Ollivier (2019), and field observations. UZ is the unsaturated zone.

Spring	Catchment area	Karstification	UZ thickness	Lithology	Land use
Millet	~ 2.5 km ²	Complex karstification – anastomoses	Thick ~ 70 m	Cretaceous/Barremian limestones (marine)	Forest, lavender cultivation
St Trinit	~ 2 km ²	High degree, large karstic conduit	Thin ~ 10 to 20 m	Cretaceous/Aptian limestones (marine)	Anthropic activities, organic farming, town
La Nesque	~ 1 km ²	Low degree, conduits of centimetric scale at the outlet	Thin ~ 10 to 20 m	Marly limestones, Oligocene (lacustrine)	Lavender cultivation
Fontaine de Vaucluse	~ 1160 km ²	Variable but high on average	Very thick ~ 800 m	Cretaceous limestones (marine)	Cultivations, cities, forests
LSBB	≤ 1 km ²	Variable	35 à 518 m	Cretaceous limestones (marine)	Forest and cultivation

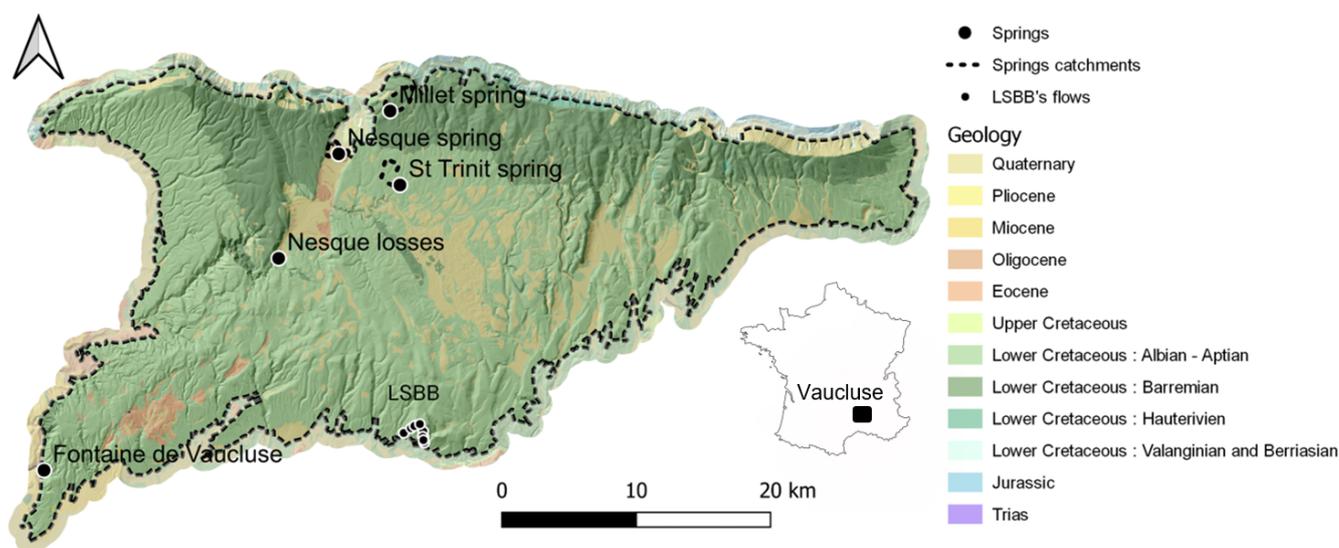


Figure 1. Location of monitored flow points on a 1 : 50 000 geological map (BD-CHARM) from BRGM and spring catchment delineation (based on geology and mass balance for Millet, St Trinit, and Nesque springs; from Ollivier (2019) for Fontaine de Vaucluse).

split-half analysis, Tucker's congruency, plotting of components, and random initialization (Andersen and Bro, 2003). Three of the four identified components contain two close but distinguishable compounds (components 1, 2, and 4). PARAFAC components are in good agreement with manual peak picking performed on raw EEMs, compound 3 apart, which is affected by harmonics. Comparison with excitation–emission windows from the literature allows organic matter compounds represented by each component to be identified (Fig. 3).

Component 1 is typical of heavy compounds belonging to humic-like organic matter type (Blondel, 2008; Quiers et al., 2014). Component 2 is composed of two tryptophan-like compounds (Trp). Indeed, the compound with the longer excitation wavelength closely matches Trp 1 from Birdwell and Engel (2010), and the compound with the shorter excitation wavelength appears to be another declination of tryptophan-

like organic matter, different from Trp 2 from Birdwell and Engel (2010). Component 3 is consistent with P1 observation from Quiers et al. (2014). This compound lies close to Trp 2, but its emission wavelength is too high for it to belong to tryptophan-like organic matter. Quite surprisingly, it is far from P1 observation of Blondel (2008). We hypothesize that P1 was mistaken for tryptophan-like organic matter by Blondel (2008). Component 3 also lies far from the hand peak picking window of P1, probably because hand peak picking was performed on raw EEMs not yet corrected from harmonics. Component 4 contains one main compound which we assume to be tyrosine-like organic matter (Tyr) because it lies really close to the Tyr 1 observation of Mudarra et al. (2011). A second component with lower intensity may correspond to Tyr 2 of Mudarra et al. (2011).

The four components identified by PARAFAC modeling can thus be gathered into humic-like organic matter (compo-

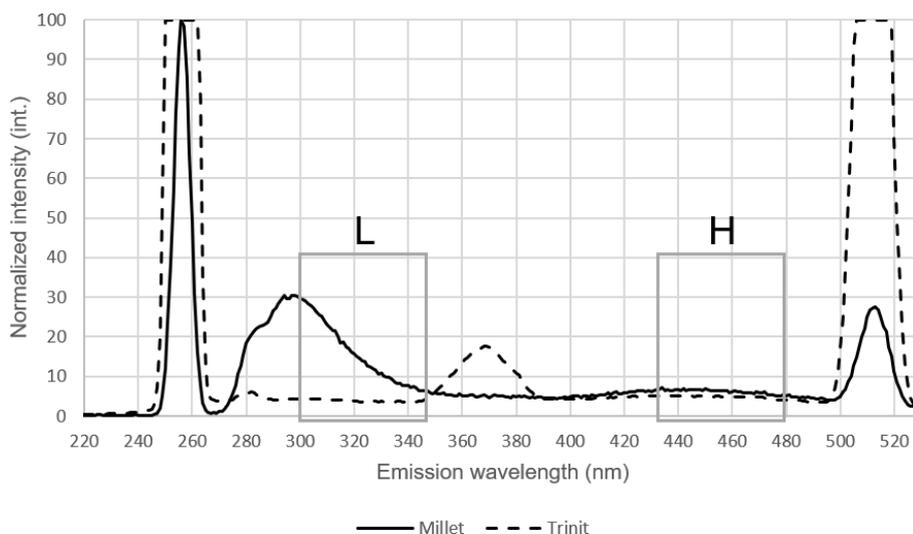


Figure 2. The 2D spectra at excitation wavelength 254 nm for two representative samples (Millet on 3 May 2021 and St Trinit on 1 February 2021). Comparison with Ohno (2002) H and L windows.

ment 1) and protein-like organic matter (components 2, 3, and 4). We also note that 2D spectra at 254 nm may accurately illustrate the maximum intensity of Trp2 and H2 but miss the maximum intensity of H1. Use of EEM instead of 2D spectra thus appears necessary to achieve the characterization of all the humic-like and protein-like compounds required for humification index calculation.

3.1.3 T*Ti* application at Millet spring

3.1.4 Hydrodynamic and hydrochemical functioning of Millet spring

Descriptive statistics of major ions, TOC, electrical conductivity, humic-like and protein-like organic matter, T*Ti*, standard deviation, and coefficient of variation are available in Table 2 and represented as time series in Fig. 4. These parameters were chosen for their ability to improve recharge and transit time knowledge on flows and springs of the Fontaine de Vaucluse system (Garry, 2007; Barbel-Périneau, 2013; Blondel, 2008). Silica and magnesium are two elements classically used as markers of the reserve and therefore are associated with a long transit time because of their slow solution kinetics (Lastennet and Mudry, 1997).

Discharge at Millet spring reacts sharply to rainfall events (Fig. 4) which indicates that the karst network is mature. Conversely, natural tracers such as $\delta^{18}\text{O}$ and major elements are not well correlated with discharge and have low-amplitude variations, highlighting the high mixing ability of the Millet system. It is particularly the case of $\delta^{18}\text{O}$, whose variations are close to detection limits. Such global hydrochemical stability suggests the presence of a storage zone in which the mixing of waters is particularly effective, which we relate to the structure of its karstification (anastomose).

Electrical conductivity correlates well with discharge, and the highest conductivities are reached during high discharge with a 2 to 4 d delay. This positive correlation between electrical conductivity and discharge is less usual, but it has also been observed in other karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (Notre-Dame-des-Anges spring in Emblanch et al., 2006), other Mediterranean karst systems such as the Lez spring (Bicalho et al., 2012), or in Europe at Podstenjšek spring, Slovenia (Ravbar et al., 2011). This phenomenon may result from dilution of deep flows with recent water like in the Lez spring (Bicalho et al., 2012), a change in the catchment delineation that captures old water stored outside the usual catchment area (Ravbar et al., 2011), or a supply of water stored in the unsaturated zone (Emblanch et al., 2006).

At Millet spring, electrical conductivity is mainly carried by Ca^{2+} and HCO_3^- contents. Its increase at the beginning of flood events is caused by HCO_3^- increase, which indicates the arrival of water characterized by higher $p\text{CO}_2$ (see Fig. 4). $p\text{CO}_2$ has higher content in soil water because of biological respiration and organic matter decomposition. A $p\text{CO}_2$ increase in spring involves (i) a stronger influence of soil water which may be stored in the unsaturated zone or epikarst or (ii) a very fast infiltration supply. Case (i) is the most likely because case (ii) involves high organic matter content (TOC), while the increase of TOC corresponds to less than 0.6 mg L^{-1} .

Arrival of water associated with a short residence time is usually evidenced by TOC (Batiot et al., 2003). TOC is a natural tracer of fast infiltration, which decreases with increasing transit time. From a hydrodynamic point of view, Millet spring is a fast-reacting karstic system, and TOC is thus expected to increase sharply during flood events. Measured TOC does correlate with discharge, but it varies little and does not exceed 2 mg L^{-1} , showing evidence of a mix of dif-

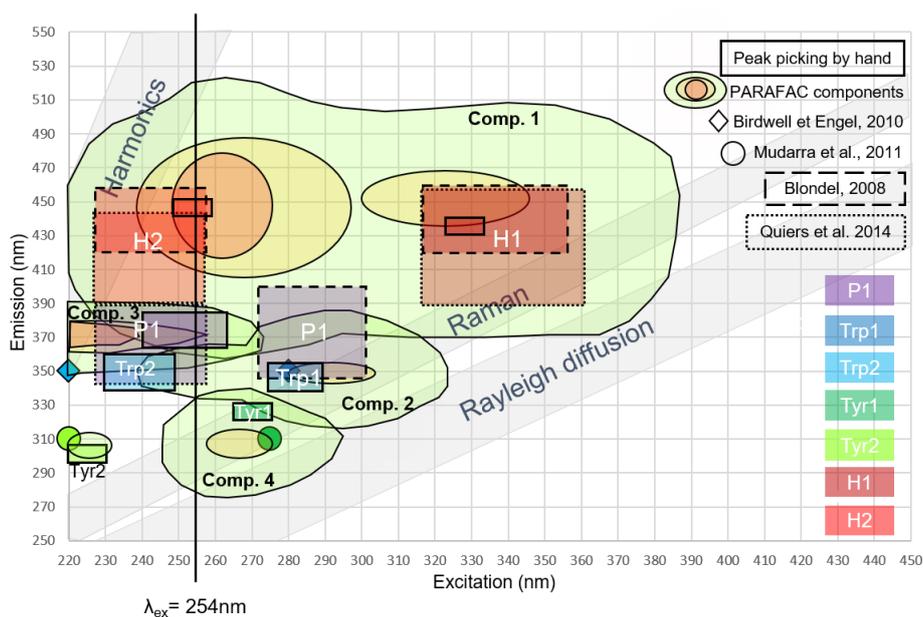


Figure 3. Comparison of organic matter component location in EEMs in literature and our study.

ferent water types. Stored water may have a lower TOC content in comparison with fresh water supply because of natural organic matter degradation. It thus appears that as TOC provides evidence of arrival of water with short transit times, its limits of sensitivity also seem to be reached.

3.1.5 Relation between TTi components and other variables

The correlation matrix presented in Fig. 5a shows a positive correlation between TTi and component 1 and anticorrelation with components 2, 3, and 4, which stems from the TTi formula. The anticorrelation is stronger with tyrosine due to its high digestibility, leading to a higher variability of its concentrations. Indeed, fluorescent organic matter digestibility decreases with increasing emission wavelength, and tyrosine has the lower one (Fig. 3). Components 2 and 3 are strongly correlated, caused by the similarity of their emission wavelength and thus of their degradation kinetics. The highest correlation of the first (humic-like) component is found with electrical conductivity and discharge. The humic-like component has the longest lifetime of all fluorescent organic matter because of its low digestibility, and it thus has the highest emission wavelength (Fig. 3). Humic-like organic matter is thus always present in the system as seen in Fig. 4 and thus may vary at the same low frequency as electrical conductivity and discharge, while protein-like organic matter, because of its short life duration, may vary at high frequency. TTi correlation with magnesium was expected because this tracer has increasing values with transit time like TTi. But TTi is surprisingly anticorrelated with SiO₂. This anticorrelation is mainly supported by tyrosine variation. Usually,

rock dissolution is the main source of dissolved silica, inducing increasing contents with transit time. If so, SiO₂ would be correlated with TTi, magnesium, and electrical conductivity. At Millet, SiO₂ is anticorrelated with these elements and correlated with tyrosine, which has decreasing contents with increasing transit time, thus indicating similar SiO₂ and tyrosine kinetics, both coming from an organic source (soil). This hypothesis is validated by the high content of SiO₂ in Millet soil water (around 10 mg L⁻¹ in November 2000; Batiot, 2002).

To characterize the source of the TTi signal, principal component analysis (PCA) was performed on 27 Millet spring samples with TTi, TTi components (Tyr, P1, H1, and H2), and other variables related to transit time (electrical conductivity, discharge, magnesium, and silica contents). Component 2 Trp was omitted because of its strong correlation with P1 (0.76, Fig. 5b) and its lower intensity, as seen in Fig. 3. The three principal axes of PCA explain about 73.2 % of the total variance. The first principal component (Dim. 1) represents 36.7 % of total variance, the second (Dim. 2) 25.2 %, and the third (Dim. 3) 11.3 %. They are carried by different variables as seen in Fig. 5b. PCA results are provided in Fig. 6.

The first dimension is negatively scored with tyrosine and SiO₂ and positively with Mg²⁺ and TTi. These variables have high-frequency variation in common. Indeed, tyrosine has the shorter lifetime duration of tested variables and is linked to silica. Its degradation kinetics is therefore very short, implying strong variations over time. TTi and magnesium are in the opposite direction. For TTi, it is because of its opposition to protein-like organic matter compounds, caused by its construction. For magnesium, this opposition is

Table 2. Descriptive statistics at Millet spring of major ions, TOC, electrical conductivity, humic-like and protein-like organic matter, and TTi. SD is standard deviation, and CoV is coefficient of variation, over the period June 2020 to October 2021 (29 samples).

Parameter	Unit	Min	Max	Mean value	SD	CoV (%)
TTi	–	0.11	0.93	0.41	0.19	46
Humic-like	intensity	0.05	3.97	1.17	0.09	8
Proteic-like	intensity	0.44	0.75	0.61	0.84	138
CE	$\mu\text{S cm}^{-1}$	305.6	338.5	317.7	8.48	3
$\delta^{18}\text{O}$	‰	−8.96	−8.76	−8.89	0.05	−0.6
Mg^{2+}	mg L^{-1}	0.74	1.51	1.06	0.20	19
SiO_2	mg L^{-1}	5.45	7.62	7.00	0.53	8
TOC	mg L^{-1}	0.82	2.15	1.03	0.24	23
Cl^-	mg L^{-1}	1.38	2.38	1.86	0.28	15
NO_3^-	mg L^{-1}	0.39	2.5	1.11	0.45	40
SO_4^{2-}	mg L^{-1}	2.36	4.2	3.17	0.35	11



Figure 4. Millet spring time series of rain, discharge (Mazzilli et al., 2022), TTi, humic-like (component 1) and protein-like (sum of components 2, 3 and 4) fluorescent organic matter, continuous and punctual electrical conductivity, $\delta^{18}\text{O}$, $p\text{CO}_2$, and magnesium, silica, chloride, nitrate, and sulfate contents over the period from June 2020 to October 2021. Colors above the discharge plot and numbers on the TTi curve correspond to Fig. 6b.

caused by the dilution of stored water by freshwater supply. Dim. 1 thus corresponds to high-frequency variations led by rain events (daily scale) bringing fresh organic matter rich in tyrosine and SiO_2 and diluting stored water, implying magnesium decrease.

The second dimension is positively scored with electrical conductivity, discharge, and humic-like organic matter (component 1). These variables evolve at low frequency (monthly to seasonal scale), mainly due to the alternance of low- and high-flow periods. Positive correlation between humic-like

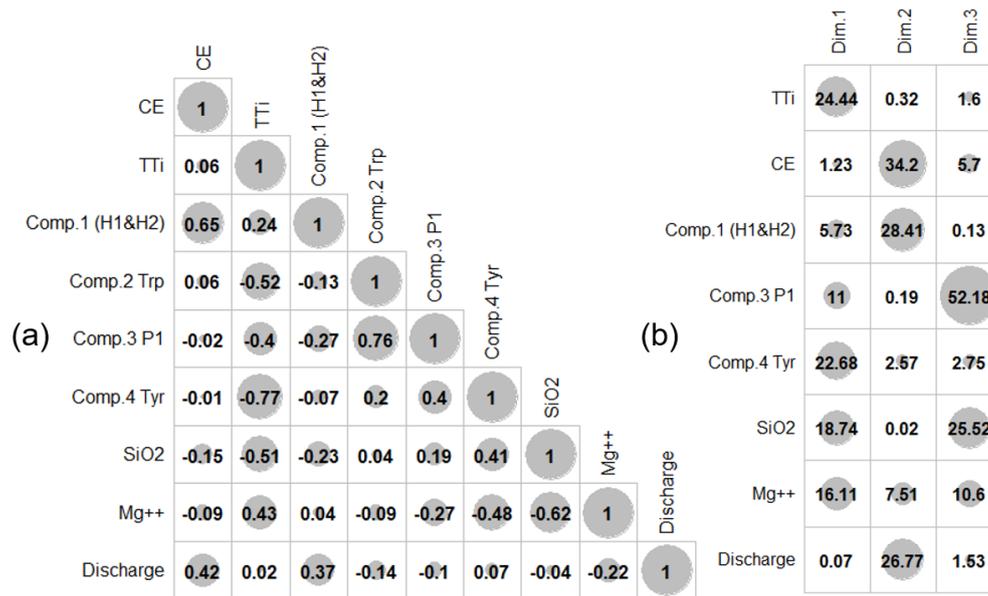


Figure 5. Correlation matrix of variables (a) and variable contributions to the three principal components of PCA (b).

organic matter, electrical conductivity, and discharge, while unexpected, may stem from the fact that as with TOC, humic-like organic matter results from a mix of stored and fresh water. Increase in humic-like organic matter can be caused by the arrival of (i) fresh water with high content of all types of organic matter and thus TOC content or of (ii) stored water with high relative humic-like organic matter content compared to the other organic compounds. Case (ii) seems the most likely because at Millet, the increase of humic-like is associated with a steady TOC content. This second dimension therefore seems to indicate a seasonal variation of humic-like organic matter content due to seasonal storage dynamics, which may induce a seasonal variation of TTI.

The third dimension is negatively scored with SiO₂ and positively with P1 and magnesium. In comparison with other variables, these two variables have intermediate-frequency variations. Indeed, P1 emission wavelength is between the emission wavelengths of humic-like organic matter and tyrosine (Fig. 3) and thus has an intermediate lifetime duration (from weeks to months). Magnesium is little explained by Dim. 3 (10.6 %), suggesting that a little part of magnesium has an organic source (soil). SiO₂ is in the opposite direction, which shows a part of its content coming from rock dissolution or mineralization.

Variation frequency can easily be linked with transit time because natural tracers of a precise range, must, by definition, vary in this range. Dim. 1 is thus susceptible to tracing a short transit time at daily scale, Dim. 2 a long transit time at monthly/seasonal scale, and Dim. 3 an intermediate transit time at weekly scale.

Projection of samples on the factor plane is consistent with the different ranges of transit time associated with PCA di-

mensions (Fig. 6b, d). Samples from the 2020 low-water period are mainly expressed by Dim. 2 and Dim. 3, corresponding to intermediate- to low-variation frequency. It is consistent because during low-flow periods, the expected transit time is long and may correspond to months. These samples are also, to a lesser extent, expressed by Dim. 1. For example, sample 5 has the lowest Dim. 1 score and corresponds to the reaction to a rain, whereas sample 7, which has the higher score, corresponds to a dry period during the low-flow period.

The 2021 low-water period has more frequent rainfall events. As compared to the 2020 low-water period, spread of samples from the 2021 low-water period is higher on factor planes 1 and 3. Samples from this period are mainly explained by Dim. 1 and 3, corresponding to intermediate and short transit time, in agreement with Millet's well karstified system inducing fast reactions. Flood event samples are expressed by Dim. 1 and Dim. 2 – high- and low-variation frequency. Samples close to Dim. 2 reflect the flushing out of stored water (piston effect – samples 12, 16, and 20); they correspond to the beginning of floods. Sample 1 is aligned with Dim. 1. It corresponds to freshwater arrival at the end of a flood, thus with short transit time (see time series in Fig. 4).

Short low-water period samples appear in no particular dimension because water age after a flood event may differ depending on intensity of previous floods and piston effect duration and also contain very recent water as seen in the case of the long-duration, 2021 rainy low water period.

Observation of sample projection on PCA results thus validates the accuracy of the identified dimensions and the viability of TTI components to illustrate different ranges of transit time at Millet karstic system. TTI is therefore able to

provide more information about the functioning of complex karstic systems, even in highly mixed systems like Millet.

3.1.6 Time variability of Transit Time index (TTi)

Lowest TTi values occur in low-flow periods: TTi is 0.3 on average during 2021 low-flow period and 0.5 on average during the 2020 low-flow period (Fig. 4). It is consistent with the relative transit times expected over these two periods based on magnesium contents (~ 1.3 in 2020 vs $\sim 0.8 \text{ mg L}^{-1}$ in 2021) and hydrometeorological conditions as rainfall is more uniformly distributed in time in the 2021 low-flow period than in the 2020 period.

TTi behavior during flood period is complex as it may correlate either (i) negatively (e.g., samples 12 and 15) or (ii) positively (e.g., samples 8–9 and 20) with discharge. Case (i) is expected when infiltrated fresh water, which is rich in organic matter (protein-like compounds), is dominant and thus yields a decrease in TTi. Case (ii) is unusual except at the early stage of high water when infiltrated water flushes out old water (piston effect). At later stages it may be related to the ratio of stored to fresh water being too high to induce a decrease in TTi, for example, in the case of short floods.

It thus appears that TTi is able to identify piston effects and also, as TOC, to identify a slight proportion of freshwater in a mix. However, TTi is more sensitive as seen by its punctual correlation with discharge (case (ii)) and its punctual uncorrelation with TOC as in samples 5 to 8 and 14 to 17 (Fig. 4).

Analysis of time variability of TTi at Millet spring thus (i) reinforces the consistency of TTi variations and (ii) indicates a better sensitivity of this marker than TOC to freshwater arrivals. Thanks to its higher sensitivity, TTi also allows for a better understanding of the Millet karstic system where other natural tracers fail.

3.2 Comparison of average TTi values of Vaucluse karst springs

Visual comparison of electrical conductivity, chloride, magnesium, nitrates, TOC, and TTi distributions from our dataset is provided in Fig. 7. TTi variability is higher than that of other elements at each monitored spring, which suggests that TTi is more sensitive. The TTi median value increases from St Trinit to Nesque springs via Millet spring.

The spring with the lowest TTi values (St Trinit) has the highest karstification level, thinnest unsaturated zone, and highest nitrate and chloride contents, which are compatible with shorter median transit times. As compared to St Trinit, Millet has lower and less variable chloride and nitrate contents and less variable TOC. The anastomose karst network is assumed to provide a mixing effect of infiltrated water. We thus suppose that this system is less affected by fast infiltration than St Trinit. The highest TTi values are found at the Nesque spring, which is the less karstified system. The

relative distribution of TTi values at St Trinit, Millet, and Nesque springs is therefore consistent with the expected behavior of a transit time indicator, depending on their karstification type and thus on their hydrodynamical and hydrochemical responses. The median value of TTi at Fontaine de Vaucluse spring is similar to that of Nesque spring. However, the mean water transit time at Fontaine de Vaucluse spring is expected to be significantly higher than that of Nesque spring because it is the outlet of a wider system with thicker saturated and unsaturated zones. This inconsistency is related to the relatively short timescale of transit times covered by TTi. Maturation of organic matter components constituting TTi is almost complete after 6 months (TOC degradation; Batiot, 2002), while the water flowing from the Fontaine de Vaucluse spring is a mixture of water with a long residence time (several years) and freshwater coming from rapid infiltrations through the shortcuts existing in the underground infiltration network (Margrìta et al., 1970). Transit times of most Fontaine de Vaucluse samples are thus probably out of the range of relevance of TTi to quantitatively identify transit time values. However, TTi as it is more sensitive may identify freshwater arrivals in the mix of waters flowing at the Fontaine de Vaucluse spring during flood events.

3.3 Way forward towards a transferable qualitative tracer and a quantitative approach

As demonstrated in Sect. 3.2 and 3.3, TTi is a new tool which seems to have a real potential to be a qualitative natural tracer of transit time. To make TTi a quantitative natural tracer of transit time, several avenues have to be explored, such as an artificial tracer test, the use of radiogenic isotopes, or the study of organic matter degradation kinetics.

The artificial tracer test consists in injecting a tracer in a place known for its strong and rapid connectivity with the hydrosystem and in monitoring its restitution at a presumed outlet. It thus informs about the existence of a path between the injection point and the outlet and provides an estimate of the transit time between the two. A set of several artificial tracer tests may provide enough transit time values to quantitatively connect TTi with transit time. However, to compare TTi with artificial tracer tests, it is necessary to check that they provide the same information. An artificial tracer test with uranine, tryptophan, and humic-like organic matter performed by Frank et al. (2020) in a karst system shows that uranine has the same transport properties as tryptophan but not as humic-like organic matter. It therefore seems that artificial tracer tests may not correctly illustrate the behavior of all the organic matter compounds involved in TTi. Moreover, not all artificial tracers may be compatible with simultaneous analysis of natural fluorescence of organic matter. For example, widely used uranine may overlay the natural fluorescence of protein-like compounds (P1, tyrosine-like). Indeed, the quantification of artificial tracers in a sample is performed by spectrofluorescence, exactly like the quantifi-

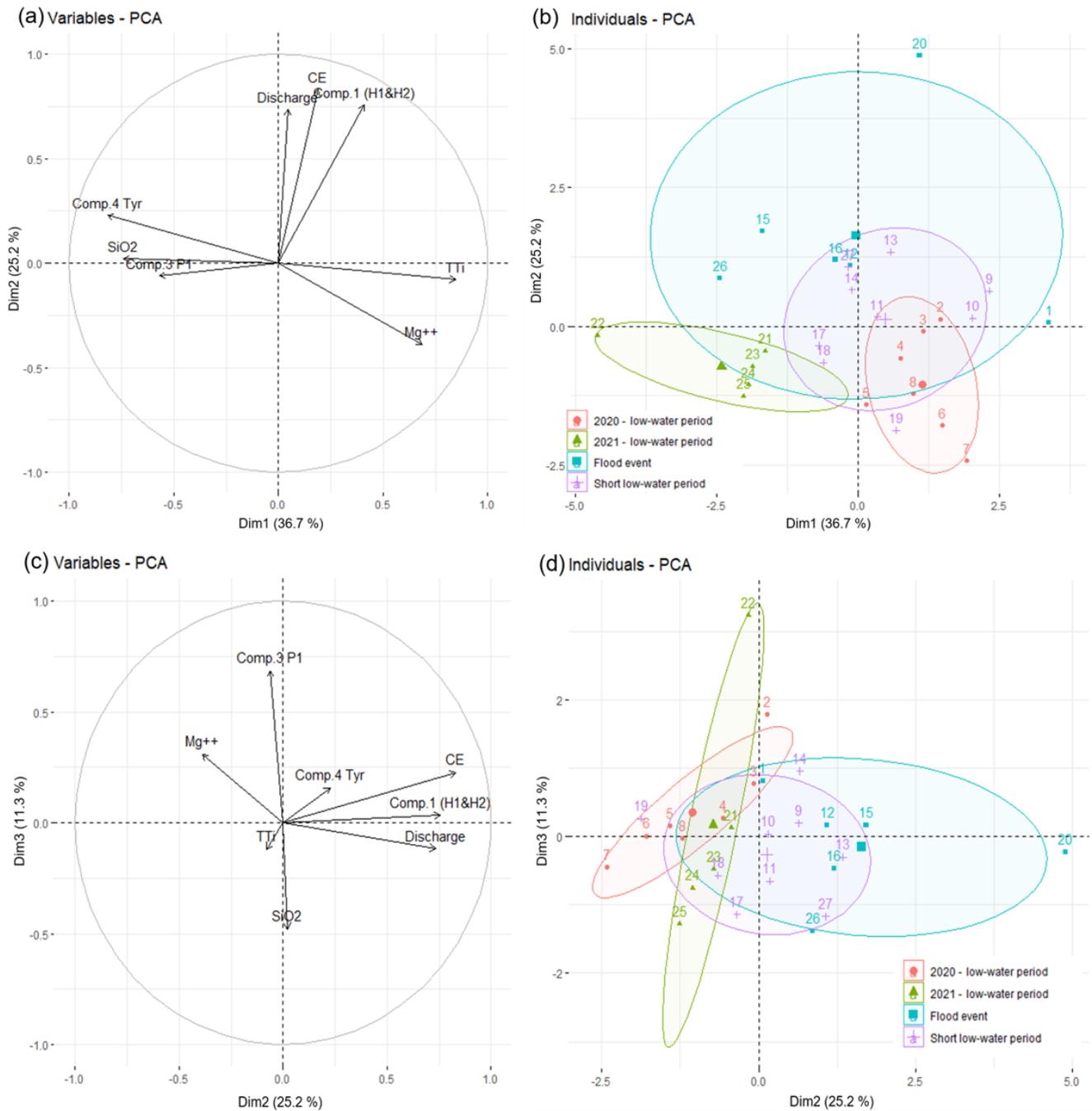


Figure 6. PCA performed with Millet spring samples thanks to the following variables: TTI components, TTI, SiO₂, Mg²⁺, electrical conductivity, and discharge. Dimensions 1 and 2 are presented in (a) and (b) and dimensions 2 and 3 in (c) and (d). Panels (a) and (c) show variables. Panels (b) and (d) show individuals, where point color corresponds to hydrodynamic periods (see Fig. 4) and point label to sample number (see Fig. 4), and the confidence ellipse is 70 %.

cation of fluorescent organic matter compounds needed to calculate TTI. Some artificial tracers have emission and excitation wavelengths in the same area of the EEM of some organic compounds and may thus hide the natural signal of organic matter. Use of such tracers would not be compatible with quantification of TTI. Furthermore, some organic matter

compounds have the ability to adsorb themselves to artificial tracers molecules, which would interfere with the TTI signal. Selection of an artificial tracer in such an experiment will therefore have to be taken with caution. A more fundamental remark is that TTI is related to residence time of a mix of water originating from different paths within the aquifer,

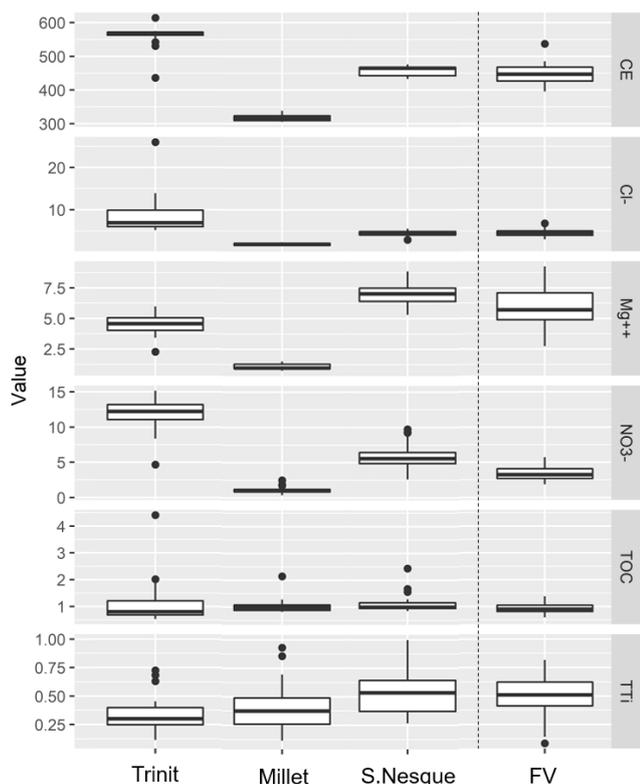


Figure 7. Box plots of electrical conductivity, chlorides, magnesium, nitrates, TOC, and TTI of Fontaine de Vaucluse (FV, 25 samples), Millet (27 samples), Nesque (S. Nesque, 29 samples), and St Trinit (Trinit, 29 samples) springs.

while artificial tracers only trace the fastest circulations due to injection through well-connected conduits. This observation raises the question of the comparability of transit time evidenced by both methods. In addition, the presence of possible injection points is not guaranteed for all hydrosystems. For example, no possible injection point could be identified at Millet spring for now. As a conclusion, artificial tracing may be a good candidate to identify fast infiltration, as long as no interference is possible (fluorescein usage), and the transit time obtained is not mistaken for residence time.

A second approach to establish a quantitative link between TTI and residence time is the use of radiogenic isotopes like beryllium-7, radium, or radon-222. Price apart, the use of radiogenic isotopes may be problematic because of the volume of water needed for analysis which reaches several hundred of liters (e.g 500 L for beryllium-7; Frey et al., 2011), which reserves its use for water flow points with sufficient discharge for sampling to be performed within a sensible timescale. The sampling time for radiogenic isotopes from some flow points in our study can be several days. Even quite important springs may reach low discharges that prevent such analysis during low flows. Nevertheless, radiogenic isotopes can be relevant for linking TTI to transit time values for samples from springs and flows with a sufficient discharge.

The study of the degradation rate of organic matter is also necessary to transform TTI as a quantitative natural tracer because it may help to estimate the duration life of each kind of organic matter in the natural environment and therefore inform on transit time. In soil, the biodegradation of labile organic matter was estimated from 2 to 5 d, while the stable organic matter ranges from 0.2 to 8.6 years (half-life from Kalbitz et al., 2003). But the biological activity is more important in soil than in groundwater. Therefore, these lifetimes obtained in soil are probably shorter than those in groundwater. A recent paper based on the improvement of the understanding of dissolved organic matter degradation in groundwater pointed out the lack of knowledge on this subject (McDonough et al., 2022). As little is known about the behavior of DOM in natural waters, even less is known about fluorescent organic matter, which is a small part of the DOM. The paper cited previously therefore discusses a very long transit time (several years), while we are considering a very short one (weeks to months). Nevertheless, interesting studies were performed about fluorescent organic matter degradation kinetics in soils, or in wastewater, testing different water treatment (De Willigen et al., 2008; Conant et al., 2011; Baldock et al., 2021; Choi et al., 2017; Guo et al., 2020). These studies are difficult to perform, but they could be adapted to natural water in order to improve fluorescent organic matter natural degradation and therefore help in the development of TTI.

The transferability of TTI in different pedoclimatic and anthropogenic contexts may also be questioned. Indeed, anthropic activities and seasonality may affect TTI through organic matter production and degradation:

- Fluorescent organic matter mainly comes from vegetation related to the plant cycle. As the vegetation changes with the seasons, the organic matter supply changes as well, at least in terms of quantity. Seasonality does not significantly affect organic matter composition, as demonstrated in Musadji et al. (2019). Anthropic activities such as land use or wastewater infiltration within the hydrosystem can affect both quantity and types of organic matter compounds because they involve input of external organic matter to the system. The influence of anthropic activity on the type of organic matter compounds may be significant and may vary over time. Moreover, the anthropic activities and the vegetation may vary from one site to another due to different pedoclimatic conditions and complicate the transposition of a quantitative TTI.

As TTI is a ratio of different organic matter compounds, it is calculated independent of the absolute amount of organic matter. Possible bias may appear when very low input of a specific type of organic matter results in DOM content below the detection limits. In this case, degradation is overestimated, which may impact the quantitative relation between TTI and transit time. Overall, we

expect TTI to be little affected by seasonal variations of productivity, even if it is quantitatively linked to residence times. As TTI is a ratio, a regular and constant supply of anthropic organic matter may not impact its variation. But in contrast, a punctual supply of humic or protein-like organic matter may result in an over- or underestimation of TTI.

- The degradation of organic matter involves interactions with biocenose. Degradation occurs at different rates depending on the type of organic matter compounds and on the biodiversity and microbial activity of the soil. The latter may vary throughout seasons and with anthropic activities because of varying factors such as sunlight duration, moisture rate, temperature, climate, or pesticide use.

Variation in space and time in organic matter composition and degradation rate may thus stem from either anthropic or natural factors. Influence of anthropic compounds can be circumvented by careful identification and separation of PARAFAC components. Variation in organic matter composition and degradation kinetics in different pedoclimatic contexts is not an obstacle to the qualitative use of TTI but may be a serious limitation to the transferability of a quantitative link between TTI and residence time. Variation in organic matter degradation kinetics with time on the same hydrosystem throughout the year is questionable, but it is beginning to be studied, as shown by McDonough et al. (2022). A detailed study of the composition of organic matter source in soil and of its future in groundwater through lab tests may provide valuable elements to estimate the lifetime of fluorescent compounds in hydrosystems and thus to quantitatively link TTI with transit time.

4 Conclusions

Groundwater from karst aquifers is an important resource for drinking water supply in the world (Stevanović, 2019). Soils from carbonate aquifers are generally poorly developed, which, combined with the rapidity of groundwater fluxes within karst conduits, explains the vulnerability of these aquifers to contamination. To face the challenge of the protection of karst water resources, several specific hydro-geochemical tracers have been developed by the community to characterize the different types of fluxes and recharge. One of the main current challenges is to develop natural tracers able to estimate water transit times for short time ranges of the order of 0 to 6 months. The main purpose of this work was to study the potential of the ratio of heavy- to light-weight organic compounds (HIX) as a natural tracer of short transit time in karst systems with a strong fast infiltration component in order to characterize the vulnerability of the aquifer.

Critical analysis of former studies showed that although the link between HIX and transit time seems consistent, the whole methodological approach needed to be consolidated. Natural fluorescence from 289 groundwater samples from four springs and 10 flow points located in the unsaturated zone of the Vaucluse karst system was characterized by parallel factor analysis (PARAFAC) of the EEM, thus (i) allowing for the identification of main fluorescent compounds of sampled groundwater and (ii) evidencing the inadequacy of HIX emission windows to characterize groundwater organic matter. We then proposed a new humification index called the Transit Time index (TTi) based on the Ohno (2002) formula but using 3D PARAFAC components of heavy and light organic matter instead of 2D windows.

Finally, we evaluated TTI relevance as a potential transit time tracer by (i) performing a detailed analysis of its dynamics on a selected spring (Millet spring) and (ii) comparing its mean value over karst springs of the Fontaine de Vaucluse system. Principal component analysis (PCA) of TTI, TTI components, and other hydrochemical parameters monitored at Millet spring put in relief the timescales of variability associated with the different organic matter compounds, which we relate to their digestibility. PCA results also provided evidence that TTI can detect a small proportion of fast infiltration water within a mix, while other natural tracers of transit time provide no or less sensitive information. Relative distribution of TTI at monitored karst springs is also consistent with relative transit times expected for small-scale, short average transit time systems. TTI is therefore consistent with other natural tracers of transit time and provides qualitative complementary results. This qualitative approach of transit time based on TTI is transferable to other karst sites, even in the case of anthropic contamination, thanks to PARAFAC modeling.

To be a quantitative tracer of water transit time, TTI needs to be linked with other tools providing quantitative approaches such as radiogenic isotopes, artificial tracer tests, or experimental studies of the degradation kinetics of organic matter. Transferability of the quantitative relation between TTI and transit time from one karst system to another may however be challenging because of organic matter supply variability, which depends on the hydro-pedoclimatic context and anthropic activities.

Code availability. The code is not publicly accessible as it was built following the steps of the package developer available here: https://cran.r-project.org/web/packages/staRdom/vignettes/PARAFAC_analysis_of_EEM.html (last access: 27 October 2021).

Data availability. Discharge time series of Millet spring used in this study are available at <https://doi.org/10.15148/bbae7eab-8abd-40d9-834e-9a0683e59da5> (Mazzilli et al., 2022).

For all the springs, chemical parameters are available at <https://doi.org/10.15148/7b94438a-7bb2-4382-bb25-a4a0c3fdc5d7> (SNO KARST, 2021), and the raw excitation–emission matrix of organic matter fluorescence is available at <https://doi.org/10.15148/8d6104e1-ae78-4b4e-8e50-198ccc5b19c9> (Serène et al., 2022).

Author contributions. MB and the SMBS (<https://www.lasorgue.fr/>, last access: 27 September 2022) took water samples that were analyzed for major elements, TOC, and water stable isotopes by MB, JD, and RS and for fluorescence of organic matter by LS. Formal data analysis was performed by LS and NM. CBG, CE, NM, and LS provided critical feedback and helped to shape the research and the analysis. GM acquired funding. LS prepared the manuscript with contributions from all co-authors.

Competing interests. The contact author has declared that none of the authors has any competing interests.

Disclaimer. Publisher’s note: Copernicus Publications remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Acknowledgements. This work was performed within the framework of the FDV/LSBB observation site, which is part of OZ-CAR (French network of Critical Zone observatories), SNO KARST (French observatory network, <https://sokarst.org/>, last access: 27 September 2022) initiative of INSU/CNRS, which seeks to support knowledge sharing and promote cross-disciplinary research on karst systems, and of the H+ observatory network. The authors would like to express their gratitude to the LSBB team for their technical and logistic help. A special acknowledgement is given to SIAEPA from the Sault region and Veolia for giving us access to Nesque spring.

Financial support. This research has been supported by Total (grant no. 187737) and the Montpellier Université d’Excellence (GAIA competition 2019).

Review statement. This paper was edited by Zhongbo Yu and reviewed by Weiyan Dong and one anonymous referee.

References

- Andersen, C. M. and Bro, R.: Practical aspects of PARAFAC modelling of fluorescence excitation–emission data, *J. Chemom.*, 17, 200–215, <https://doi.org/10.1002/cem.790>, 2003.
- Audra, P., Bigot, J. Y., Camus, H., Gauchon, C., and Wienin, M.: La grotte-mine du Piei (Lagnes, Vaucluse), paléokarst hypogène à remplissage de minerai de fer oxydé, *Karstologia*, 58, 1–14, 2011.
- Baker, A. and Lamont-Black, J.: Fluorescence of dissolved organic matter as a natural tracer of ground water, *Ground Water*, 39, 745, <https://doi-org.ezpum.scdi-montpellier.fr/10.1111/j.1745-6584.2001.tb02365.x>, 2001.
- Barbel-Périneau, A.: Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d’Expérimentation et d’Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d’Apt, PhD thesis, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse, 30, 22, 2179, <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00990290> (last access: 10 May 2022), 2013.
- Batiot, C.: Etude expérimentale du cycle du carbone en régions karstiques: apport du carbone organique et du carbone minéral à la connaissance hydrogéologique des systèmes, PhD thesis, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse, France, <https://www.theses.fr/2002AVIG0029> (last access: 10 May 2022), 2002.
- Batiot, C., Liñán, C., Andreo, B., Emblanch, C., Carrasco, F., and Blavoux, B.: Use of Total Organic Carbon (TOC) as tracer of diffuse infiltration in a dolomitic karstic system: The Nerja Cave (Andalusia, southern Spain), *Geophys. Res. Lett.* 30, 2179, <https://doi.org/10.1029/2003GL018546>, 2003.
- Bicalho, C. C., Batiot-Guilhe, C., Seidel, J. L., Van Exter, S., and Jourde, H.: Geochemical evidence of water source characterization and hydrodynamic responses in a karst aquifer, *J. Hydrol.*, 450, 206–218, 2012.
- Birdwell, J. E. and Engel, A. S.: Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy, *Org. Geochem.* 41, 270–280, <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.11.002>, 2010.
- Blondel, T.: Expérimentation et application sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d’Apt et de Fontaine de Vaucluse, PhD thesis, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse, <https://www.theses.fr/2008AVIG0044> (last access: 10 May 2022), 2008.
- Blondel, T., Emblanch, C., Batiot-Guilhe, C., Dudal, Y., and Boyer, D.: Punctual and continuous estimation of transit time from dissolved organic matter fluorescence properties in karst aquifers, application to groundwaters of “Fontaine de Vaucluse” experimental basin (SE France), *Environ. Earth Sci.* 65, 2299–2309, <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1562-x>, 2012.
- Choi, Y. Y., Baek, S. R., Kim, J. I., Choi, J. W., Hur, J., Lee, T. U., Park, C. J., and Lee, B. J.: Characteristics and biodegradability of wastewater organic matter in municipal wastewater treatment plants collecting domestic wastewater and industrial discharge, *Water*, 9, 409, <https://doi.org/10.3390/w9060409>, 2017.
- Cognard-Plancq, A.-L., Gevaudan, C., and Emblanch, C.: Historical monthly rainfall–runoff database on Fontaine de Vaucluse karst system: a review and lessons, *IIIe Symposium International Sur le Karst “Groundwater in the Mediterranean Countries”*, 465–475, 2006.

- Conant, R. T., Ryan, M. G., Ågren, G. I., Birge, H. E., Davidson, E. A., Eliasson, P. E., Evans, S. E., Frey, S. D., Giardina, C. P., Hopkins, F. M., Hyvönon, R., Kirschbaum, M. U. F., Lavelle, J. M., Leifeld, J., Parton, W. J., Steinweg, J. M., Wallenstein, M. D., Wetterstedt, A. M., and Bradford, M. A.: Temperature and soil organic matter decomposition rates—synthesis of current knowledge and a way forward, *Glob. Change Biol.*, 17, 3392–3404, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x>, 2011.
- De Willigen, P., Janssen, B. H., Heesmans, H. I. M., Conijn, J. G., Velthof, G. L., and Chardon, W. J.: Decomposition and accumulation of organic matter in soil; comparison of some models (No. 1726), *Alterra*, ISSN 1566-7197, 2008.
- Emblanch, C., Blavoux, B., Puig, J. M., and Couren, M.: Le marquage de la zone non saturée du karst à l'aide du Carbone 13: The use of carbon 13 as a tracer of the karst unsaturated zone, *Comptes-Rendus Séances Académie Sci. Séries IIA-Earth and Planetary Science*, 327–332, 1998.
- Emblanch, C., Charmoille, A., Jimenez, P., Andreo, B., Mudry, J., Bertrand, C., Batiot-Guilhe, C., and Lastennet, R.: Variabilité du type et de la qualité de l'information issue du traçage naturel en fonction des caractéristiques des systèmes étudiés, Quelques exemples français et espagnols, in: *Proceedings of the 8th Conference on Limestone Hydrogeology*, Neuchâtel, 101–104, 2006.
- Ewald, M., Berger, P., and Visser, S. A.: UV-visible absorption and fluorescence properties of fulvic acids of microbial origin as functions of their molecular weights, *Geoderma*, 43, 11–20, [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(88\)90051-1](https://doi.org/10.1016/0016-7061(88)90051-1), 1988.
- Frank, S., Goepfert, N., and Goldscheider, N.: Field tracer tests to evaluate transport properties of tryptophan and humic acid in karst, *Groundwater*, 59, 59–70, <https://doi.org/10.1111/gwat.13015>, 2021.
- Frey, S., Kuells, C., and Schlosser, C.: New Hydrological Age-Dating techniques using cosmogenic radionuclides Beryllium-7 and Sodium-22, *IAEA-CN-186*, 2011.
- Garry, B.: Etude des processus d'écoulements 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 de Vaucluse, <https://www.theses.fr/2007AVIG0038> (last access: 10 May 2022), 2007.
- Guo, Y., Niu, Q., Sugano, T., and Li, Y. Y.: Biodegradable organic matter-containing ammonium wastewater treatment through simultaneous partial nitrification, anammox, denitrification and COD oxidization process, *Sci. Total Environ.*, 714, 136740, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136740>, 2020.
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D., and Matzner, E.: Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties, *Geoderma*, 113, 273–291, [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(02\)00365-8](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(02)00365-8), 2003.
- Lakowicz, J. R.: *Principles of fluorescence spectroscopy*, 3 Edn. Springer, New York, ISBN: 978-0-387-31278-1, 2006.
- Lapworth, D. J., Goody, D. C., Butcher, A. S., and Morris, B. L.: Tracing groundwater flow and sources of organic carbon in sandstone aquifers using fluorescence properties of dissolved organic matter (DOM), *Appl. Geochem.*, 23, 3384–3390, <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.07.011>, 2008.
- Lastennet, R.: Rôle de la zone non saturée dans le fonctionnement des aquifères karstiques: approche par l'étude physico-chimique et isotopique du signal d'entrée et des exutoires du massif du Ventoux (Vaucluse), PhD thesis, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France, <https://www.theses.fr/1994AVIG0018> (last access: 10 May 2022), 1994.
- Lastennet, R. and Mudry, J.: Role of karstification and rainfall in the behavior of a heterogeneous karst system, *Environ. Geol.*, 32, 114–123, 1997.
- Lawaetz, A. J. and Stedmon, C. A.: Fluorescence Intensity Calibration Using the Raman Scatter Peak of Water, *Appl. Spectrosc.*, 63, 936–940, <https://doi.org/10.1366/000370209788964548>, 2009.
- Lee, S., Wolberg, G., and Shin, S. Y.: Scattered data interpolation with multilevel B-splines, *IEEE T. Vis. Comput. Graph.*, 3, 228–244, <https://doi.org/10.1109/2945.620490>, 1997.
- Malik, P., Švasta, J., Michalko, J., and Gregor, M.: Indicative mean transit time estimation from $\delta^{18}\text{O}$ values as groundwater vulnerability indicator in karst-fissure aquifers, *Environ. Earth Sci.* 75, 988, <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5791-2>, 2016.
- Margrita, R., Evin, J., Flandrin, J., and Paloc, H.: Contribution des mesures isotopiques à l'étude de la Fontaine de Vaucluse, *AIEA (Vienna) SM*, 129, 333–348, 1970.
- Mazzilli, N., Cinkus, G., Masseron, L., and Emblanch, C.: Discharge time series for Millet spring (fontaine de Vaucluse karst system), *OSU OREME*, [data set], <https://doi.org/10.15148/bbae7eab-8abd-40d9-834e-9a0683e59da5>, 2022.
- McDonough, L. K., Andersen, M. S., Behnke, M. I., Rutledge, H., Oudone, P., Meredith, K., O'Carroll, D. M., Santos, I. R., Marjo, C. E., Spencer, R. G. M., McKenna, A. M., and Baker, A.: A new conceptual framework for the transformation of groundwater dissolved organic matter, *Nat. Commun.*, 13, 2153, <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29711-9>, 2022.
- Mobed, J. J., Hemmingsen, S. L., Autry, J. L., and McGown, L. B.: Fluorescence Characterization of IHSS Humic Substances: Total Luminescence Spectra with Absorbance Correction, *Environ. Sci. Technol.*, 30, 3061–3065, <https://doi.org/10.1021/es960132l>, 1996.
- Mudarra, M., Andreo, B., and Baker, A.: Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence: Relationship with infiltration processes, *Sci. Total Environ.*, 409, 3448–3462, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.026>, 2011.
- Murphy, K. R., Stedmon, C. A., Graeber, D., and Bro, R.: Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques, *PARAFAC*, *Anal. Methods*, 5, 6557, <https://doi.org/10.1039/c3ay41160e>, 2013.
- Musadji, N. Y., Lemée, L., Caner, L., Porel, G., Poinot, P., and Geffroy-Rodier, C.: Spectral characteristics of soil dissolved organic matter: Long-term effects of exogenous organic matter on soil organic matter and spatial-temporal changes, *Chemosphere*, 27, 104665, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124808>, 2019.
- Musgrove, M., Solder, J. E., Opsahl, S. P., and Wilson, J. T.: Timescales of water-quality change in a karst aquifer, south-central Texas, *J. Hydrol. X*, 4, 100041, <https://doi.org/10.1016/j.hydroa.2019.100041>, 2019.
- Ohno, T.: Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter, *Environ. Sci. Technol.*, 36, 742–746, <https://doi.org/10.1021/es0155276>, 2002.

- Ollivier, C.: Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrosystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France, PhD thesis, Université d'Avignon, <https://www.theses.fr/2019AVIG0056> (last access: 10 May 2022), 2020.
- Pérotin, L., de Montety, V., Ladouche, B., Bailly-Comte, V., Labasque, T., Vergnaud, V., Muller, R., Champollion, C., Tweed, S., and Seidel, J.-L.: Transfer of dissolved gases through a thick karstic vadose zone – Implications for recharge characterisation and groundwater age dating in karstic aquifers, *J. Hydrol.*, 601, 126576, <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126576>, 2021.
- Pronk, M., Goldscheider, N., and Zopfi, J.: Microbial communities in karst groundwater and their potential use for biomonitoring, *Hydrogeol. J.*, 17, 37–48, <https://doi.org/10.1007/s10040-008-0350-x>, 2009.
- Pucher, M., Wünsch, U., Weigelhofer, G., Murphy, K., Hein, T., and Graeber, D.: staRdom: Versatile Software for Analyzing Spectroscopic Data of Dissolved Organic Matter in R, *Water*, 11, 2366, <https://doi.org/10.3390/w11112366>, 2019.
- Quiers, M., Batiot-Guilhe, C., Bicalho, C. C., Perrette, Y., Seidel, J.-L., and Van Exter, S.: Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in a karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter, *Environ. Earth Sci.*, 71, 553–561, <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2731-2>, 2014.
- Ravbar, N., Engelhardt, I., and Goldscheider, N.: Anomalous behaviour of specific electrical conductivity at a karst spring induced by variable catchment boundaries: the case of the Podstenjšek spring, Slovenia, *Hydrol. Proc.*, 25, 2130–2140, 2011.
- Serene, L., Batiot-Guilhe, C., Emblanch, C., Mazzilli, N., and Massonat, G.: Natural fluorescence of organic matter excitation-emission matrix (EEM) of underground water from Fontaine de Vaucluse system (2020 to 2021), OSU OREME, [data set], <https://doi.org/10.15148/8d6104e1-ae78-4b4e-8e50-198ccc5b19c9>, 2022.
- SNO KARST: Time series of type chemistry in Fontaine de Vaucluse basin, FONTAINE DE VAUCLUSE observatory, KARST observatory network, OZCAR Critical Zone network Research Infrastructure, OSU OREME, [data set], <https://doi.org/10.15148/7b94438a-7bb2-4382-bb25-a4a0c3fdc5d7>, 2021.
- Sorensen, J. P. R., Carr, A. F., Nayebare, J., Diongue, D. M. L., Pouye, A., Roffo, R., Gwengweya, G., Ward, J. S. T., Kanoti, J., Okotto-Okotto, J., van der Marel, L., Ciric, L., Faye, S. C., Gaye, C. B., Goodall, T., Kulabako, R., Lapworth, D. J., MacDonald, A. M., Monjerezi, M., Olago, D., Owor, M., Read, D. S., and Taylor, R. G.: Tryptophan-like and humic-like fluorophores are extracellular in groundwater: implications as real-time faecal indicators, *Sci. Rep.*, 10, 15379, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72258-2>, 2020.
- Stevanović, Z.: Karst waters in potable water supply: a global scale overview, *Environ. Earth Sci.*, 78, 662, <https://doi.org/10.1007/s12665-019-8670-9>, 2019.
- Tucker, S. A., Amszi, V. L., and Acree, W. E.: Primary and secondary inner filtering. Effect of $K_2Cr_2O_7$ on fluorescence emission intensities of quinine sulfate, *J. Chem. Educ.*, 69, <https://doi.org/10.1021/ed069pA8>, 1992.
- White, W. B.: Karst hydrology: recent developments and open questions, *Eng. Geol.*, 65, 85–105, [https://doi.org/10.1016/S0013-7952\(01\)00116-8](https://doi.org/10.1016/S0013-7952(01)00116-8), 2002.
- Zhang, Z., Chen, X., Li, S., Yue, F., Cheng, Q., Peng, T., and Soulsby, C.: Linking nitrate dynamics to water age in underground conduit flows in a karst catchment, *J. Hydrol.*, 596, 125699, <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125699>, 2021.
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., and Saccomandi, F.: Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying, *Chemosphere*, 38, 45–50, [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0), 1999.

IV.2 Etude des variations temporelles des composés fluorescents constituant le TTI aux sources de Millet, St Trinit et la Nesque afin de caractériser leur origine (naturelle, anthropique)

La modélisation PARAFAC à l'origine du développement du TTI a conduit à l'identification de composés de types humic-like C, Tryptophane, Tyrosine et d'un composé nommé P1. Ce dernier a ensuite été réinterprété en composé humic-like M (partie V). L'intensité de fluorescence des composés de type humic-like M est très faible en comparaison aux autres composés. Elle représente en moyenne 5,4 % de l'intensité totale de l'échantillon, contre 45,6 % pour le composé humic-like C, et 49 % pour la somme des protéiques (Tryptophane et Tyrosine). La définition initiale de Blondel et al. (2012) consiste en un ratio entre les composés de type humic-like et les protein-like. Sur notre set de données, déplacer le poids du composé humic-like M au numérateur du ratio permettant le calcul du TTI n'engendre qu'une faible augmentation de son estimation d'en moyenne 0.05 %. Les résultats présentés dans l'article précédent (partie IV.1) ne sont donc pas remis en question par la reclassification du composé P1 en humic-like M. Néanmoins, cet écart dépend essentiellement de l'intensité de fluorescence du composé humic-like M, ce qui peut influencer l'étude des chroniques de TTI pour des échantillons présentant des intensités élevées pour ce composé. De plus, comme l'origine de l'ensemble des composés fluorescents de ces trois sources est supposée allochtone vis-à-vis de l'aquifère, c'est la structure moléculaire des composés qui permet d'évaluer le temps de séjour puisque les composés plus simples seront plus vite biodégradés; alors que si l'origine des composés humic-like M et protein-like est attribuée à une production autochtone (dans l'aquifère), le composé humic-like M aurait sa place au dénominateur car c'est la production autochtone qui pourrait être relié au temps de séjour et non plus la structure des composés organiques.

Cette sous-section vise ainsi à mieux comprendre l'origine de la variabilité du TTI, vérifier la pertinence de l'outil et d'identifier les probables sources des composés organiques afin de vérifier si l'hypothèse d'une origine allochtone est bien validée aux sources de St Trinit, Millet et de la Nesque.

Les différentes valeurs moyennes de TTI aux sources de St Trinit, Millet et la Nesque sont majoritairement liées aux différences de teneurs en composés humic-like C, présents au numérateur du ratio du TTI (Figure 3.10).

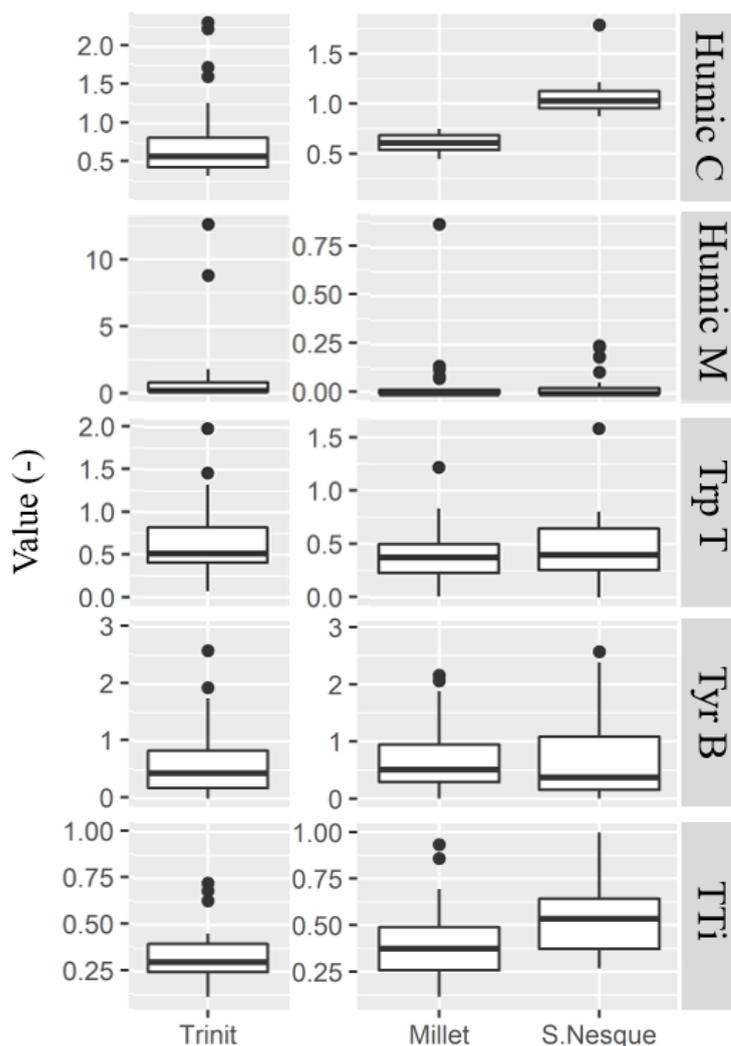


Figure 3. 10 : Boîte à moustache des intensités de fluorescence des composés Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan et Tyrosine ainsi que du TTI aux sources de St Trinit, Millet et de la Nesque.

Dans le cas où on supposerait que les sols des bassins d'alimentation de ces trois sources soient identiques ou comparables, les différences d'intensité de fluorescence pour les composés humic-like C pourraient être liées à une variation du potentiel d'adsorption en fonction des lithologies traversées (McKnight et al., 1992), ainsi qu'en fonction des chemins empruntés par l'eau (drains ou matrice) au sein du système karstique. On observerait alors des intensités plus fortes à la source de St Trinit et plus faibles à la Nesque du fait de leurs degrés de karstification respectivement fort et faible. Cependant, c'est l'inverse qui est observé, ce qui va en faveur d'apports différents en matière organique dans ces trois sources. De plus, l'occupation des sols de ces trois sources est très différente (voir chapitre 2, partie I.2). Les composés fluorescents ne peuvent donc pas y être directement comparés, puisque leurs intensités de fluorescence dépendent nécessairement des apports en matière organique

du sol et de la couverture végétale. Néanmoins, cela ne compromet pas la comparaison des sources par le biais de ratios tels que le TTI dans le cas où les composés fluorescents auraient les mêmes origines et seraient soumis au(x) même(s) processus.

Les variations temporelles du composé humic-like C sont bien plus importantes à la source de **St Trinit** qu'à Millet et la Nesque (Figure 3.10 et Figure 3.11). Les deux principaux pics à la source de St Trinit sont associés aux deux pics de composés humic-like M, ainsi qu'à des pics de protéin-like d'importance plus limitée. Ils sont aussi corrélés à de plus faibles conductivités électriques suggérant une dilution avec des eaux d'infiltration récente, et de ce fait des infiltrations très rapides (Figure 3.11). Le composé humic-like M ainsi que les autres composés de type protéiques semblent ainsi être, au moins en partie voire majoritairement, d'origine allochtone. De plus, la rapidité des transferts de la source de St Trinit liée à son haut degré de karstification est peu susceptible de permettre une production autochtone importante, faute d'un délai suffisant pour que les microorganismes, même nombreux, dégradent la matière organique. Ainsi, à la source de St Trinit, la majorité des composés organiques fluorescents semblent être allochtones du milieu karstique, en provenance directe du sol ou de l'activité anthropique liée à l'agriculture (amendement, épandage) développée sur son bassin d'alimentation.

A la source de **Millet**, l'influence anthropique est très faible voir absente. L'ACP présentée en partie IV.1 (Figure 6 de l'article partie III.2) montre une forte corrélation entre le TTI et le magnésium. L'utilisation du magnésium comme indicateur de temps de séjour ayant également fait ses preuves à cette source (Batiot et al., 2003a; Emblanch et al., 1998), il semblerait de ce fait que la majorité des composés fluorescents soient allochtones du système de Millet. Cependant, le pic de composés Humic-like M observé à la source de Millet est corrélé à un pic des composés de type protéin-like, mais pas à une augmentation de l'intensité en composés humic-like C. Ce pic apparaît quelques mois après une crue majeure et pourrait correspondre à un transfert plus lent et matriciel lié à cet important épisode pluvieux, ayant permis la production de composés fluorescents autochtones. Cependant, bien que la source de Millet soit moins concernée par la contamination anthropique que les sources de la Nesque et de St Trinit, une origine majoritairement allochtone des composés fluorescents n'est pas incohérente. En effet, le sol du bassin d'alimentation de cette source est plus épais qu'ailleurs (plusieurs dizaines de centimètres). Il est recouvert d'une épaisse forêt de feuillus (chênes), qui, en automne, forment au sol une épaisse couche de feuilles mortes. L'apport plus important de matière organique par la végétation et la forte épaisseur de sol pourrait

constituer un apport suffisant et durable aux communautés microbiennes leur permettant de dégrader la matière organique en plus de l'humifier et ainsi produire des composés protéiques.

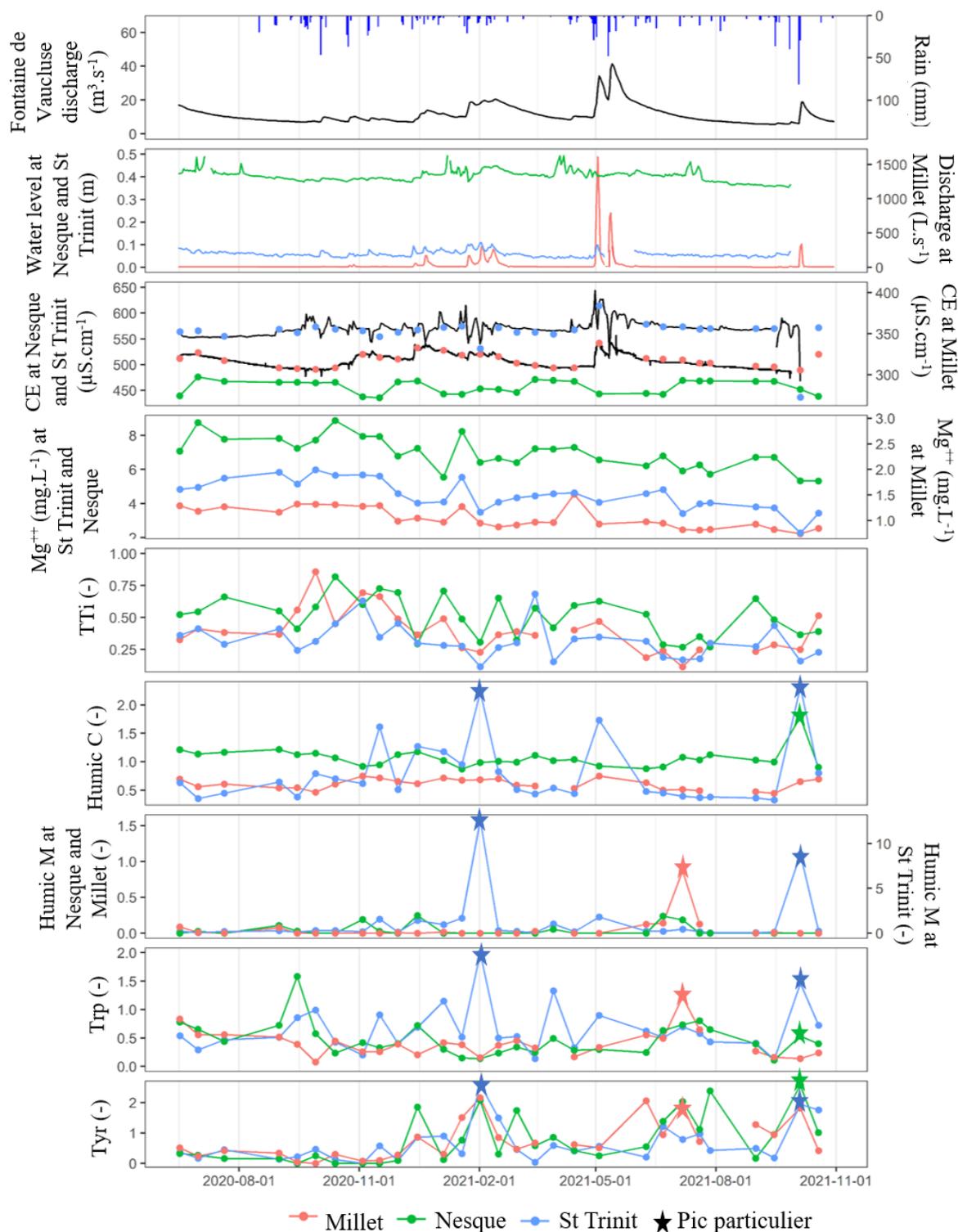


Figure 3. 11 : Chroniques des pluies à St Christol, du débit de fontaine de Vaucluse et du débit, conductivité, magnésium, TTI, et composés fluorescents des sources de St Trinit, Millet et la Nesque.

A la source de la **Nesque**, un pic du composé Humic-like C est également observé en octobre 2021, corrélé à des pics de moindre importance de composés protein-like qui pourraient également être liés à une source anthropique (agriculture). Du fait de la plus lente réactivité de la source de la Nesque par rapport à St Trinit, il est également possible qu'une partie des composés protein-like aient le temps d'être minéralisés, ce qui expliquerait que seuls des pics de faibles intensités peuvent être observés. De plus, l'ACP présentée en Figure 3.12 montre une assez bonne corrélation pour le T*Ti* et le magnésium, anti-corrélée à la tyrosine. Le contexte géologique étant comparable aux autres sources et aux écoulements du LSBB, à savoir des calcaires et non des dolomies, on peut supposer que le magnésium augmente également pour des temps de séjour longs. De ce fait, le T*Ti* évoluerait de la même manière, ce qui laisse supposer que la plupart des composés sont d'origine allochtone et se minéralisent progressivement une fois dans l'aquifère. Tout comme à la source de St Trinit, nous pouvons supposer que la majorité des composés fluorescents de l'aquifère provient du sol dont au moins une partie serait d'origine anthropique en lien avec les activités agricoles. Cependant, il est aussi possible qu'une partie de ces composés, même minoritaire, soit produite au sein de l'hydrosystème de la Nesque, du fait d'une réponse hydrodynamique plus lente et d'une karstification moins développée, bien que les composés organique semble être majoritairement allochtones.

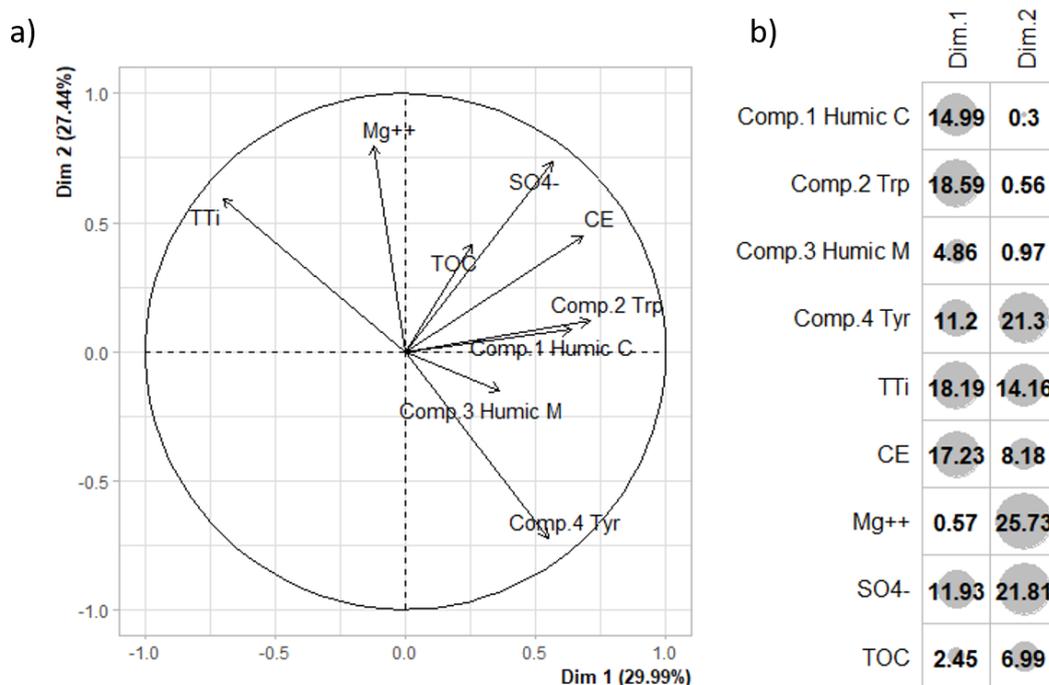


Figure 3. 12 : ACP des échantillons d'eau de la source de la Nesque avec les variables suivantes : T*Ti* et les composés fluorescents, COC, magnésium, silice, sulfates et conductivité électrique. a) représentation des dimensions 1 et 2; b) contribution des variables à chaque dimension.

Il apparaît donc que les composés protein-likes et humic-like M soient majoritairement allochtones des systèmes de Millet, la Nesque et St Trinit. Cela valide l'interprétation du TTI proposée dans l'article sur le TTI des sources en partie IV.1. Néanmoins pour des échantillons de sources karstiques présentant de fortes intensités en composés humic-like M, l'utilisation du TTI ainsi défini nécessite des précautions car elle peut être associée à une erreur ponctuelle non négligeable. C'est pourquoi il est conseillé de considérer également les chroniques temporelles des composés fluorescents afin d'identifier les échantillons dont l'interprétation du TTI pourrait être biaisée. En l'absence d'analyse spécifique de la composition organique des sols sur les bassins d'alimentation de ces trois sources, d'analyses microbiologiques évaluant l'activité microbienne, ainsi que de connaissances précises des apports anthropiques éventuels de matière organique (amendement, rejet d'eaux usées) il est difficile de caractériser précisément la provenance des composés fluorescents (allochtones/autochtones). Une estimation quantitative des temps de transit de l'eau au sein de ces 3 systèmes par le biais du TTI ne pourrait ainsi être faite qu'après cette caractérisation des sources de matières organiques et des processus microbiologiques les affectant.

V. Application du TTI au sein d'une zone non saturée karstique non soumise à l'activité anthropique

V.I. Résumé

La partie IV propose une amélioration de l'usage de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de séjour, initialement développée par Blondel et al. (2012). Le nouvel indice de fluorescence développé (TTI), permet une distinction claire des sources de St Trinit, Millet et de la Nesque en accord avec les temps de transit supposés. Cependant, l'interprétation de cet indice est basée sur l'origine essentiellement allochtone des composés fluorescents (partiellement d'origine anthropique) qui permettent d'attribuer les valeurs du TTI proche de 1 aux longs temps de séjour. Cette approche reste à consolider avec des connaissances supplémentaires sur l'activité microbiologique au sein des hydrosystèmes, des analyses spécifiques de la composition organique des sols et de données précises concernant les apports anthropiques sur les bassins de ces sources (partie IV.2). A plus petite échelle, ces données sont plus facilement accessibles, c'est pourquoi l'article présenté ci-après aborde les

écoulements du LSBB, site expérimental qui présente pour caractéristique de n'être pas influencé par l'activité anthropique. Un important suivi mensuel de la fluorescence de la matière organique du sol a été réalisé sur ce site dans le cadre de la thèse de Blondel (2008) sur près de 2,5 cycles hydrologiques. Bien que ces données n'aient pas été recueillies à la même période (2005-2008) que le suivi sur les eaux (2020-2021), elles couvrent une longue période hydrologique permettant d'évaluer la variabilité saisonnière de la composition organique du sol et des eaux d'infiltration. Étant donné que l'occupation des sols et la végétation n'ont pas changé depuis ces travaux, ces données peuvent être comparées aux eaux suivies dans le cadre de ces travaux de thèse.

L'étude de la fluorescence de la matière organique aux écoulements au sein de la zone non saturée du LSBB présente ainsi plusieurs atouts : la présence d'analyses de sols permettant de mieux appréhender l'origine des composés fluorescents, l'absence d'apport anthropique de matière organique, des sols aux caractéristiques différentes de ceux des bassins d'alimentation des sources étudiées plus haut (faible épaisseur et faible densité de végétation).

Les échantillons d'eau prélevés en galerie du LSBB ont révélé la présence des mêmes composés que ceux identifiés dans les sources, y compris des composés de types protein-like généralement attribués aux environnements influencés par l'activité anthropique (Coble, 2014; Mudarra et al., 2011; Quiers et al., 2014). Dans les échantillons d'eau du sol analysés dans les travaux de Blondel (2008), seuls les composés de type humic-like C ont été retrouvés durant toute la période suivie (2,5 cycles), suggérant ainsi que l'ensemble des autres composés proviennent d'une production autochtone de l'hydrosystème du LSBB. Cette analyse a conduit à l'élaboration d'un modèle conceptuel des origines et processus affectant les composés fluorescents depuis le sol jusqu'à la ZNS spécifique au LSBB et transposable dans des environnements karstiques comparables non soumis à l'activité anthropique. Il est donc envisageable qu'une production autochtone de ces mêmes composés soit possible dans les systèmes drainés par les sources de St Trinit, Millet et de la Nesque bien que probablement très minoritaire par rapport à l'origine allochtone de ces composés. Grâce à ce modèle conceptuel, des hypothèses de lien entre l'intensité de fluorescence des composés et un temps de transit qualitatif ont pu être formulées. Ainsi, en présence uniquement de composés de type humic-like C, le temps de séjour de l'eau est plutôt court (pas assez long pour permettre la production des autres composés, de l'ordre de quelques jours à quelques semaines); il est moyen lorsqu'on retrouve à la fois des composés humic-like C et des

protein-like (de quelques semaines à quelques mois); et long lorsqu'on trouve en plus des composés humic-like C et protein-like des composés humic-like M (plusieurs mois).

Sur les 5 écoulements du LSBB considérés (A, B, C, D et AJ), les temps de transit relatifs obtenus grâce à la fluorescence de la matière organique sont cohérents avec les travaux de Barbel-Périneau et al. (2019) prenant en compte 10 ans de suivi bi-mensuel de la chimie des eaux du LSBB. La fluorescence de la matière organique semble même permettre d'aller plus loin en apportant des informations complémentaires, notamment pour distinguer les écoulements A et B. Les résultats montrent également que le TTi semble convenablement refléter les informations issues de l'étude des composés fluorescents, en restant cohérent avec les temps de transit présumés par Barbel-Périneau et al. (2019) et en présentant une sensibilité plus forte que les autres traceurs naturels utilisés (éléments majeurs, $d^{18}O$, conductivité électrique, débit). Cependant, dans le détail, les variations temporelles des composés fluorescents ainsi que du TTi sont parfois difficiles à interpréter, faute de comparaison avec d'autres traceurs présentant une variabilité aussi forte considérant le pas de temps d'échantillonnage utilisé (bi-mensuel). Cela suggère que les composés fluorescents permettent d'atteindre un niveau d'information non accessible par les autres traceurs utilisés sur le site jusqu'à présent.

L'utilisation du TTi sur des écoulements en zone non saturée karstique non soumise à l'activité anthropique est ainsi validée en tant que traceur naturel qualitatif des temps de transit. Cette utilisation requiert néanmoins une bonne connaissance de l'origine des composés. En effet, au LSBB, la production autochtone de composés protein-like et humic-like M semble être majoritaire. Les fortes valeurs du TTi, puisqu'elles sont associées à des fortes intensités en matière organique humic-like C, relèvent de courts temps de séjour; alors les fortes valeurs de TTi sont associées à des longs temps de séjours aux sources de St Trinit, Millet et la Nesque où l'origine allochtone de ces mêmes composés est supposée majoritaire. Des connaissances sur l'activité microbiologique des hydrosystèmes sont également capitales puisqu'elle est à l'origine de la production et de la plupart des transformations de la matière organique. La poursuite du développement de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de séjour en milieux karstiques nécessite par conséquent une collaboration étroite entre les différentes communautés scientifiques (hydrogéologues, microbiologistes, pédologues, ...), afin de mieux comprendre les variations de cet outil puissant et abordable.

V.2. Use of fluorescent organic matter as a natural tracer of transit time. Application to the unsaturated zone of Fontaine de Vaucluse karst system

Leïla Serène¹, Naomi Mazzilli², Christelle Batiot-Guilhe¹, Christophe Emblanch², Milanka Babic², Julien Dupont², Roland Simler², Matthieu Blanc, Gérard Massonnat³

¹HSM, Univ Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier, France

²UMR 1114 EMMAH (AU-INRAE), Université d'Avignon, 84000 Avignon, France

³TotalEnergies, CSTJF, Avenue Larribau, CEDEX 64018 Pau, France

Abstract

Karst aquifers constitute an important water resource, but they are also very complex and fast reacting systems. Partition between fast and slow flows heavily impacts karst water availability and quality. Characterizing karst fast flows is a challenging task which may take advantage of the characterization of organic matter as organic compounds are supplied by soil and fastly transformed during their circulation from the soil to the aquifer outlet (Baker and Lamont-Black, 2001). Serène et al. (2022) proposed a fluorescence based index called TTi (Transit Time index) in order to qualitatively assess transit time. Assuming minor autochthonous production within the hydrosystem, this index showed its consistency with expected transit time of 3 karst springs from the Fontaine de Vaucluse system. The present study aims to further assess the potential of fluorescent compounds to be a natural tracer of transit time when applied to unsaturated zone flows with natural catchments from the Fontaine de Vaucluse system. For this purpose, a bi-monthly sampling of one-year monitoring from June 2020 to October 2021 was performed for organic matter fluorescence, TOC, major elements and water stable isotopes. The presence of protein-like (Tyrosine and Tryptophan) and humic-like M compounds is observed which is rare in natural environments (Coble et al., 2014). A conceptual model of fluorescent compounds sources and fates is built putting into relief the allochthonous origin of Humic-like C compounds, and the autochthonous production of Humic-like M and protein-like compounds within the unsaturated zone. Comparison of the different fluorescent compounds intensities at flow points reveals consistent relative transit times with their respective behavior characterized in Barbel-Périneau et al. (2019) and also provides complementary information. Results also show TTi ability to summarize fluorescent compounds, its consistency with relative transit time, and its higher sensitivity as compared with other natural tracers. Transit time index (TTi) therefore appears to be a low cost powerful tool, having high variation frequency

(Serène et al., 2022), able to qualitatively assess transit time. However, prior to its use a thorough assessment of soil organic matter, microbial activity and potential anthropogenic contamination is needed. Further developments of this approach require an interdisciplinary collaboration between hydrogeologists, microbiologists, and pedologists.

V.2.1. Introduction

Karst aquifers contribute to 13% of the total global withdrawal of groundwater and provide 9.2% of the world's drinking water (Stevanović, 2019). Karsts are therefore essential to water supply but they are also very complex and fast reacting systems due to their hierarchized network of conduits (White, 2002) that heavily impacts water availability and quality. Characterizing karst fast flows is a challenging task which may take advantage of the characterization of organic matter as organic compounds are supplied by soil and fastly transformed during their circulation from the soil to the aquifer outlet (Baker and Lamont-Black, 2001).

Fresh organic matter (litter, dead organisms and roots) provided by the land cover contains a soluble fraction corresponding in part to the dissolved organic matter (DOM) found in soil pores (Duchaufour et al., 2020; Shen et al., 2015). During rain events, saturation increase is associated with an increase in soil pores connectivity, thus triggering the renewal of soil water and the infiltration towards the aquifer of a mix of recently infiltrated water from rainfall and more ancient soil waters containing dissolved organic matter. Hydrology was identified as the main factor of the amount of transported organic matter within hydrosystems by Kalbitz et al. (2000), Bracken et al. (2013) and Covino (2017).

Along its transport from the surface towards the aquifer, organic matter is transformed by several biological processes : mineralisation, humification and degradation (Duchaufour et al., 2020). Mineralisation results in the release of inorganic molecules such as NO_3^- , SO_4^{2-} , and ions like Mg^{2+} . Humification and degradation involve the release of organic molecules (resp. humic-like and protein-like compounds). These two processes may coexist but they are antagonist as humification corresponds to organic matter complexation, and degradation to the release of molecules of a lower molecular weight (Wang et al., 2022). Molecular complexity of fluorescent compounds can be assessed by organic matter emission wavelength which increases with the number of conjugated bonds and aromatic nuclei (Ewald et al., 1988; Zsolnay et al., 1999). Fluorescence thus allows the distinction of compound families and types of a part of aquatic organic matter (Coble et al., 2014).

Organic matter is usually divided into two groups of different molecular structures and weights : humic-like and protein-like compounds. Protein-like compounds such as Tryptophan are used as qualitative indicators of short transit time, because they are correlated with fecal contamination which suggests fast infiltration within the karst network (e.g. karst conduits, fractures, sinkholes; Frank et al., 2018; Sorensen et al., 2020). In order to characterize groundwater transit time, Blondel et al. (2012) proposed to use the Humification IndeX (HIX) which was built to assess the humification process of soil organic matter (ratio of humic-like to protein-like) by Zsolnay et al. (1999) and Ohno (2002). As this study suffered several methodological biases, Serène et al. (2022) proposed an adaptation of HIX to groundwater (Transit Time index, TTi). TTi showed its ability to qualitatively assess transit time, allow comparison of the overall behavior of different springs from the karst observatory of Fontaine de Vaucluse (Southeast France), and identify pre-existing waters (piston effect) and freshwater arrivals (fast infiltration). However these promising results were based on the assumption of no fluorescent compounds production within the aquifer which calls for deeper investigation.

The present study aims to go deeper in the use of fluorescent compounds as a natural tracer of transit time by (i) reconsidering the assumptions of no autochthonous fluorescent compounds production within the Fontaine de vaucluse karst system, (ii) proposing a conceptual model of fluorescent compounds source and fate in natural catchment (LSBB hydrosystem), (iii) checking the consistency of fluorescent compounds informations and TTi with expected transit time of unsaturated zone flows.

V.2.2. Study site and methods

V.2.2.1. Study site

The Vaucluse karst system (southeastern France) main outlet, Fontaine de Vaucluse spring, has one of the highest mean flow rates in Europe with $23.3 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (period 01/1877 to 06/2006 ; Cognard-Plancq et al., 2006). Several outlets of less importance are also located on the recharge area of the Vaucluse karst system, the majors being Millet, Saint Trinit and Nesque springs (Figure 3.13, Tableau 3.2). This karst system is also characterized by a particularly thick unsaturated zone (~800 m). Artificial galleries of the LSBB (<https://lsbb.cnrs.fr>) allow the observation of three to more than fifty unsaturated zone flows depending on hydrodynamic conditions, at depths ranging from ~30 m to almost 500 m below the soil surface. In this study we consider 3 perennial flow points (A, B, D) and 2 temporary flows

(AJ, C). Soils are little developed on the Fontaine de Vaucluse system. Their thickness is about 10 cm above LSBB flows (Blondel, 2008), and reaches a few decimeters at spring catchments.

Spring	Catchment area	Karstification	UZ thickness	Lithology	Land use
Millet	~ 2.5 km ²	Complex karstification - anastomoses	Thick ~ 70 m	Cretaceous/ Barremian limestones (marine)	Forest, lavender cultivation
St Trinit	~ 2 km ²	High degree, large karst conduit	Thin ~ 10 to 20 m	Cretaceous/Aptian limestones (marine)	Anthropogenic activities, organic farming, town
La Nesque	~ 1 km ²	Low degree, conduits of centrimetric scale at the outlet	Thin ~ 10 to 20 m	Marneous limestones, Oligocene (lacustrine)	Lavender cultivation
Fontaine de Vaucluse	~ 1160 km ²	Variable but high in average	Very thick ~ 800 m	Cretaceous limestones (marine)	Cultivations, cities, forests
LSBB	≤ 1 km ²	Variable	35 à 518 m	Cretaceous limestones (marine)	Forest and cultivation

Tableau 3.2 : Main characteristics of monitored flow points in Serène et al. (2022) from Batiot, 2002; Blondel, 2008; Emblanch et al., 1998; Lastennet, 1994; Ollivier, 2020 and field observations.

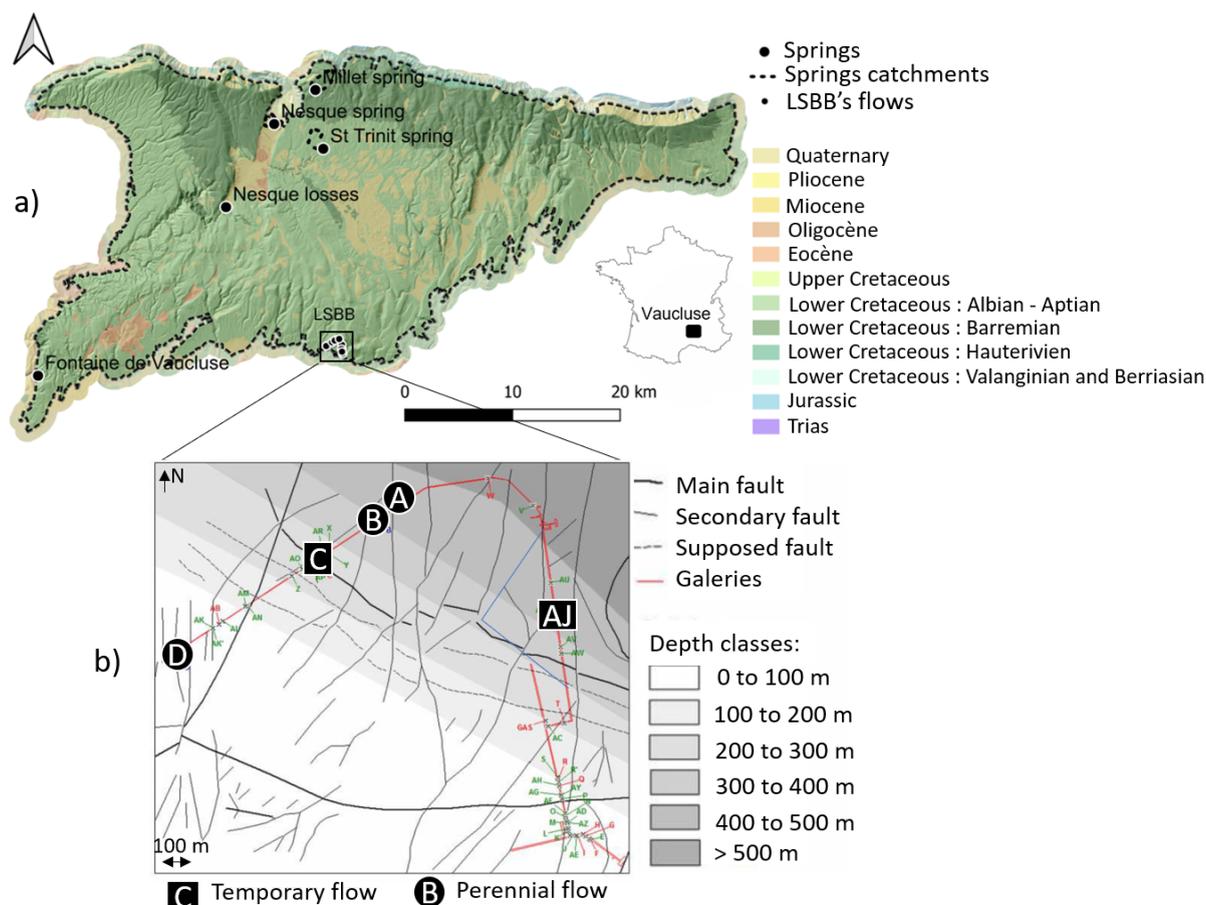


Figure 3. 13 : a) Location of monitored flow points and spring catchments delineation on background of 1:50000 geological map (BD-CHARM from BRGM). Catchments delineation for Millet, St Trinit and Nesque springs were based on mass balance and hydrogeological information ; Catchment delineation of Fontaine de Vaucluse was taken from Ollivier (2020);

b) enlarged view on LSBB flows on background of a structural map (modified from (Barbel-Périneau, 2013).

V.2.2.2. Sampling and fluorescence analysis methods

Bi-monthly sampling of St Trinit, Millet and Nesque springs and unsaturated zone flows A, B, C, D, and AJ from the LSBB was performed during more than a one-year monitoring from June 2020 to October 2021. Measurements of major elements, TOC (Total Organic Carbon) and water stable isotopes were performed by UMR 1114 EMMAH, and Excitation-emission matrix (EEM) were performed at HydroSciences Montpellier (more details in : Serène et al., 2022).

V.2.3. Organic matter sources and fate

V.2.3.1 Identification of fluorescent organic matter types at the Fontaine de Vaucluse system

Total Organic Carbon (TOC) is an approximate measure of the total quantity of organic matter available in a water sample (Thurman, 1985) which includes non fluorescent compounds. As organic matter mainly comes from the soil (Coble, 2014) and is degraded by microbial activity during its transfer in the aquifer, increases in TOC content may be associated with arrival of water with short transit times (Batiot et al., 2003b). Organic matter degradation is estimated to be almost complete after 6 months, resulting in a low TOC content (Batiot, 2002).

Fluorescent compounds constitute a small part of the organic matter represented by TOC (Coble, 2014). They result from microbial degradation of soil organic matter, either directly or indirectly (Stedmon and Cory, 2014). For example, humic-like C compounds derive directly from fresh soil organic matter, while humic-like M derive from the complexation of microbial activity products (Parlanti et al., 2000) and protein-like compounds (also called amino acid-like) correspond to biological fluorophores (Coble et al., 2014). Therefore, humic-like C are essentially produced in soils while humic-like M and protein-like (such as tyrosine and tryptophan) can be produced in either soils and aquatic environments. Anthropogenic contamination can also be a source of fluorescent compounds. For example, the influence of sewage effluent is extensively documented as being a source of protein-like compounds (Baker and Spencer, 2004; Chen et al., 2017). Identifying fluorescent compounds and having a good knowledge of their sources and fates is thus a first step to use them as natural tracers. Identification of these fluorescent compounds is based on the fact that organic matter families have different excitation and emission wavelengths, resulting in specific peaks in the excitation emission matrix. For each of the previously cited families of compounds, two peaks are often observed together : C and A_C for humic-like C, M and A_M for humic-like M, T and A_T for Tryptophan, B and A_B for Tyrosine (Coble et al., 2014 ; Figure 3.14).

In a previous study Serène et al. (2022), we performed a four-component PARAFAC modeling of excitation-emission matrix in order to identify and quantify the fluorescent compounds in karst waters. The first component was attributed to humic-like organic matter, component 2 to Tryptophan, component 3 to a proteic compound called P1, and component 4

to Tyrosine. Indeed, components 1, 2 and 4 correspond to peaks A_C and C (humic-like C), peaks A_T and T (Tryptophan), peaks A_B and B (Tyrosine) from Coble (1996) respectively, which validate their identification as humic-like, Tryptophan and Tyrosine compounds (Figure 3.14). However, component 3 which was attributed to protein-like P1 by Serène et al. (2022) based on Quiers et al. (2014) matches the humic-like acid A_M from Coble (1996) (Figure 3.14).

P1 was identified as a protein-like compound stemming from anthropogenic contamination by Quiers et al. (2014) because a good correlation was found with fecal contamination indicators, and also because its emission wavelength was below the 380 nm limit between protein-like and humic-like compounds defined in Baker and Lamont-Black (2001) and Chen et al. (2003). However, anthropogenic contamination which promotes microbial activity does not only produce protein-like compounds. Indeed, humic-like M organic matter may also result from the complexation of microbial activity products. Furthermore, the 380 nm limit is reconsidered in Coble et al. (2014) as the emission wavelength of humic-like M compounds is between 350 and 400 nm.

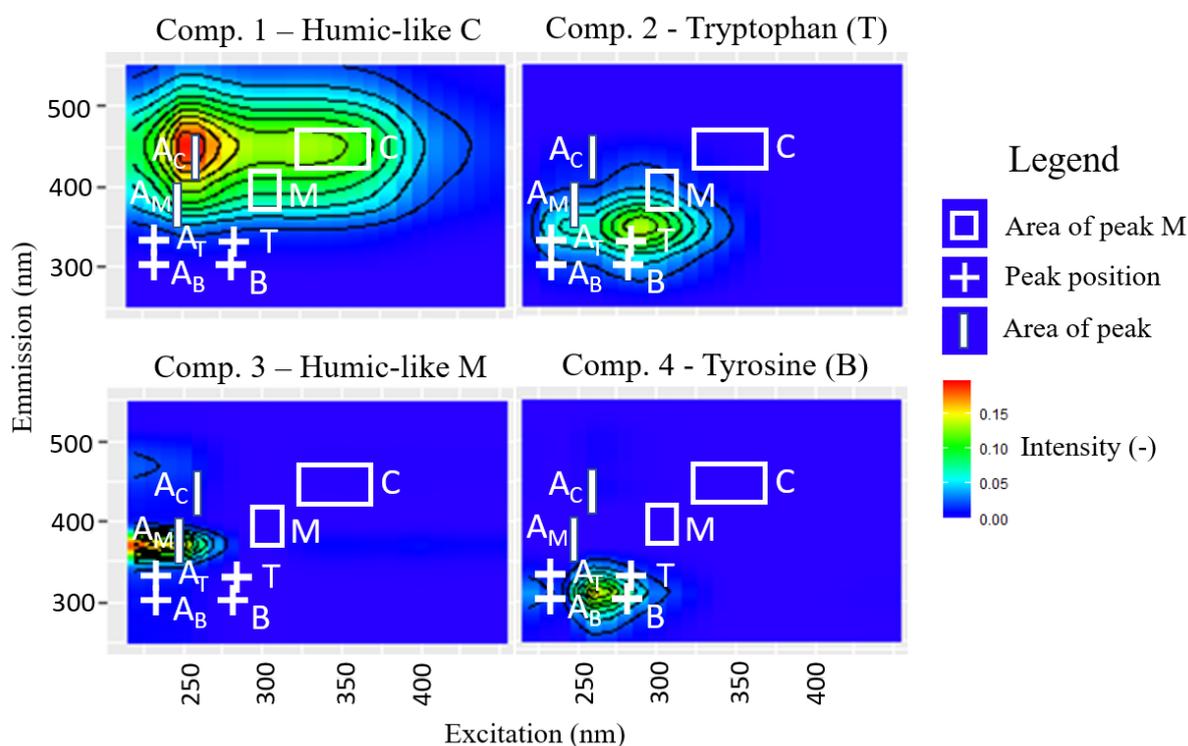


Figure 3. 14 : Comparison of organic matter components location in EEMs from PARAFAC modeling and literature.

Copresence of A_M and M humics (humic-like M organic matter) was first observed in marine environments (Coble, 1996) and later in nonmarine environments (Stedmon and Markager,

2005b). In our dataset, no peak M is observed. However, such a secondary peak could be merged with components 1 (peak C) and 2 (peak T). Indeed, the shape of component 2 is slightly distorted towards Coble's M peak (Figure 3.14), suggesting that peak M may have been integrated to peak T in the PARAFAC model. Peak M would therefore have a lower intensity than peak A_M which is common for humic-like substances (Coble et al., 2014), and which is also illustrated by component 1 showing higher intensity at peak A_C than peak C. Figure 3.15a and Figure 3.15b show the raw excitation-emission matrix of the sample having the most intense component 3 (St Trinit spring, 02/01/2021).

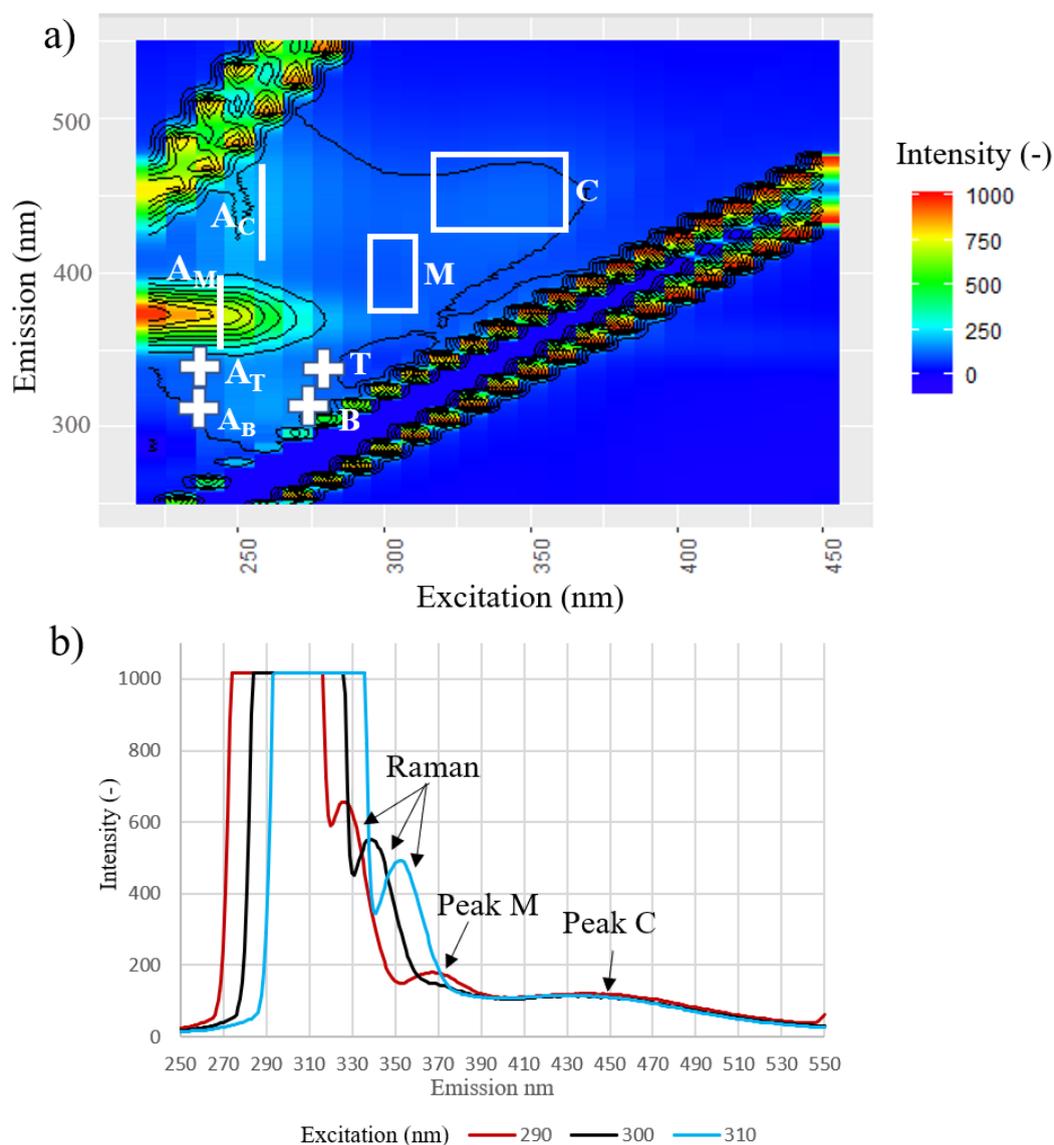


Figure 3. 15 : a) Raw excitation emission matrix of St Trinit spring sampled the 1st of february 2021. Intensity in arbitrary unit b) Raw 2D spectra for excitations 290, 300 and 310 nm extracted from a). Intensity in arbitrary unit and same peaks position from Coble et al. (2014) than in Figure 3.14.

The peak A_M shadow expands towards longer excitation wavelengths, until the base of peak M window as defined by Coble et al. (2014). At least one other study performing PARAFAC modeling faced the same problem (Xia et al., 2022). Integration of peaks M and T to the same PARAFAC component implies joint occurrence, and proportional intensities. The joint occurrence of peaks M and T is very likely as both compounds may derive directly or indirectly from microbial autochthonous activity (Stedmon and Cory, 2014). Based on these elements, we assume that component 3 can be identified as a humic-like M compound.

Two kinds of protein-like compounds (Tyrosine associated with peaks A_B and B, and Tryptophan associated with peaks A_T and T) and two kinds of humic-like compounds (Humic-like C associated with peaks A_C and C, and Humic-like M associated with peaks A_M and M) are thus observed in the Fontaine de Vaucluse observatory. As degradation consists in the bond breaking of the molecules, humic-like could be considered as a possible source of protein-like compounds because they are bigger compounds, while Tryptophan could be considered as a possible source of Tyrosine (see molecular structures in Figure 3.16). However, such a process would require the degradation of aromatic rings. As aromatic rings are the most stable organic structure, very few microorganisms are able to break them and their degradation requires very specific conditions unlikely to be reached in aquifers (Gibson, 1968). This is why humic-like organic matter is considered to be a proxy for slow degradation or recalcitrant organic matter (Moran et al., 2000; Stedmon and Markager, 2005b in Stedmon and Cory, 2014). In what follows, we thus consider that the four identified fluorescent compounds are not sources of other fluorescent compounds.

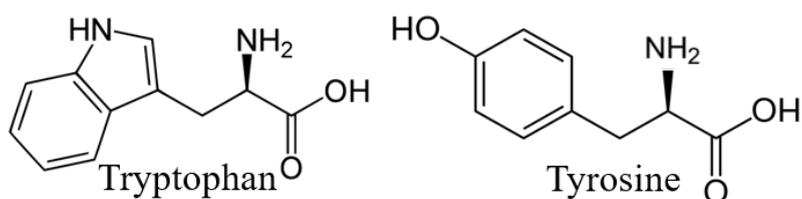


Figure 3. 16 : Tryptophan and Tyrosine molecules structure.

In the absence of anthropogenic contamination, Tyrosine, Tryptophan, peaks A_M and M are reputed to be rarely found within hydrosystems (Coble et al., 2014). However, Tryptophan and humic-like M are found in unsaturated zone flows and springs of the Fontaine de Vaucluse observatory (Tableau 3.3). Humic-like M has the lowest intensity except on some water samples from St Trinit spring (which is the most impacted by anthropogenic activities) that reach high fluorescence intensities. This very large variability, with high values being

reached at a spring with high vulnerability and anthropogenic activities, suggest a relation with anthropogenic contamination through e.g. manure spreading practiced on this basin. It is consistent with the higher nitrates contents found at St Trinit spring (from 10 to 15 mg.L⁻¹) in comparison with Millet (from 0 to 3 mg.L⁻¹) and Nesque springs (from 0 to 10 mg.L⁻¹). However, humic-like M are detected in all monitored flow points including LSBB flow points. As there is no anthropogenic input at the LSBB, it is therefore very likely that humic-like M result from microbial activity within the soil or the aquifer. Variability of humic-like M intensities within LSBB flows is likely to result from the variability of transit times or that of microbial activity along flow paths (Parlanti et al., 2000) ; while the high values reached at St Trinit spring probably derive from the input of degraded organic matter (amendment, sewage) and/or an increased microbial activity within the hydrosystem because of the nutrients supply by anthropogenic activities. The increased microbial activity may be linked with higher nutrient contents.

Parameter	Spring	Min	Max	Mean	SD	SD/mean
Humic-like C (C and A _C)	St Trinit	0.33	2.31	0.78	0.54	0.70
	Millet	0.44	0.75	0.60	0.09	0.15
	Nesque	0.87	1.79	1.06	0.17	0.16
	A	0.35	0.60	0.43	0.06	0.14
	B	0.29	0.56	0.37	0.07	0.19
	C	0.72	1.81	0.92	0.25	0.27
	D	0.42	0.66	0.55	0.06	0.11
	AJ	0.49	0.84	0.69	0.09	0.13
Humic-like M (P1 or A _M)	St Trinit	0.03	12.6	1.13	2.71	2.40
	Millet	1.1E-20	1.8	0.23	0.50	2.14
	Nesque	1.3E-20	0.25	0.1	0.10	0.97
	A	0	0.43	0.08	0.11	1.35
	B	0	0.78	0.17	0.23	1.33
	C	0	0.30	0.08	0.14	1.71
	D	0	0.30	0.08	0.10	1.14
	AJ	0.01	0.09	0.05	0.06	1.21

Tryptophan (T and A _T)	St Trinit	0.07	1.99	0.64	0.42	0.65
	Millet	0.01	2.47	0.46	0.46	1
	Nesque	1.7E-3	1.58	0.46	0.30	0.66
	A	0.05	0.80	0.29	0.17	0.58
	B	0.04	1.05	0.33	0.24	0.72
	C	0.05	0.73	0.29	0.18	0.64
	D	0	0.64	0.30	0.17	0.56
	AJ	0.18	0.75	0.39	0.20	0.51
Tyrosine (B and A _B)	St Trinit	0.01	2.59	0.65	0.62	0.96
	Millet	0.04	2.16	0.77	0.63	0.82
	Nesque	0.09	2.57	0.90	0.79	0.88
	A	0	2.18	0.55	0.59	1.07
	B	0.02	2.96	0.58	0.70	1.21
	C	0	1.05	0.43	0.38	0.88
	D	0	1.76	0.61	0.58	0.94
	AJ	0	1.76	0.61	0.58	0.94

Tableau 3.3 : Min, max, mean, standard deviation (SD) and SD/mean values of the organic compounds fluorescence intensity normalized to the water raman : Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan (Trp), Tyrosine (Tyr) for St Trinit (30 samples), Millet (29 samples), Nesque (30 samples) springs and LSBB flows A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples), D (29 samples), AJ (12 samples), from June 2020 to October 2021.

V.2.3.2 Sources and fate of fluorescent organic matter within LSBB hydrosystem

Fluorescent organic matter from soil leachates was characterized at LSBB by Blondel (2008) thanks to a monthly monitoring from december, 2005 to april, 2008. This study evidences both a short scale variability of fluorescence intensity and dissolved organic carbon content, and thus of the amount of organic matter provided by land cover, and a relative temporal stability of organic matter types as humic-like C compounds are found (Figure 3.17). Presence of humic-like C was expected as these compounds are usually produced within soils (Coble et al., 2014), but the absence of protein-like and humic-like M compounds is likely to mean that protein-like compounds identified in water samples from LSBB flow points result from microbial production within the hydrosystem. The temporal

gap between soil and water monitoring is unlikely to be at stake since the soil monitoring covered a long period (more than 2 years) and no major change of the vegetation cover has occurred in-between the two studies. Production of these compounds within aquifers could therefore not be insignificant, even in natural hydrosystems.

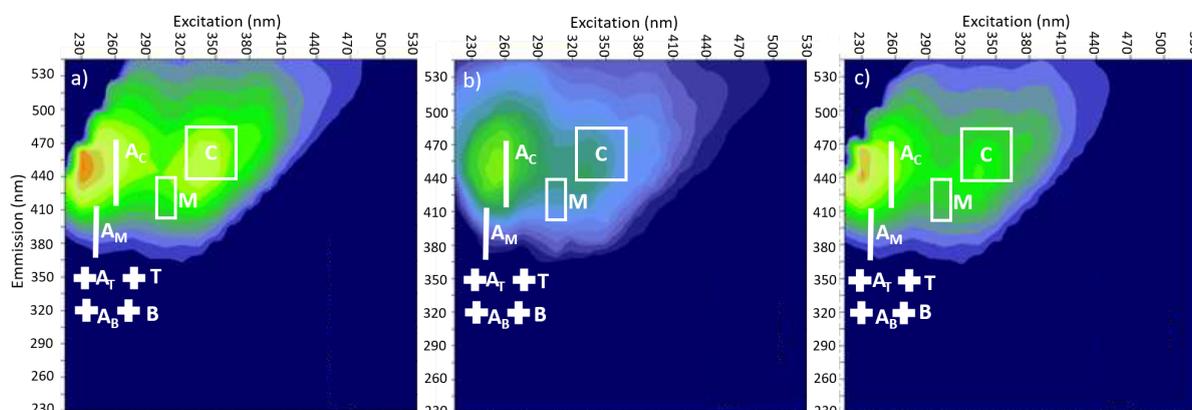


Figure 3. 17 : Representative excitation-emission matrix of the monthly monitoring of LSBB soil leachate from december, 2005 to april, 2008 (modified from Blondel, 2008). a) rendosol found upon the plateau; b) lithosol from the slopes below grass; c) shrub and grass. Samples were collected thanks to lysimetric plates (area of 850 cm²) and artificial rain. Peaks B, T, M, C and A_B, A_T, A_M and A_C are the same as in Figure 3.14, only peaks C and A_C are observed.

Soil organic matter is transported towards the aquifer by rain infiltration. Recent work from Frank et al. (2021) put into relief the slower transport velocity of humic-like compounds as compared to protein-like compounds (Tryptophan) when artificially injected into a shallow hole. Jiang et al. (2019) also put into relief the higher migration capability of protein-like substances in comparison with humic-like ones. This difference may be due to the larger size of humic-like molecules, with numerous aromatic nuclei and carboxylic groups which enhances their potential to get adsorbed, particularly in the presence of oxides, hydroxides and clays (McKnight et al., 1992). Therefore, the decrease in humic-like C content can be caused by the adsorption of molecules, just like TOC, since humic-like compounds constitute 30-50 % of TOC in water (Thurman et al., 1982).

As protein-like and Humic-like M compounds are not found in LSBB's soil leachates, we assume that, within the LSBB hydrosystem, these compounds result from microbial activity. Their production may be affected by the characteristics of both organic matter available to the microbial communities (e.g. quantity and nature) and the microbial communities themselves (e.g. types and number of microorganisms). As protein-like compounds are highly degradable and little prone to adsorption, transit time may also be a significant, but not unequivocal, factor of variability for these compounds. For example, considering similar microbial

communities and soil supply and assuming negligible autochthonous production as compared to degradation, an increased transit time would likely result in a decreased content. On the contrary, assuming negligible degradation as compared to autochthonous production, an increased transit time would likely result in an increased content.

The recharge area of LSBB flow points covers a surface over which the vegetation may be considered as homogeneous. Assuming homogeneous soil input and similar microbial activity on underground flow paths, a conceptual model of organic matter source and fate in the LSBB hydrosystem may be proposed (see illustration in Figure 3.18) :

- (1) Organic matter is supplied by the surface biocenose. Part of this organic matter is soluble and is directly integrated into soil water while another part is used by soil microorganisms to develop humus through the humification process (Duchaufour et al., 2020).
- (2) Humification leads to the release of humic-like C compounds which are soluble and thus join soil water (Duchaufour et al., 2020).
- (3) Infiltration of rainwater improves the connection between soil pores containing water, and may also contribute to humic-like C solubilisation. It results in the infiltration of dissolved organic matter thanks to a mix of rain and soil waters (Kalbitz et al., 2000).
- (4) During transport within the unsaturated zone, organic matter may be adsorbed or delayed (in particular humic-like C compounds; Frank et al., 2021) and degraded which result in fluorescent compounds production (Stedmon and Cory, 2014). Both molecule-breaking during degradation and protein-like compounds production may lead to inorganic compounds release such as free ions (mineralisation process) (Coble, 2014).
- (5) Humification of protein-like compounds may produce humic-like M compounds (Coble, 2014). Humic-like M has very low contents in comparison with other fluorescent compounds in LSBB waters (see section V.2.3.1 and Tableau 3.3) suggesting that humification producing humic-like M compounds is minor as compared to other processes. Degradation and humification may coexist as two alternative food sources for microbial communities (Wang et al., 2022). However, humification resulting in humic-like M production requires protein-like compounds as precursors, so it is necessarily delayed as compared to degradation resulting in the production of protein-like compounds. Once produced, humic-like substances are likely to accumulate in the system since they are very little prone to degradation and

are mainly removed by adsorption. We therefore hypothesize that humic-like M compounds presence and relative increase is associated with longer transit time. This assumption is consistent with Yang et al. (2020) which observed a higher proportion of microbial humic-like compounds in deep groundwater during non-monsoon seasons.

- (6) As humic-like C, humic-like M compounds may either be adsorbed or remain in solution. These poorly degradable compounds constitute a part of the recalcitrant dissolved organic matter (Coble, 2014) or may be degraded again.

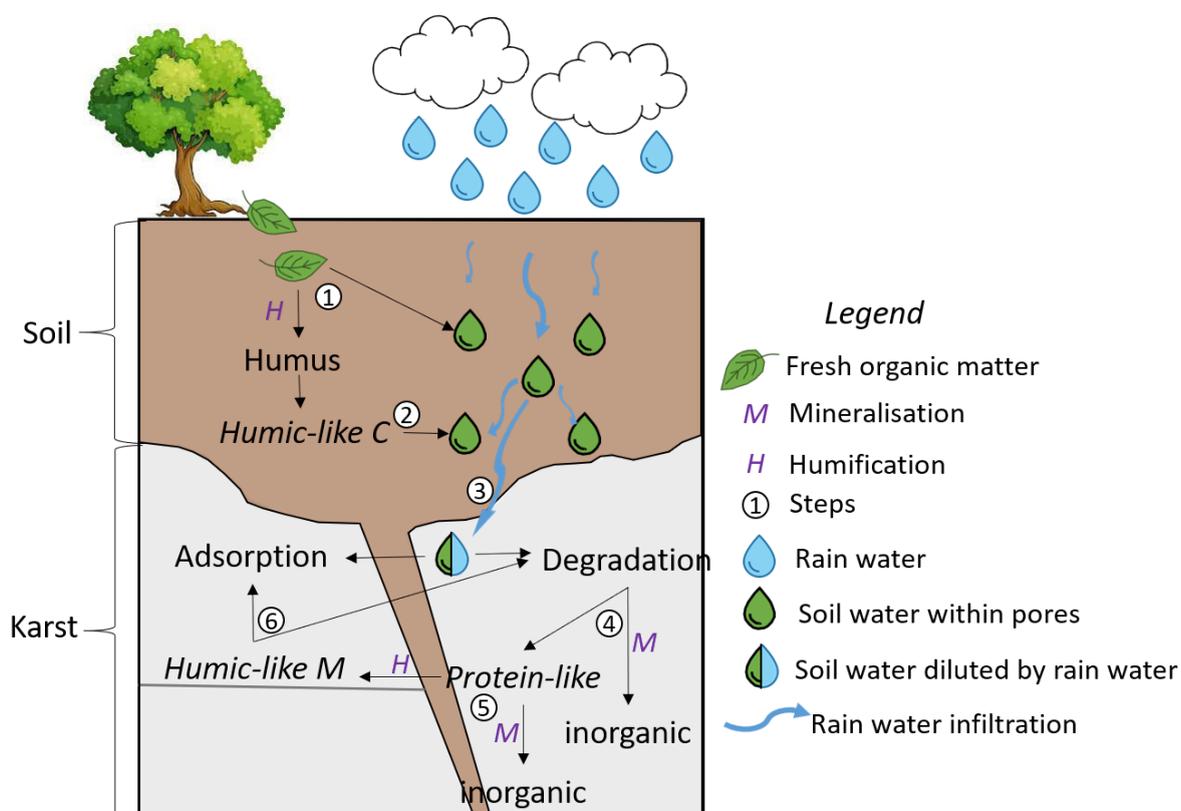


Figure 3. 18 : Conceptual model about the fate of the fluorescent organic compounds from LSBB's flows considering a soil only providing humic-like C organic matter (natural catchment without anthropogenic activities).

The co-existence of the degradation and humification processes in the unsaturated zone, and the absence of significant degradation processes in the soil of the investigated area may be related to a difference in the balance between the number of microorganisms and the food availability between these two compartments. Degradation is the least energy-consuming process so it is likely to be dominant when fresh organic matter is available. When degradation precursors are consumed, the more energy-consuming process of humification may take over. Dominance of humification over degradation might be reached sooner in soils

than in aquifers because of the greater number of microorganisms, and also sooner in soils with slow vegetation dynamics such as the LSBB.

Based on this conceptual model of organic matter sources and fates in a natural hydrosystem without anthropogenic activities, the relative contents of fluorescent compounds may be related to transit time. In these conditions:, i) the presence of humic-like C only is related to short transit time; ii) intermediate transit time is characterized by the additional presence of protein-like compounds; and iii) at long transit time protein-like contents slowly decrease while humic-like M compounds are produced.

V.2.4 Consistency of relative transit times derived from fluorescent compounds contents - An assessment at LSBB

V.2.4.1 Characterization of LSBB flows based on discharge and major elements variations

A study of hydrochemical variability of LSBB flows based on physico-chemical parameters, major elements and TOC was undertaken over a 10-year period (2002-2012) on 12 LSBB flows by Barbel-Périneau et al. (2019). This study put into relief the relation between several parameters and hydrochemical processes. At LSBB, high relative magnesium content is attributed to long relative transit time because of the limestones dissolution in the absence of Mg-rich carbonates (Batiot et al., 2003b; Moral et al., 2008). Sulfate content is inversely related to magnesium, suggesting a decrease with long transit times. The process related to this decrease could not be accounted for with certainty by Barbel-Périneau et al. (2019). This study also showed that at LSBB, electrical conductivity is mainly influenced by calco-carbonic equilibrium and seasonal variations of soil pCO₂ which results in the variable mineralization of infiltrated water. For all LSBB flows, low temporal variability of electrical conductivity is therefore assumed to be related to an important buffering effect corresponding to slow transit. In what follows, flow speed will be characterized as fast or slow, and transit time as short or long. Transit time depends on both transit flow speed and flow depth.

This 10-year chronicle study found crescent variability of electrical conductivity from flow D, A and B, to C, therefore suggesting decreasing buffering effect and faster flow speed. Low magnesium and TOC contents found at flows D suggested a transit time long enough to allow a TOC decrease, but too short to see a magnesium increase. Higher magnesium and lower TOC contents at flows A and B are compatible with slow flows and relatively longer transit

times, possibly with similar pathways due to their spatial closeness Barbel-Périneau et al. (2019). Shortest transit times were attributed to flow C which has the lowest magnesium.

Our dataset confirms the main results of Barbel-Périneau et al. (2019) showing the similarity of flows A and B magnesium and TOC contents, lower magnesium and higher TOC at flow C and the same distribution of the electrical conductivity variation of the flows (Figure 3.19 and sd/mean ratio in Tableau 3.4).

	A	B	C	D	AJ
CE sd/mean	0.06	0.05	0.09	0.03	0.22
TTi sd/mean	0.47	0.49	0.31	0.47	0.27
Magnesium sd/mean	0.11	0.08	0.11	0.11	0.12
Discharge sd/mean	0.26	0.68	0.94	0.22	2.33

Tableau 3.4 : Variation coefficient of electrical conductivity, TTi, magnesium and discharge for flows A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples), D (29 samples), and AJ (12 samples) from June 2020 to October 2021.

Flow AJ is not considered in the 10-year chronicle study but under Barbel-Périneau et al. (2019) assumptions its very high variability of electrical conductivity (Tableau 3.4) and discharge (Figure 3.20) indicates very fast circulation. Figure 3.19 shows close TOC and magnesium contents of flows C and AJ. This result suggests that flow AJ has a transit time close to that of flow C in spite of its location being 100 m deeper, which is consistent with the fast circulation assumed by electrical conductivity variations. Therefore, we conclude that major elements and discharge indicate crescent transit time from AJ, C, D, to A and B.

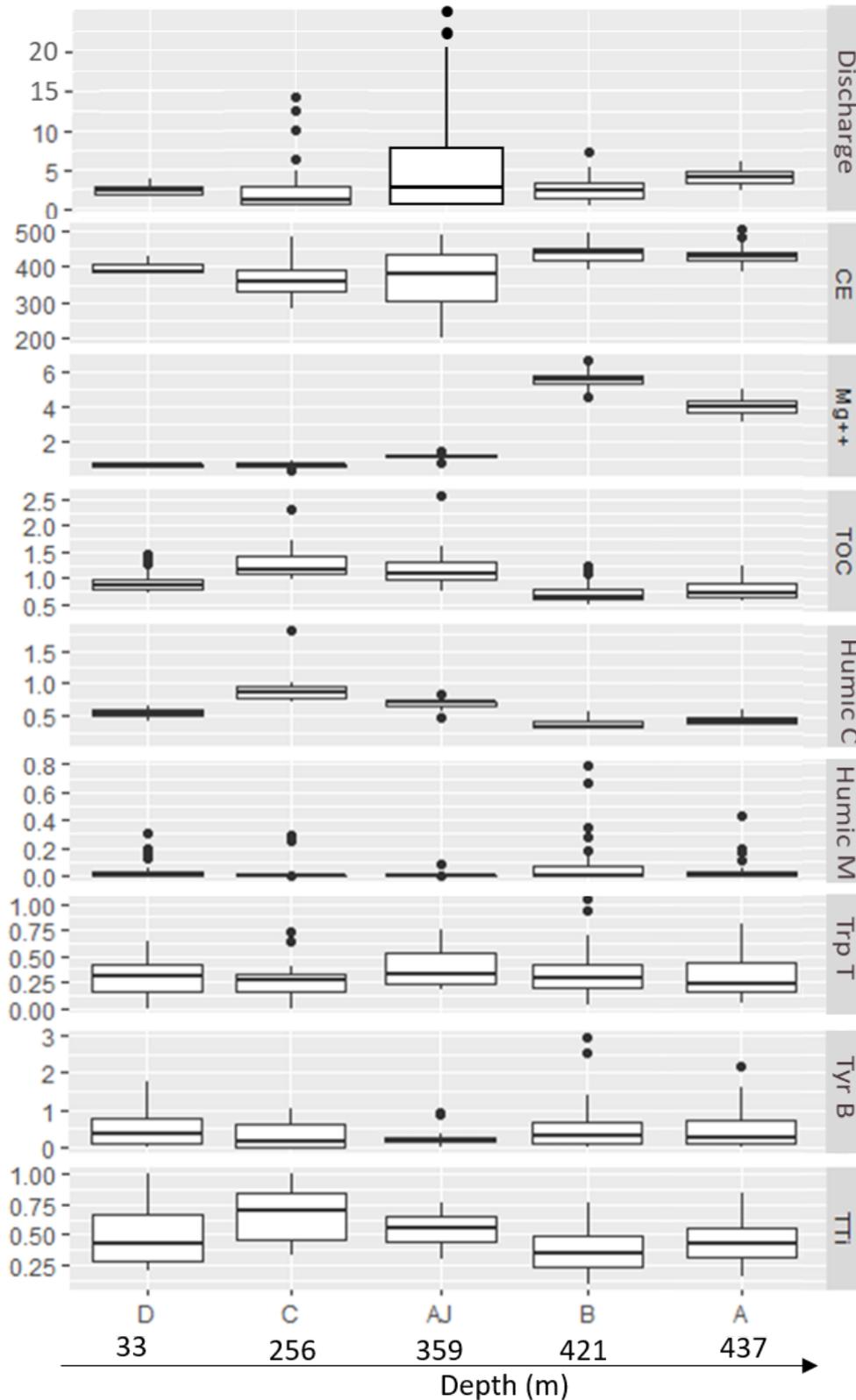


Figure 3. 19 : Boxplots of discharge ($mL.s^{-1}$), electrical conductivity ($\mu S.cm^{-1}$), magnesium ($mg.L^{-1}$), TOC ($mg.L^{-1}$), Humic-like C, Humic-like M, Tryptophan (Trp T), Tyrosine (Tyr B), and Transit Time index (TTi) for LSBB's flows from different depths within the unsaturated zone: A (33 samples), B (33 samples), C (17 samples), D (29 samples), AJ (12 samples), from June 2020 to October 2021.

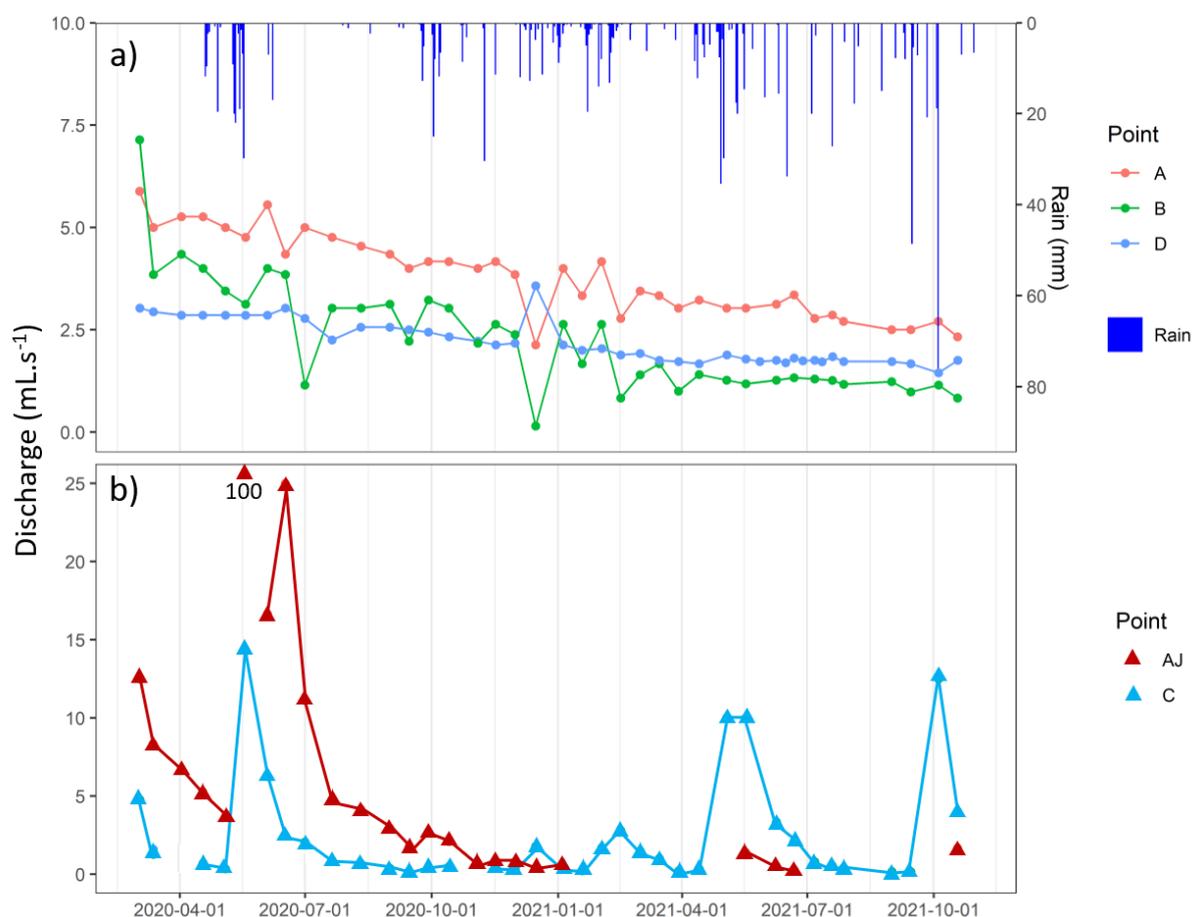


Figure 3. 20 : Discharge time series of the 5 LSBB flows considered compared with rain from the study site a) Flows A, B and D and b) Flows AJ and C.

V.2.4.2 Contribution of fluorescent organic compounds to relative transit time assessment at LSBB

In what follows, we assume that organic matter supply to the unsaturated zone is similar in quality (i.e., ratio between fluorescent compounds) and quantity for all LSBB flows. This assumption is supported by the geographical closeness of these flow points and the similarities of soils and vegetation over the slope below which LSBB stands. Moreover, local changes in land cover and slope that may be associated with a local variability of organic matter supply are likely to be averaged within the flow catchment ($\leq 1 \text{ km}^2$). Similar organic matter supply thus allows a direct comparison of TOC and intensity of fluorescent organic matter at LSBB flow points.

Figure 3.19 shows the distribution of monitored parameters at LSBB flow points. Humic-like C and TOC contents show a decreasing trend with depth, which is consistent with

an increase of the potential to get adsorbed associated with longer flow paths, and to the increase of degradation affecting TOC. Flow D constitutes an exception to this general trend, as it is the shallowest yet it shows low TOC and humic-like C contents. This flow point also has a very steady discharge related to a specific lithological context, in which flow occurs in a low permeability matrix (Carrière et al., 2013). This specific context is likely to promote trapping, which confirms that this process may be the main factor of variability in humic-like C content during flow through the aquifer.

Flows A and D have very close humic-like M contents (the highest values being reached at flow A) and also comparable protein-like contents (Figure 3.19) which suggest close transit times, transit towards flow A being slightly longer than towards flow D in accordance with magnesium, TOC and electrical conductivity behaviors (section V.2.4.2 and Barbel-Périneau et al. (2019).

Point B has higher maximal intensity of humic-like M and protein-like peaks than flow A, which suggests a longer transit time. In our dataset, flow B also has a higher magnesium content and its mean TOC is slightly lower than that of flow A, suggesting that flow B has a longer average transit time over the period considered (Figure 3.19). Fluorescent compounds thus provide the first distinction of flows A and B, suggesting that this tracer is more sensitive than major elements making it possible to reach another level of information.

AJ has higher Tryptophan, but lower Tyrosine and lower humic-like M peaks than flow C which cannot be explained with our model and assumption. It may be related to the high temporal variability of flow AJ hydrochemistry already put into relief by electrical conductivity and discharge. But in average, autochthonous compounds (sum of Humic-like M and protein-like) are more abundant at flow C (0.89) than at flow AJ (0.69) which may signify that during the monitored period, flow AJ is characterized by faster flow and shorter transit time in average than flow C even though it is deeper.

This analysis shows that fluorescent organic compounds provide transit time assumptions consistent with major elements and hydrodynamics (section V.2.4.1), which strengthens the conceptual model of fluorescent organic compounds source and fate elaborated in section V.2.3.2 (Figure 3.18). It confirms that the relative abundance of fluorescent organic compounds can provide insights into relative transit time and that their sensitivity may improve the transit time assessment.

V.2.5. Limits of the use of fluorescent compounds intensity as a transit time tracer and Transit Time Index (TTi) added value

Previous sections have highlighted the interest of fluorescent compounds intensities for a qualitative assessment of LSBB flows transit time. This comparison is made possible by the similar context of LSBB flows in terms of organic matter supply and biological activity. At a larger spatial scale, the spatial variability of these two parameters would prevent the direct comparison of fluorescent compounds intensities and thus relative transit times of different flow points. To allow the comparison of waters from different study sites, ratios of intensities such as TTi have to be considered instead of absolute values. TTi was defined as the ratio of humic-like C to all fluorescent compounds intensities by Serène et al. (2022). Based on the conceptual model of fluorescent organic compounds source and fate elaborated in section V.2.3.2, high TTi may be related to strong soil fingerprint (high humic-like C content) and relatively short transit time, while low TTi is related to the production of autochthonous fluorescent compounds (humic-like M and protein-like) indicating relatively long transit time. A strong assumption underlying this interpretation is the absence of anthropogenic contamination. Note that this interpretation is inverse to that developed by Serène et al. (2022), which assumed no autochthonous production in the studied springs and a significant anthropogenic supply due to manure spreading. These opposed interpretations stress the difference between the interpretation of the relative contents of fluorescent compounds that can be made in natural or anthropogenic catchments and the need for a careful assessment of organic matter sources and fates prior to any interpretation of fluorescence indexes in terms of relative transit times.

At the LSBB, median TTi is higher from flow C, AJ, D, A to B which is consistent with transit time assumptions from section V.2.4 (Figure 3.19). Therefore, TTi appears to be an interesting tool to summarize fluorescence information related to transit time. At Millet spring, temporal variation of TTi was consistent with the expected variation of transit time (Serène et al., 2022). At the LSBB, the temporal variability of TTi is high as compared to that of other tracers (Figure 3.21 and Tableau 3.4) which prevents effective comparison of transit time interpretations. This high temporal variability also implies that the 15 days sampling time step is too high to allow the assessment of TTi variability and needs to be shortened. The higher complexity of TTi signal at the LSBB as compared to that of Millet spring may signify that organic matter is a more sensitive transit time tracer than usual

natural tracers, and that its variations correspond to knowledge that are not accessible thanks to other tracers. It may be related to (i) faster reactivity of the unsaturated zone flows which may affect specifically fluorescent compounds variation because of their higher sensitivity, (ii) a higher number of possible pathways of water from the surface to the outlet in the LSBB unsaturated zone, (iii) different sources of protein-like compounds and humic-like M compounds involving a more variable supply at the LSBB than at Millet (autochthonous at the LSBB, assumed to be allochthonous at Millet spring). Note that hypothesis (iii) puts into relief the need to improve the knowledge about the microbial activity in this system in order to fully understand the production and the degradation of fluorescent compounds.

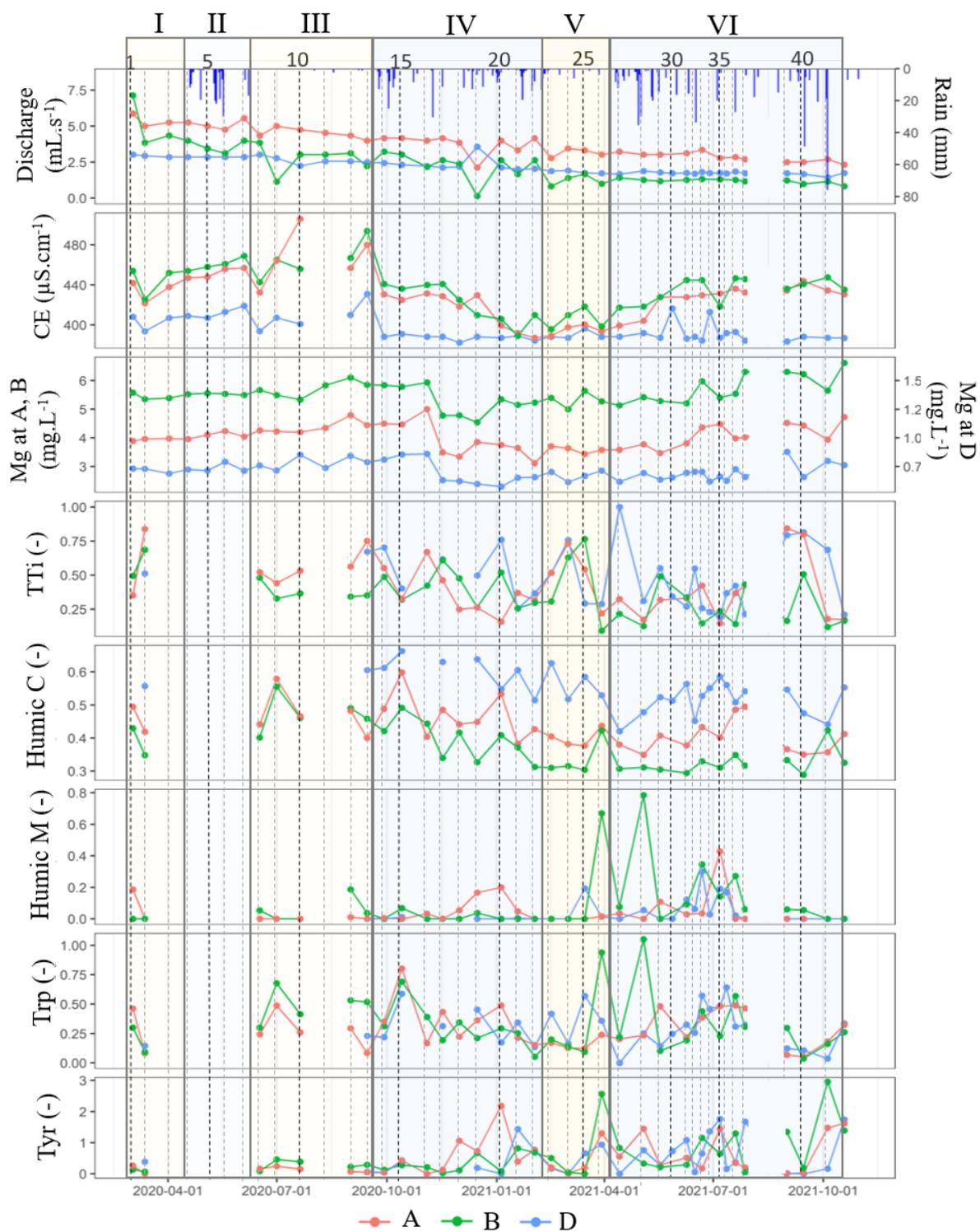


Figure 3. 21 : Time series of electrical conductivity (CE), discharge, magnesium, TTI, Humic-like C and M, Tryptophan and Tyrosine contents (normalized fluorescence intensities) for flows A, B, and D from the LSBB. Vertical lines correspond to the sample number. Periods were separated according to rain frequency and intensity. Dry periods are periods I (cumulative rainfall = 4mm, < 0.1 mm.d⁻¹), III (cumulative rainfall = 6.4 mm, < 0.09 mm.d⁻¹) and V (cumulative rainfall = 33 mm, < 0.5 mm.d⁻¹); wet periods are periods II (cumulative rainfall = 178 mm, 4.1 mm.d⁻¹), IV (cumulative rainfall = 277 mm, 2.0 mm.d⁻¹) and VI (cumulative rainfall = 511 mm, 2.9 mm.d⁻¹).

V.2.6. Conclusion

Serène et al. (2022) put into relief the potential of fluorescent organic matter to qualitatively assess transit time through the Transit Time index (TTi) in karst environments. The interpretation of this index was based on the assumptions of anthropogenic contamination and no autochthonous production within the considered aquifers. When applied to the unsaturated zone flows of the Fontaine de Vaucluse observatory through the local scale of the LSBB galleries characterized by a natural environment without any anthropogenic activity, TTi interpretation appeared to be reversed. Indeed, excitation-emission matrix from monthly monitoring of LSBB soil leachates from december, 2005 to april, 2008 (Blondel, 2008) only show Humic-like C compounds, whereas in LSBB waters protein-like and humic-like M compounds were found. The present work highlights that these types of compounds can be detected in natural environments not impacted by anthropogenic activities, whereas it is generally accepted that these compounds are almost exclusively of anthropogenic origin and very rarely present without contaminant input into the hydrosystem (Coble, 2014). It also puts into relief that in natural catchment, autochthonous production of fluorescent compounds is unlikely to be negligible. Moreover, it confirms the interest of the LSBB site to study natural variations without anthropogenic contribution.

The careful analysis of fluorescent compounds source and possible fate leads to a first conceptual model of their behavior from soil to karst, enabling transit time assumptions. At the LSBB hydrosystem, we hypothesize that the presence of humic-like C only, which are produced in soil is related to short transit time ; intermediate transit time is characterized by the additional presence of protein-like compounds resulting from autochthonous production from the unsaturated zone; and at long transit time protein-like contents slowly decrease and may be reused by microorganisms to produce humic-like M compounds.

At the 5 selected LSBB flows, use of fluorescent compounds for relative transit time assessment is consistent with flows characterization from a 10-year chronicle study (Barbel-Périneau et al., 2019), validating the conceptual model of fluorescent compounds source and fate and also providing a more sensitive transit time information than major elements. Median TTi provide consistent results with previous flows characterization, demonstrating its ability to summarize fluorescent compounds information. TTi time series show a high temporal variability in comparison to that of other natural tracers, stressing TTi sensitivity and the need for a short sampling time step to exploit its full potential.

Transit time index (TTi) therefore appears to be a powerful tool able to qualitatively assess transit time. But its use requires prior knowledge of organic matter sources and fates at the study site scale. Furthermore, fluorescent compounds and TTi assessment is cheap and can be adapted to continuous monitoring to answer the fundamental question of transit times in karst systems. This study strongly encourages exchanges between scientific communities (hydrogeology, microbiology, pedology, ...) in order to move forward in the use of these tools for a better understanding of karst systems.

VI. Synthèse, conclusion et perspectives

La fluorescence de la matière organique est un traceur naturel permettant de distinguer les types de matières organiques présentes, qui peuvent eux-mêmes être liés aux origines de la matière organique (anthropique, naturelle) et à son degré de dégradation par l'activité microbienne depuis le sol jusqu'à l'exutoire. Diverses applications sont possibles, allant de la caractérisation des écoulements en milieu karstique (origine et temps de séjour) à la mise en évidence de contaminations anthropiques.

L'une des premières étapes de ce travail a été de discuter de l'utilisation des indices de fluorescence, méthodes couramment employées pour l'étude de la fluorescence de la matière organique. Ces indices correspondent à des ratios d'intensité de fluorescence émise à des longueurs d'ondes précises identifiées sur des spectres 2D (Gabor et al., 2014). Ces longueurs d'onde sont définies sur la base d'analyses d'eaux issues de milieux spécifiques (respectivement eau d'estuaires, eau douce et eau du sol pour les index les plus courants : le biological index (BIX; Huguet et al., 2009), fluorescence index (FI; McKnight et al., 2001) et l'humification index (HIX; Zsolnay et al., 1999). Cependant ces index sont utilisés dans tous les environnements aquatiques alors même qu'un décalage de la position des pics d'intensités maximales est fréquemment observé d'un environnement aquatique à l'autre, en raison d'un degré différent de dégradation de la matière organique (Coble, 2014). L'essor des matrices 3D (EEM – excitation emission matrix) permettant plus facilement d'identifier les composés présents pourrait par ailleurs constituer une voie d'amélioration du calcul de ces indices, facilitant leur transposition à différents milieux.

La seconde étape a été de se concentrer sur une utilisation de l'un de ces indices, le HIX, pour sa relation au temps de transit en milieu karstique (Blondel et al., 2012). L'identification de plusieurs biais méthodologiques a conduit à l'élaboration d'un nouvel indice de fluorescence appelé le Transit Time index (TTi) basé sur les matrices d'excitation-émission (3D) et non plus sur les spectres 2D (Serène et al., 2022). La cohérence de cet indice avec les temps de séjour a pu être démontrée en comparant qualitativement les sources de Millet, St Trinit et la Nesque dont les degrés de karstification diffèrent grandement. A la source de Millet, une étude plus approfondie a montré la capacité du TTi à détecter une faible quantité d'eau récemment infiltrée au sein d'un mélange, là où d'autres traceurs naturels n'apportent peu ou pas d'informations aussi précises. Cependant, l'interprétation de cet indice est basée sur l'origine essentiellement allochtone des composés

fluorescents (origine anthropique majoritaire pour les sources de St Trinit et la Nesque; en provenance du sol pour la source de Millet, voir Figure 3.22) permettant l'attribution des fortes valeurs de T_{Ti} à des longs temps de séjour. En l'absence de connaissances plus précises sur l'activité microbiologique au sein des hydrosystèmes, des analyses spécifiques de sols et des données sur les apports anthropiques, cette hypothèse reste à consolider. L'accès à ces connaissances est facilité au LSBB du fait de l'échelle plus locale. De plus, le LSBB n'est pas impacté par l'activité anthropique facilitant ainsi la compréhension des variations naturelles de la fluorescence de la matière organique. Un important suivi mensuel de la fluorescence de la matière organique du sol du LSBB a été réalisé dans le cadre de la thèse de Blondel (2008) durant 2,5 cycles hydrologiques. La comparaison des types de composés fluorescents des eaux du sol et des écoulements en ZNS au sein du LSBB a permis de mettre en évidence la production autochtone de certains composés (Humic-like M et protein-like, voir Figure 3.22) habituellement admis comme des traceurs d'une contamination anthropique. Ce modèle conceptuel des origines et des processus affectant le devenir des composés fluorescents au LSBB a pu être relié à des temps de transit qualitatifs. L'application de ce modèle sur les écoulements du LSBB (A, B, C, D et AJ) a donné des temps de transit relatifs cohérents avec ceux présumés issus des travaux précédents de Barbel-Périneau et al. (2019) basés sur un suivi bi-mensuel de 10 ans. La fluorescence de la matière organique semble même permettre d'aller plus loin en apportant des informations complémentaires sur les infiltrations rapides à la source de Millet, ainsi qu'en distinguant les écoulements A et B du LSBB. Cependant les variations temporelles des composés fluorescents ainsi que du T_{Ti} sont difficiles à interpréter, faute de comparaison avec d'autres traceurs présentant une variabilité aussi forte en considérant le pas de temps d'échantillonnage utilisé dans cette étude (bimensuel). Cela suggère que les composés fluorescents permettent d'atteindre un niveau d'information non accessible par les autres traceurs utilisés sur le site jusqu'à présent. Cela souligne également la nécessité d'effectuer un nouveau suivi à un pas de temps plus fin afin de mieux appréhender la variabilité de la fluorescence de la matière organique.

Au LSBB, l'interprétation du T_{Ti} en termes de temps de séjour qualitatif est inversée du fait de l'origine autochtone d'une partie des composés fluorescents, ce qui constitue en soi un résultat fondamental et tout à fait novateur car les composés Humic-like M et protein-like sont en général considérés comme allochtones et liés à des contaminations anthropiques. Cela démontre l'importance de caractériser les origines et les processus affectant le devenir des

composés fluorescents avant toute interprétation de temps de séjour via le TTI, mais également avant l'interprétation de l'ensemble des indices de fluorescence.

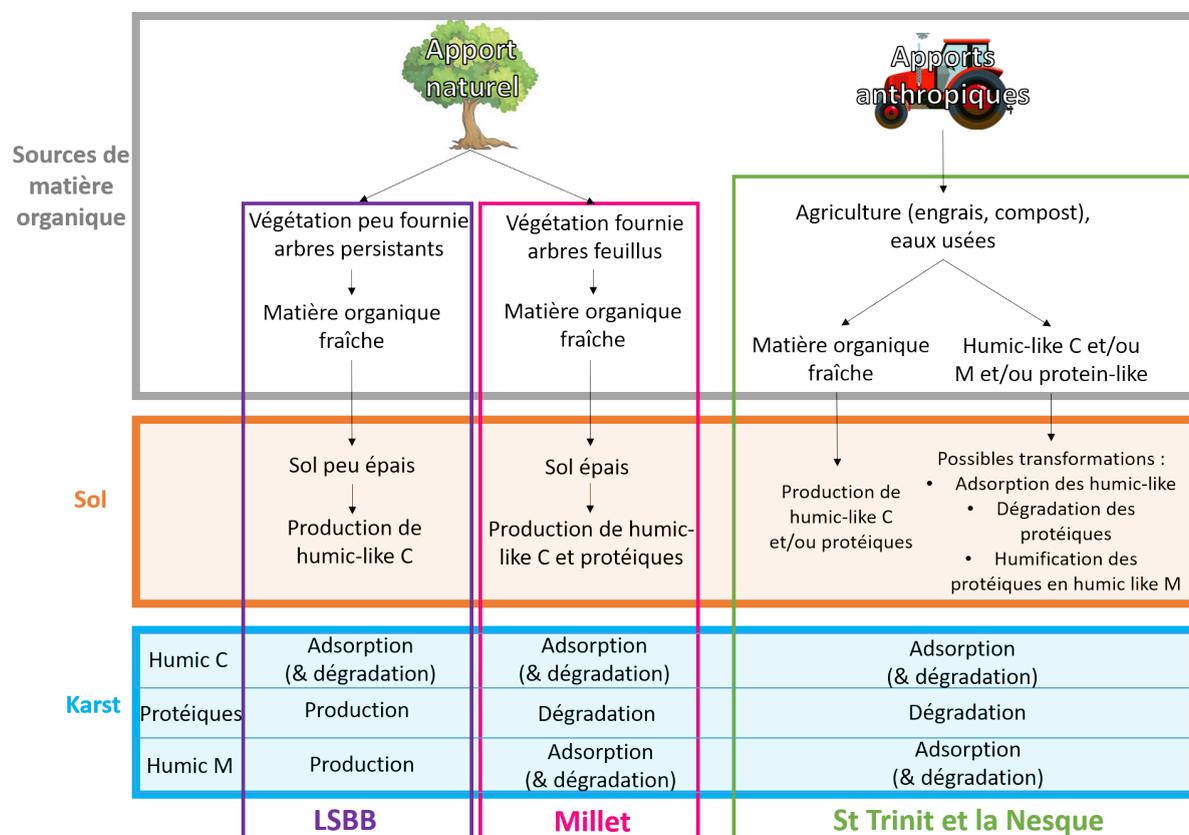
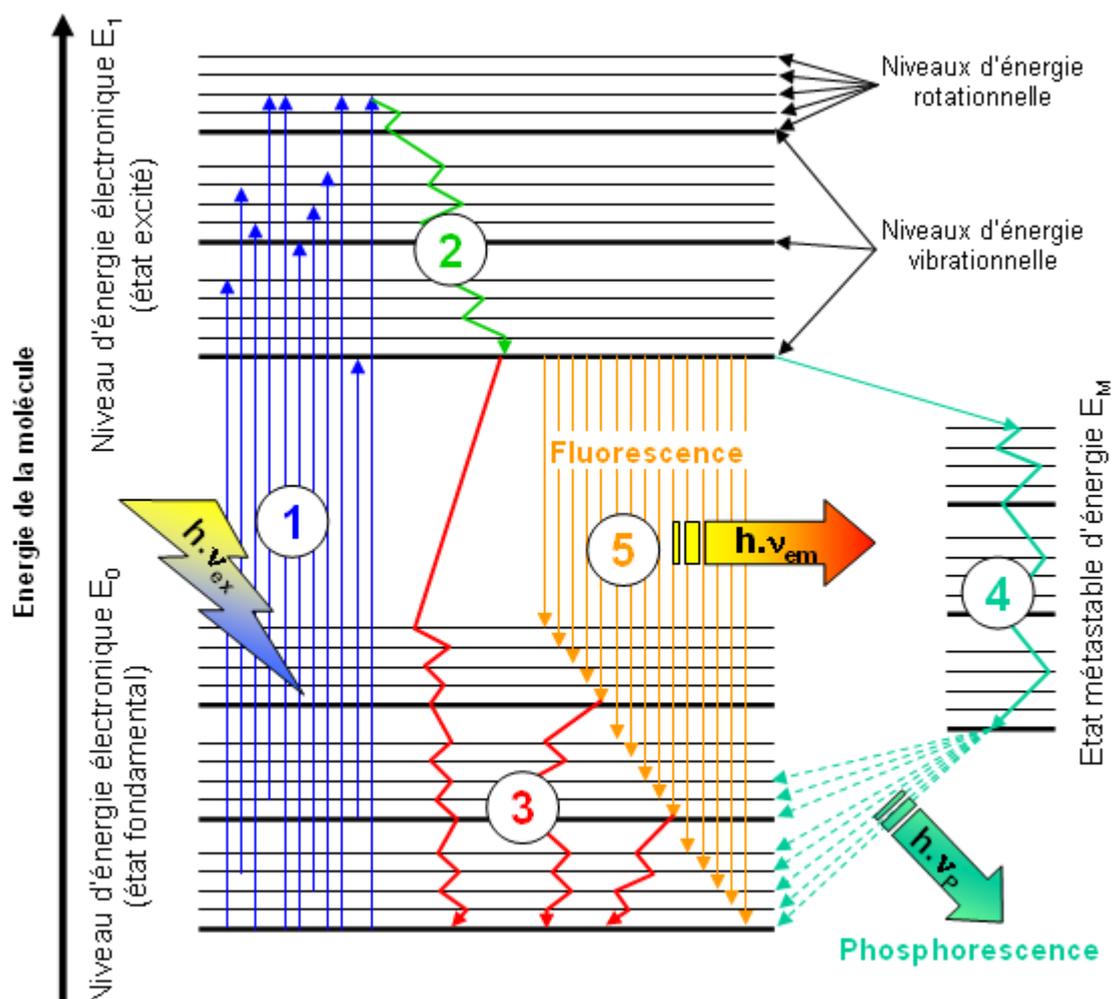


Figure 3. 22 : Schéma conceptuel des sources et devenir des composés fluorescents aux écoulements du LSBB ainsi qu'aux sources de Millet, St Trinit et de la Nesque.

La fluorescence de la matière organique apparaît ainsi comme un outil puissant, dont une partie du potentiel reste encore à consolider. L'utilisation d'indices de fluorescence est particulièrement adaptée à la comparaison inter-sites, mais il est préférable d'adapter les méthodes de calcul à chaque site (grâce aux EEM) afin de considérer des composés d'une même famille plutôt que les intensités à de mêmes longueurs d'ondes (spectres 2D). Pour l'interprétation de ces indices, il est essentiel d'avoir au préalable identifié les composés fluorescents présents et compris leur origine et leur devenir, ce qui nécessite une collaboration entre les différentes communautés scientifiques (hydrogéologues, microbiologistes, pédologues, ...). Il est également important de rappeler que l'étude de la fluorescence ne constitue que l'étude d'une proportion minoritaire de la totalité de la matière organique dissoute, et qu'elle ne permet pas d'appréhender la dynamique et devenir des composés organiques non fluorescents. Considérer l'ensemble de la matière organique en

mesurant conjointement le COT, des mesures en absorbance et la fluorescence de la matière organique constitue une piste de recherche intéressante qui s'appuierait sur l'ensemble des constituants de la matière organique dissoute.

Annexe 3.1 : Diagramme de Jablonski issu de la thèse de Blondel (2008)



Annexe 3.2 : Protocoles de préparation des flacons d'échantillonnage de la fluorescence de la matière organique

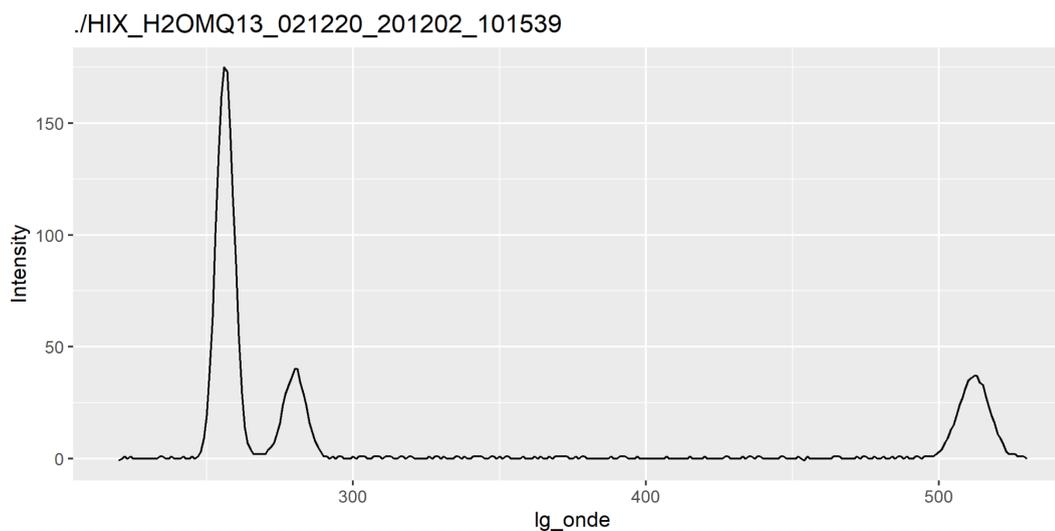
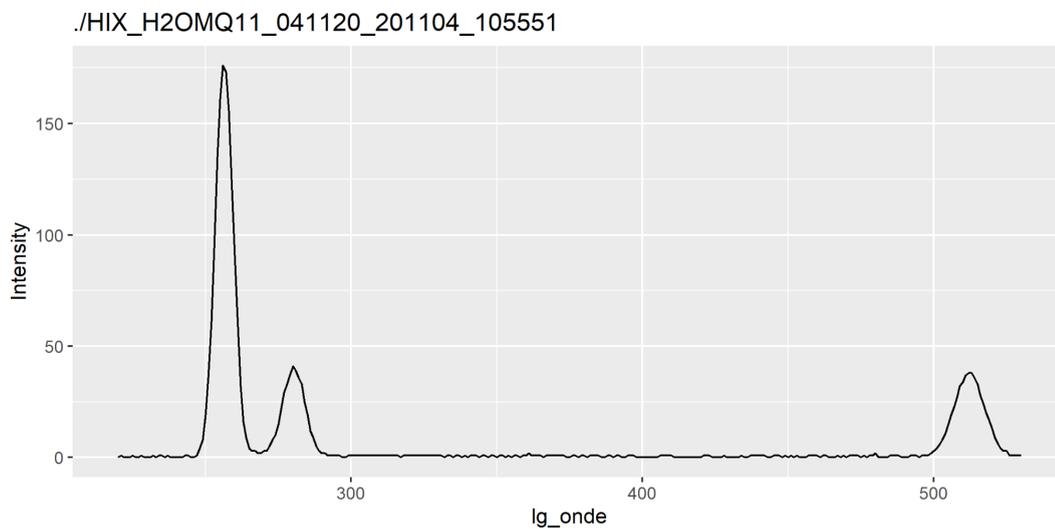
Le prélèvement d'eau pour l'étude de la matière organique se fait dans des flacons en verre ambré de 60 cc pour maintenir l'échantillon à l'abri de la lumière. Ces flacons doivent être soigneusement décontaminés selon le protocole suivant :

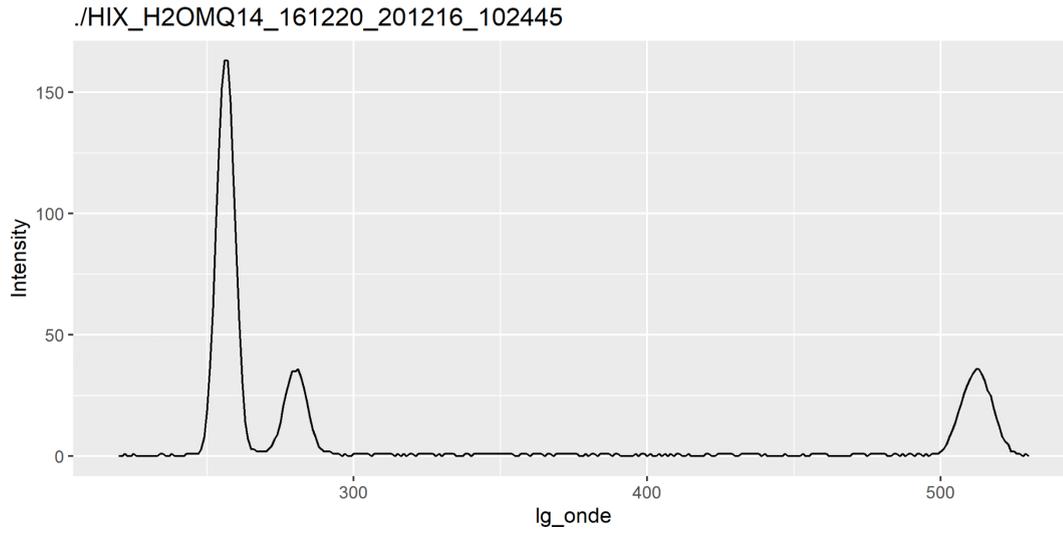
- Tremper pendant au moins 24h dans une solution d' HNO_3 à 20%;
- Rincer trois fois à l'eau ultra-pure (MilliQ);
- Laisser tremper les flacons dans l'eau MilliQ pendant au moins 24h;
- Faire griller les flacons dans un four à 550°C pendant 6h.

La décontamination des bouchons de flacons se fait de la manière suivante :

- Laisser tremper les bouchons pendant 5 minutes maximum dans une solution d' HNO_3 à 10%;
- Laisser tremper 5 minutes dans l'eau MilliQ;
- Rincer 5 fois à l'eau MilliQ en immergeant les bouchons.

Annexe 3.3 : Spectre d'émission ($\lambda_{em} = [220 ; 530]$ nm ; intervalles de 1 nm) de l'eau ultra-pure à $\lambda_{ex} = 254$ nm obtenu grâce au spectrofluorimètre Shimadzu RF-5301





Annexe 3.4 : Calcul de l'indice d'humification à partir de spectre d'émission pour une longueur d'onde d'excitation de 254 nm

- Importation des données

Pour utiliser le code, les données d'entrées doivent correspondre à des spectres d'émission de longueur d'onde d'excitation $\lambda_{ex} = 254$ nm et $\lambda_{em} = [220 ; 530]$ avec un intervalle de données de 1 nm. Le fichier doit être en csv, et les données (Wavelength nm et Intensity) doivent débiter à la ligne 38, il s'agit de la nomenclature de fichier type en sortie de l'appareil de mesure. Ensuite, il faut impérativement vérifier que les fichiers comportent uniquement des décimales « . » et non « , ». Le code est construit de manière à récupérer tous les fichiers de données stockés dans un dossier « data » créé au préalable par l'utilisateur, et à enregistrer les résultats dans un dossier « results ».

```
####Importer les fichiers de donnees####
library(tidyverse)
#Definition du chemin d'accès aux donnees
results<-setwd("C:/.../results")
dossier<-setwd("C:/.../data")
# importer tous les fichiers
fichiers <- list.files(path=".",full.names = TRUE, pattern = "*.csv")
nom_fichier <- str_extract(fichiers, "\\..*")
# combiner tous les fichiers en un seul
fluo_all <-
map2_dfr(fichiers,nom_fichier,~read_delim(.x,delim=";",col_types =
cols(.default = "n"),skip=37) %>%
  mutate(id=.y) %>%
  rename(lg_onda=1,fichier=id) %>%
  mutate(fichier= str_replace(fichier, ".csv", ""))
```

- Tracer et sauvegarder les spectres

Le code permet de tracer les spectres 2D et de les sauvegarder un à un dans le dossier « result » en utilisant le nom du csv à l'origine des données.

```
####Tracer le spectre####
# graphiques individuels, s'affichent les uns a la suite des autres
fluo_all_graphiques<-fluo_all %>%
  group_by(fichier) %>%
  nest() %>%
  mutate(graphiques=map(data,
                        ~ggplot(data=.x,aes(lg_onde,Intensity))+
                          geom_line()+
                          labs(title=fichier)))
walk(fluo_all_graphiques,print)
# sauvegarder les graphiques un par un dans dossier results
setwd(results)
fluo_all_graphiques_print<-fluo_all %>%
  split(.$fichier) %>%
  map(~ggplot(.,aes(lg_onde,Intensity))+
      geom_line()+
      labs(title=.$fichier))
paths <- stringr::str_c(names(fluo_all_graphiques_print), ".png")
pwalk(list(paths, fluo_all_graphiques_print),
ggsave,width=20,height=10,units="cm", path = getwd())
```

- Calcul de l'indice d'humification

Le code permet également de calculer le HIX et de stocker les valeurs à côté de chaque nom de fichier de données dans un csv enregistré dans le dossier « results ».

```
# Calculs du HIX
setwd(dossier)
calcul_L <-fluo_all %>%
  group_by(fichier) %>%
  filter(between(lg_onde,300,345)) %>%
  summarize(L=(sum(Intensity)*2-
(first(Intensity)+last(Intensity)))/2)
calcul_H <-fluo_all %>%
  group_by(fichier) %>%
  filter(between(lg_onde,435,480)) %>%
  summarize(H=(sum(Intensity)*2-
(first(Intensity)+last(Intensity)))/2)

fluo_all_calculs<-left_join(calcul_L,calcul_H) %>%
  group_by(fichier) %>%
  mutate(HIX=H/(L+H))

# Enregistrer en csv dans le dossier results
setwd(results)
write_csv2(fluo_all_calculs,"results.csv")
```

Annexe 3.5 : Principe et application de la méthode de modélisation PARAFAC

La modélisation PARAFAC décompose le signal des données en un ensemble de termes trilineaires et une valeur résiduelle selon l'équation suivante (Murphy et al., 2013):

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk}$$

Où :

- i , j et k représentent les longueurs d'ondes d'excitation (k) et d'émission (j) correspondant aux 3 directions de la matrice, allant respectivement de 1 à I , J , K .
- x_{ijk} correspond à l'échantillon ayant comme longueurs d'ondes d'excitation et d'émission
- e_{ijk} est le terme résiduel représentant la variabilité non prise en compte par le modèle
- Chaque f correspond à un composant PARAFAC (de 1 à F), chacun ayant I valeurs a , une pour chaque échantillon, J valeurs b , une pour chaque longueur d'onde d'émission, et K valeurs c , une pour chaque longueur d'onde d'excitation.
- a_{if} : proportionnel à la concentration du composant de l'échantillon
- b_{jf} : estimation de l'échelle du spectre d'émission du composant
- c_{kf} : linéairement proportionnel au coefficient d'absorption spécifique du composant

La décomposition par PARAFAC inclut les hypothèses suivantes (Murphy et al., 2013):

- *Variabilité* : aucun composant chimique ne peut avoir des intensités de fluorescence parfaitement covariantes ou des spectres identiques;
- *Trilinéarité* : le même nombre de composants illustre la variation chimique dans chaque mode d'une base de données. Pour les matrices 3D, cela signifie que le spectre d'émission est invariant sur les longueurs d'onde d'excitation, que le spectre d'excitation est invariant sur les longueurs d'ondes d'émission, et que la fluorescence augmente quasi linéairement avec la concentration;
- *Additivité* : le signal total est le résultat de la superposition linéaire d'un nombre fixe de composants.

Etapes à suivre pour le calcul d'un modèle PARAFAC via staRdom :

1. Paramétrage de l'analyse: le modèle PARAFAC peut être calculé grâce à la fonction `eem_parafac`. L'utilisateur doit d'abord définir un certain nombre de paramètres :
 - a. Nombre de composants N : définir un nombre minimal (*dim_min*) et un nombre maximal (*dim_max*) de composantes. Pour chaque N , le modèle calcule et compare les formes des pics et les erreurs entre différents modèles pour identifier la meilleure solution.
 - b. Nombre d'initialisations : définir un nombre minimum (*nstart*) de modèles à créer. Le modèle ayant le moins d'erreur résiduelle sera utilisé pour poursuivre l'analyse (plus faible valeur résiduelle e_{ijk} , modèle prenant en compte le plus de variabilité des données).
 - c. Paramètres de précision du modèle : L'algorithme PARAFAC utilise des valeurs de départ générées aléatoirement. L'algorithme de moindre carré permet de calculer un minimum local de somme des erreurs aux carrés (SSE) plutôt qu'un minimum global. Pour être certain que le minimum global est bien identifié, plusieurs modèles sont calculés en utilisant des valeurs aléatoires de départ selon un nombre maximal d'itérations défini de l'analyse PARAFAC définie par *maxit*. La tolérance de convergence des modèles (*ctol*) peut être fixée et fournir un compromis ajustable entre précision et vitesse.
2. Analyse PARAFAC: le modèle est calculé grâce à la fonction `eem_parafac`. Des contraintes peuvent ou non être appliquées. La fluorescence étant toujours positive, la contrainte la plus utilisée est la non négativité (*nonneg*, Andersen and Bro, 2003). Il est également possible d'appliquer des contraintes d'unimodalité en supplément aux contraintes négatives (*uninon*) pouvant améliorer l'interprétabilité des résultats. Cependant, les résultats à l'application de contraintes de non-négativité suffisent généralement à l'obtention de résultats plausibles (Graeber et al., 2015; Murphy et al., 2013), bien que l'ajout de l'unimodalité améliore généralement l'interprétabilité des résultats (Bierozza et al., 2011; Bro, 1999). L'objet créé à la suite de cette analyse est une liste contenant autant de listes que de modèles créés (un modèle = un nombre de composants). Les listes de tous les modèles contiennent des valeurs relatives à la génération du modèle comme le nombre d'itérations ayant été nécessaires, ou encore les contraintes appliquées. Chacune de ces listes contient également des résultats correspondants aux modes A, B et C, ainsi que certains paramètres importants :

- a. Mode A : attribue à chaque échantillon une valeur d'intensité pour tous les composants ;
 - b. Mode B : attribue à chaque composant des valeurs d'intensité à toutes les longueurs d'ondes d'émission ;
 - c. Mode C : attribue à chaque composant des valeurs d'intensité à toutes les longueurs d'ondes d'excitation ;
 - d. SSE (Sum of squared error) : somme des carrés des erreurs ou des résidus, mesure de la divergence entre les données et le modèle. Utilisé pour vérifier la viabilité du modèle, doit être le plus faible possible ;
 - e. Rsquared (model fit, R-squared): représente la fraction de la variance capturée par la régression du modèle (valeur de 0 à 1, doit être le plus proche de 1 possible);
 - f. GCV (generalized cross validation statistic) : permet d'évaluer la capacité de généralisation d'un modèle, c'est-à-dire sa viabilité à modéliser différents ensembles de modèles.
3. Représenter le modèle et ses composants: représenter les modèles est une étape importante permettant de vérifier la viabilité des résultats. Plusieurs fonctions permettent d'obtenir différentes façons de représenter :
- a. eempfc : permet d'obtenir les spectres d'émission des composants identifiés pour chacun des modèles calculés (modèles de dim_min à dim_max composants)
 - b. eempfc_fit : représente les valeurs de Rsquared pour chaque modèle
 - c. eempfc_plot : permet de représenter les matrices d'excitation-émission de tous les composants de chaque modèle
4. Vérifier l'absence de corrélation entre les composants: le modèle PARAFAC est calculé sur la base d'espèces chimiques qui varient de manière totalement indépendante. Il est possible de représenter les composants grâce aux fonctions `eempfc` et `eempfc_plot`. Cela permet de représenter la distribution des charges spectrales (loadings) pour chaque composants, les courbes de régressions, et le coefficient de corrélation de Pearson entre les composants 2 à 2. La corrélation entre les composants doit être la plus faible possible, si ce n'est pas le cas, la normalisation peut aider à réduire la corrélation.
5. Identifier et exclure les valeurs aberrantes: la fonction `eempfc_leverage` permet d'identifier les valeurs aberrantes en réalisant 3 graphes, un pour les longueurs d'onde

d'émission, un pour l'excitation et un pour les échantillons. Sur ces 3 graphes est représentée en ordonnées une variable « leverage » correspondant à l'influence de chaque λ_{ex} , λ_{em} , échantillon sur le calcul du modèle. Si l'influence d'un échantillon, ou d'une longueur d'onde est bien plus importante que les autres (plus proche de 1), il faut l'exclure grâce à `eem_exclude`. Il faudra ensuite étudier ces valeurs exclues grâce à leur charges spectrales pouvant être calculées grâce à la fonction `A_missing`, afin d'éviter d'omettre un échantillon particulier (ex. contamination ponctuelle).

6. Examiner les résidus : la représentation des résidus est possible grâce à `eempf_residuals_plot`. Ce graphique permet de vérifier la viabilité du modèle. En effet, les résidus correspondent théoriquement à du bruit. Si cette représentation permet de visualiser des pics ou des formes qui s'individualisent, il faut reprendre le calcul du modèle pour pouvoir les inclure.
7. Calculer le modèle PARAFAC final : après avoir réalisé toutes les étapes préliminaires détaillées précédemment, le nombre de composants pour le modèle final a pu être identifié. Il est nécessaire de recalculer ce modèle en modifiant les paramètres (`ctol`, `nstart`, `maxit`) afin de le rendre plus précis et plus fiable. Il faut ensuite répéter les étapes 2 à 6 jusqu'à obtention d'un modèle satisfaisant.
8. Représentations des résultats : une fois le modèle final créé, les résultats peuvent être représentés grâce à la fonction `eempf_comp_load_plot`. Deux graphiques sont générés grâce à cette fonction. Le premier correspond aux matrices d'excitation-émission de chaque composante identifiée, et le second représente la composition en chaque composante de chaque échantillon. Les échantillons et les résidus peuvent également être représentés par la fonction `eempf_residuals_plot`. Ce graphe représente pour chaque échantillon (en colonne), l'ensemble des composés présents ainsi que les résidus (en ligne).
9. Vérification de la stabilité du modèle : la validation du modèle est réalisée par une analyse croisée de type split-half, grâce à la fonction `splithalf` (Murphy et al., 2013). Cette validation robuste du modèle nécessite entre 100 et 200 échantillons. Elle consiste à séparer les données de manière supervisée ou aléatoire en 4 parties égales (A, B, C, D) qui sont ensuite combinées et comparées les unes aux autres (AB-CD, AD-BC, AC-BD). Les résultats sont représentés grâce à `splithalf_plot` générant un graphique permettant de visualiser la charge spectrale de chaque composante. Le modèle est considéré comme stable si les graphiques de toutes les composantes se

ressemblent. Le coefficient de congruence de Tucker peut également être calculé. Il permet d'évaluer la similarité des parties de données comparées entre elles par l'analyse split-half (Tucker, 1951). La fonction `splithalf_tcc` permet de visualiser les résultats, une valeur de TCC (Tucker's Congruency Coefficients) de 1 signifie une parfaite similarité. La valeur de TCC doit être égale à 1 pour toutes les comparaisons du split-half réalisée, si ce n'est pas le cas, le modèle n'est pas suffisamment stable. Dans ce cas, recommencer l'analyse PARAFAC en augmentant `maxit` et `nstart`. La fonction `eempf_ssc` peut être utilisée pour comparer des modèles, pas uniquement ceux créés par une analyse split-half. Elle permet de calculer la congruence shift and shape (SSC, Wunsch et al., 2019).

10. Validation du modèle : la validation du modèle peut se faire en calculant des paramètres :
 - a. *Core consistency* : Calculé grâce à la fonction `eempf_corcondia`, ce paramètre donne une valeur proche de 100 % pour les modèles ayant un nombre approprié de composantes, une valeur faible s'il y a trop de composantes (Bro and Kiers, 2003). Ce paramètre est à utiliser avec précaution car il est qualifié de sévère et peut attribuer de faibles valeurs à des résultats pourtant convenables (Bro, 1997).
 - b. *EEMqual* : Paramètre de qualité intégrant le R^2 , *core consistency* et l'analyse split-half. On l'obtient grâce à la fonction `eempf_eemqual`, et son utilisation est également à prendre avec précaution car prend en considération le *core consistency*.
 - c. *Calcul de l'importance des composantes* : peut se faire grâce à `eempf_varimp`. Cette fonction va partir du modèle créé et retirer une composante à la fois en créant un nouveau modèle avec le nombre initial de composantes. La valeur obtenue correspondra à la différence entre le R^2 du modèle original, et celui du nouveau modèle dans lequel une des composantes a été exclue.

Références

- Aiken, G., 2014. Fluorescence and Dissolved Organic Matter: A Chemist's Perspective, in: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D.M., Spencer, R.G.M. (Eds.), *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Cambridge University Press, pp. 35–74. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139045452.005>[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0)
- Aiken, G., McKnight, D., Harnish, R., Wershaw, R., 1996. Geochemistry of aquatic humic substances in the Lake Fryxell Basin, Antarctica. *Biogeochemistry* 34. <https://doi.org/10.1007/BF00000900>
- Andersen, C.M., Bro, R., 2003. Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation-emission data. *J. Chemom.* 17, 200–215. <https://doi.org/10.1002/cem.790>
- Baker, A., Genty, D., 1999. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *J. Hydrol.* 217, 19–34. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(99\)00010-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(99)00010-4)
- Baker, A., Lamont-Black, J., 2001. Fluorescence of Dissolved Organic Matter as a Natural Tracer of Ground Water. *Ground Water* 39, 745–750. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2001.tb02365.x>
- Baker, A., Spencer, R.G.M., 2004. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Sci. Total Environ.* 333, 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.04.013>
- Barbel-Périneau, A., 2013. Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d'Expérimentation et d'Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Barbel-Périneau, A., Barbiero, L., Danquigny, C., Emblanch, C., Mazzilli, N., Simler, L., Valles, V., 2019. Karst flow processes explored through analysis of long-term unsaturated-zone discharge hydrochemistry: a 10-year study in Rustrel, France. *Hydrogeol. J.* 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10040-019-01965-6>
- 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.
- Batiot, C., Emblanch, C., Blavoux, B., 2003a. Carbone organique total (COT) et magnésium (Mg²⁺): deux traceurs complémentaires du temps de séjour dans l'aquifère karstique. *Comptes Rendus Geosci.* 335, 205–214. [https://doi.org/10.1016/S1631-0713\(03\)00027-0](https://doi.org/10.1016/S1631-0713(03)00027-0)
- Batiot, C., Liñán, C., Andreo, B., Emblanch, C., Carrasco, F., Blavoux, B., 2003b. Use of Total Organic Carbon (TOC) as tracer of diffuse infiltration in a dolomitic karstic system: The Nerja Cave (Andalusia, southern Spain): TOC as a tracer of diffuse infiltration. *Geophys. Res. Lett.* 30. <https://doi.org/10.1029/2003GL018546>
- Bierzoza, M., Baker, A., Bridgeman, J., 2011. Classification and calibration of organic matter fluorescence data with multiway analysis methods and artificial neural networks: an operational tool for improved drinking water treatment. *Environmetrics* 22, 256–270. <https://doi.org/10.1002/env.1045>
- Blondel, T., 2008a. 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Blondel, T., 2008b. Expérimentation et application sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel – Pays d'Apt et de Fontaine de Vaucluse. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Blondel, T., Emblanch, C., Batiot-Guilhe, C., Dudal, Y., Boyer, D., 2012. Punctual and continuous estimation of transit time from dissolved organic matter fluorescence properties in karst aquifers, application to groundwaters of 'Fontaine de Vaucluse' experimental basin (SE

- France). *Environ. Earth Sci.* 65, 2299–2309. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1562-x>
- Bracken, L.J., Wainwright, J., Ali, G.A., Tetzlaff, D., Smith, M.W., Reaney, S.M., Roy, A.G., 2013. Concepts of hydrological connectivity: Research approaches, pathways and future agendas. *Earth-Sci. Rev.* 119, 17–34. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2013.02.001>
- Bro, R., 1999. Exploratory study of sugar production using fluorescence spectroscopy and multi-way analysis. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 46, 133–147. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(98\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(98)00181-6)
- Bro, R., 1997. PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 38, 149–171. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(97\)00032-4](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(97)00032-4)
- Bro, R., Kiers, H.A.L., 2003. A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models. *J. Chemom.* 17, 274–286. <https://doi.org/10.1002/cem.801>
- Cao, X., He, W., Fan, M., He, W., Shi, Y., An, T., Chen, X., Zhang, Z., Liu, F., Zhao, Y., Zhou, P., Chen, C., He, J., 2023. Novel insights into source apportionment of dissolved organic matter in aquifer affected by anthropogenic groundwater recharge: Applicability of end-member mixing analysis based optical indices. *Sci. Total Environ.* 863, 160885. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160885>
- Carrière, S.D., Chalikakis, K., Sénéchal, G., Danquigny, C., Emblanch, C., 2013. Combining Electrical Resistivity Tomography and Ground Penetrating Radar to study geological structuring of karst Unsaturated Zone. *J. Appl. Geophys.* 94, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.jappgeo.2013.03.014>
- Charlier, J.-B., Bertrand, C., Binet, S., Mudry, J., Bouillier, N., 2010. Use of continuous measurements of dissolved organic matter fluorescence in groundwater to characterize fast infiltration through an unstable fractured hillslope (Valabres rockfall, French Alps). *Hydrogeol. J.* 18, 1963–1969. <https://doi.org/10.1007/s10040-010-0670-5>
- Chen, H., Liao, Z., Gu, X., Xie, J., Li, H., Zhang, J., 2017. Anthropogenic Influences of Paved Runoff and Sanitary Sewage on the Dissolved Organic Matter Quality of Wet Weather Overflows: An Excitation–Emission Matrix Parallel Factor Analysis Assessment. *Environ. Sci. Technol.* 51, 1157–1167. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03727>
- Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., Booksh, K., 2003. Fluorescence Excitation–Emission Matrix Regional Integration to Quantify Spectra for Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 37, 5701–5710. <https://doi.org/10.1021/es034354c>
- Coble, P.G., 2014. *Aquatic organic matter fluorescence*. Cambridge University Press, New York.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* 51, 325–346. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(95\)00062-3](https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3)
- Coble, P.G., Spencer, R.G.M., Baker, A., Reynolds, D.M., 2014. Aquatic Organic Matter Fluorescence, in: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D.M., Spencer, R.G.M. (Eds.), *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Cambridge University Press, pp. 75–122. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139045452.006>
- Cognard-Plancq, A.-L., Gevaudan, C., Emblanch, C., 2006. Historical monthly rainfall- runoff database on Fontaine de Vaucluse karst system: a review and lessons.
- Conmy, R.N., Coble, P.G., Cannizzaro, J.P., Heil, C.A., 2009. Influence of extreme storm events on West Florida Shelf CDOM distributions. *J. Geophys. Res.* 114, G00F04. <https://doi.org/10.1029/2009JG000981>
- Covino, T., 2017. Hydrologic connectivity as a framework for understanding biogeochemical flux through watersheds and along fluvial networks. *Geomorphology* 277, 133–144. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2016.09.030>
- D’Andrilli, J., Silverman, V., Buckley, S., Rosario-Ortiz, F.L., 2022. Inferring Ecosystem Function from Dissolved Organic Matter Optical Properties: A Critical Review. *Environ. Sci. Technol.* 56, 11146–11161. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c04240>
- Duchaufour, P., Faivre, P., Poulencard, J., Gury, M., 2020. *Introduction à la science du sol - Sol, végétation, environnement*, 7e édition. ed, Sciences Sup. Dunod.
- Emblanch, C., Blavoux, B., Puig, J.-M., Mudry, J., 1998. Dissolved organic carbon of infiltration within the autogenic Karst Hydrosystem. *Geophys. Res. Lett.* 25, 1459–1462.

- <https://doi.org/10.1029/98GL01056>
- Ewald, M., Berger, P., Visser, S.A., 1988. UV-visible absorption and fluorescence properties of fulvic acids of microbial origin as functions of their molecular weights. *Geoderma* 43, 11–20. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(88\)90051-1](https://doi.org/10.1016/0016-7061(88)90051-1)
- Fellman, J.B., Hood, E., Spencer, R.G.M., 2010. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. *Limnol. Oceanogr.* 55, 2452–2462. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.6.2452>
- Frank, S., Goeppert, N., Goldscheider, N., 2021. Field Tracer Tests to Evaluate Transport Properties of Tryptophan and Humic Acid in Karst. *Groundwater* 59, 59–70. <https://doi.org/10.1111/gwat.13015>
- Frank, S., Goeppert, N., Goldscheider, N., 2018. Fluorescence-based multi-parameter approach to characterize dynamics of organic carbon, faecal bacteria and particles at alpine karst springs. *Sci. Total Environ.* 615, 1446–1459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.095>
- Gabor, R.S., Baker, A., McKnight, D.M., Miller, M.P., 2014. Fluorescence indices and their interpretation, in: *Aquatic Organic Matter Fluorescence*.
- Gibson, D.T., 1968. Microbial Degradation of Aromatic Compounds. *Science* 161, 1093–1097. <https://doi.org/10.1126/science.161.3846.1093>
- Graeber, D., Boëchat, I.G., Encina-Montoya, F., Esse, C., Gelbrecht, J., Goyenola, G., Gücker, B., Heinz, M., Kronvang, B., Meerhoff, M., Nimptsch, J., Pusch, M.T., Silva, R.C.S., von Schiller, D., Zwirnmann, E., 2015. Global effects of agriculture on fluvial dissolved organic matter. *Sci. Rep.* 5, 16328. <https://doi.org/10.1038/srep16328>
- Guo, H., Li, X., Xiu, W., He, W., Cao, Y., Zhang, D., Wang, A., 2019. Controls of organic matter bioreactivity on arsenic mobility in shallow aquifers of the Hetao Basin, P.R. China. *J. Hydrol.* 571, 448–459. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.01.076>
- Hu, D., Indika, S., Zhong, H., Weragoda, S.K., Jinadasa, K.B.S.N., Weerasooriya, R., Wei, Y., 2023. Fluorescence characteristics and source analysis of DOM in groundwater during the wet season in the CKDu zone of North Central Province, Sri Lanka. *J. Environ. Manage.* 327, 116877. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116877>
- Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D., 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. *River Res. Appl.* 23, 631–649. <https://doi.org/10.1002/rra.1005>
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002>
- Jiang, Y., Li, R., Yang, Y., Yu, M., Xi, B., Li, M., Xu, Z., Gao, S., Yang, C., 2019. Migration and evolution of dissolved organic matter in landfill leachate-contaminated groundwater plume. *Resour. Conserv. Recycl.* 151, 104463. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104463>
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. CONTROLS ON THE DYNAMICS OF DISSOLVED ORGANIC MATTER IN SOILS: A REVIEW. *Soil Sci.* 165, 277–304. <https://doi.org/10.1097/00010694-200004000-00001>
- Kulkarni, H.V., Mladenov, N., Johannesson, K.H., Datta, S., 2017. Contrasting dissolved organic matter quality in groundwater in Holocene and Pleistocene aquifers and implications for influencing arsenic mobility. *Appl. Geochem.* 77, 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2016.06.002>
- Lastennet, R., 1994. Rôle de la zone non saturée dans le fonctionnement des aquifères karstiques: approche par l'étude physico-chimique et isotopique du signal d'entrée et des exutoires du massif du Ventoux (Vaucluse) (PhD). Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, France.
- Lawaetz, A.J., Stedmon, C.A., 2009. Fluorescence Intensity Calibration Using the Raman Scatter Peak of Water. *Appl. Spectrosc.* 63, 936–940. <https://doi.org/10.1366/000370209788964548>
- Lee, M.-H., Lee, Y.K., Derrien, M., Choi, K., Shin, K.H., Jang, K.-S., Hur, J., 2019. Evaluating the contributions of different organic matter sources to urban river water during a storm event via optical indices and molecular composition. *Water Res.* 165, 115006. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115006>

- Li, X., Guo, H., Zheng, H., Xiu, W., He, W., Ding, Q., 2019. Roles of different molecular weights of dissolved organic matter in arsenic enrichment in groundwater: Evidences from ultrafiltration and EEM-PARAFAC. *Appl. Geochem.* 104, 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.03.024>
- Liao, J., Hu, C., Li, X., Ruan, J., 2021. Drying increases organic colloidal mobilization in the karst vadose zone: Evidence from a 15-year cave-monitoring study. *Hydrol. Process.* 35. <https://doi.org/10.1002/hyp.14163>
- Marschner, B., Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 211–235.
- McKnight, D.M., Andrews, E.D., Spaulding, S.A., Aiken, G.R., 1994. Aquatic fulvic acids in algal-rich antarctic ponds. *Limnol. Oceanogr.* 39, 1972–1979. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.8.1972>
- McKnight, D.M., Bencala, K.E., Zellweger, G.W., Aiken, G.R., Feder, G.L., Thom, 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. *Environ. Sci. Technol.* 1388–1396.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* 46, 38–48. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038>
- Miano, T.M., Senesi, N., 1992. Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry. *Sci. Total Environ.* 117–118, 41–51. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90071-Y](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90071-Y)
- Mladenov, N., Zheng, Y., Miller, M.P., Nemergut, D.R., Legg, T., Simone, B., Hageman, C., Rahman, M.M., Ahmed, K.M., McKnight, D.M., 2010. Dissolved Organic Matter Sources and Consequences for Iron and Arsenic Mobilization in Bangladesh Aquifers. *Environ. Sci. Technol.* 44, 123–128. <https://doi.org/10.1021/es901472g>
- Moore, T.R., Desouza, W., Koprivnjak, J.F., 1992. Controls on the sorption of dissolved organic carbon by soils. *Soil Sci.* 120–129.
- Moral, F., Cruz-Sanjulián, J.J., Ollas, M., 2008. Geochemical evolution of groundwater in the carbonate aquifers of Sierra de Segura (Betic Cordillera, southern Spain). *J. Hydrol.* 360, 281–296. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.07.012>
- Moran, M.A., Sheldon, W.M., Zepp, R.G., 2000. Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 45, 1254–1264. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.6.1254>
- Mudarra, M., Andreo, B., Baker, A., 2011. Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence: Relationship with infiltration processes. *Sci. Total Environ.* 409, 3448–3462. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.026>
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Graeber, D., Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. *PARAFAC. Anal. Methods* 5, 6557. <https://doi.org/10.1039/c3ay41160e>
- Nelson, C.E., Donahue, M.J., Dulaiova, H., Goldberg, S.J., La Valle, F.F., Lubarsky, K., Miyano, J., Richardson, C., Silbiger, N.J., Thomas, F.I.M., 2015. Fluorescent dissolved organic matter as a multivariate biogeochemical tracer of submarine groundwater discharge in coral reef ecosystems. *Mar. Chem.* 177, 232–243. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.06.026>
- Oades, J.M., Gillman, G.P., Uehara, G., 1989. Interactions of Soil Organic Matter and Variable-Charge Clays, in: *Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems*. Honolulu, pp. 69–95.
- Ohno, T., 2002. Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 36, 742–746. <https://doi.org/10.1021/es0155276>
- Ollivier, C., 2020. Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrosystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France (PhD). Université d'Avignon.
- 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. *Org. Geochem.* 31, 1765–1781. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00124-8)
- Pucher, M., Wunsch, U., Weigelhofer, G., Murphy, K., Hein, T., Graeber, D., 2019. staRdom: Versatile Software for Analyzing Spectroscopic Data of Dissolved Organic Matter in R. *Water* 11, 2366. <https://doi.org/10.3390/w11112366>
- Quiers, M., Batiot-Guilhe, C., Bicalho, C.C., Perrette, Y., Seidel, J.-L., Van Exter, S., 2014. Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in a karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter. *Environ. Earth Sci.* 71, 553–561. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2731-2>
- Richards, L.A., Lapworth, D.J., Magnone, D., Gooddy, D.C., Chambers, L., Williams, P.J., van Dongen, B.E., Polya, D.A., 2019. Dissolved organic matter tracers reveal contrasting characteristics across high arsenic aquifers in Cambodia: A fluorescence spectroscopy study. *Geosci. Front.* 10, 1653–1667. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2019.04.009>
- Rouessac, F., Rouessac, A., 1998. Analyse chimique. Methodes et techniques instrumentales modernes. Cours et exercices résolus, 4ème édition. ed. Dunod, Paris.
- Rutledge, H., Andersen, M.S., Baker, A., Chinu, K.J., Cuthbert, M.O., Jex, C.N., Marjo, C.E., Markowska, M., Rau, G.C., 2015. Organic characterisation of cave drip water by LC-OCD and fluorescence analysis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 166, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2015.05.042>
- Schittich, A.-R., Wunsch, U.J., Kulkarni, H.V., Battistel, M., Bregnhøj, H., Stedmon, C.A., McKnight, U.S., 2018. Investigating Fluorescent Organic-Matter Composition as a Key Predictor for Arsenic Mobility in Groundwater Aquifers. *Environ. Sci. Technol.* 52, 13027–13036. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04070>
- Senesi, N., 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. *Anal. Chim. Acta* 232, 77–106. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)81226-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)81226-X)
- Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R., Brunetti, G., 1991. CHARACTERIZATION, DIFFERENTIATION, AND CLASSIFICATION OF HUMIC SUBSTANCES BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY: *Soil Sci.* 152, 259–271. <https://doi.org/10.1097/00010694-199110000-00004>
- Serène, L., Batiot-Guilhe, C., Mazzilli, N., Emblanch, C., Babic, M., Dupont, J., Simler, R., Blanc, M., Massonnat, G., 2022. Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France). *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 26, 5035–5049. <https://doi.org/10.5194/hess-26-5035-2022>
- Shen, Y., Chapelle, F.H., Strom, E.W., Benner, R., 2015. Origins and bioavailability of dissolved organic matter in groundwater. *Biogeochemistry* 122, 61–78. <https://doi.org/10.1007/s10533-014-0029-4>
- Sorensen, J.P.R., Carr, A.F., Nayebare, J., Diongue, D.M.L., Pouye, A., Roffo, R., Gwengweya, G., Ward, J.S.T., Kanoti, J., Okotto-Okotto, J., van der Marel, L., Ciric, L., Faye, S.C., Gaye, C.B., Goodall, T., Kulabako, R., Lapworth, D.J., MacDonald, A.M., Monjerezi, M., Olago, D., Owor, M., Read, D.S., Taylor, R.G., 2020. Tryptophan-like and humic-like fluorophores are extracellular in groundwater: implications as real-time faecal indicators. *Sci. Rep.* 10, 15379. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72258-2>
- Stedmon, C.A., Cory, R.M., 2014. Biological Origins and Fate of Fluorescent Dissolved Organic Matter in Aquatic Environments, in: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D.M., Spencer, R.G.M. (Eds.), *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Cambridge University Press, pp. 278–300. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139045452.013>
- Stedmon, C.A., Markager, S., 2005a. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnol. Oceanogr.* 50, 1415–1426. <https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.5.1415>
- Stedmon, C.A., Markager, S., 2005b. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnol. Oceanogr.* 50, 686–697. <https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.2.0686>

- Stevanović, Z., 2019. Karst waters in potable water supply: a global scale overview. *Environ. Earth Sci.* 78, 662. <https://doi.org/10.1007/s12665-019-8670-9>
- Thurman, E., 1985. *Organic chemistry of natural waters*. Martinus Nijhof/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Thurman, E.M., Wershaw, R.L., Malcolm, R.L., Pinckney, D.J., 1982. Molecular size of aquatic humic substances. *Org. Geochem.* 4, 27–35. [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(82\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0146-6380(82)90005-5)
- Tucker, L.R., 1951. *A method for synthesis of factor analysis studies*; Educational Testing Service. Princeton, NJ, USA.
- Wang, S., Wang, Y., He, X., Lu, Q., 2022. Degradation or humification: rethinking strategies to attenuate organic pollutants. *Trends Biotechnol.* 40, 1061–1072. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2022.02.007>
- White, W.B., 2002. Karst hydrology: recent developments and open questions. *Eng. Geol.* 65, 85–105. [https://doi.org/10.1016/S0013-7952\(01\)00116-8](https://doi.org/10.1016/S0013-7952(01)00116-8)
- Wilson, H.F., Xenopoulos, M.A., 2009. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nat. Geosci.* 2, 37–41. <https://doi.org/10.1038/ngeo391>
- Worrall, F., Gibson, H.S., Burt, T.P., 2008. Production vs. solubility in controlling runoff of DOC from peat soils – The use of an event analysis. *J. Hydrol.* 358, 84–95. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.05.037>
- Wünsch, U.J., Bro, R., Stedmon, C.A., Wenig, P., Murphy, K.R., 2019. Emerging patterns in the global distribution of dissolved organic matter fluorescence. *Anal. Methods* 11, 888–893. <https://doi.org/10.1039/C8AY02422G>
- Xia, F., Liu, Z., Zhao, M., Li, Q., Li, D., Cao, W., Zeng, C., Hu, Y., Chen, B., Bao, Q., Zhang, Y., He, Q., Lai, C., He, X., Ma, Z., Han, Y., He, H., 2022. High stability of autochthonous dissolved organic matter in karst aquatic ecosystems: Evidence from fluorescence. *Water Res.* 220, 118723. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118723>
- Yang, Y., Yuan, X., Deng, Y., Xie, X., Gan, Y., Wang, Y., 2020. Seasonal dynamics of dissolved organic matter in high arsenic shallow groundwater systems. *J. Hydrol.* 589, 125120. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125120>
- Zepp, R.G., Sheldon, W.M., Moran, M.A., 2004. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters: correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation–emission matrices. *Mar. Chem.* 89, 15–36. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.02.006>
- Zhang, Y., Liu, Y., Zhou, A., zhang, L., 2021. Identification of groundwater pollution from livestock farming using fluorescence spectroscopy coupled with multivariate statistical methods. *Water Res.* 206, 117754. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117754>
- Zheng, Y., He, W., Li, B., Hur, J., Guo, H., Li, X., 2020. Refractory Humic-like Substances: Tracking Environmental Impacts of Anthropogenic Groundwater Recharge. *Environ. Sci. Technol.* 54, 15778–15788. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04561>
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0)

Chapitre 4 : Développement des éléments en trace comme traceur naturel des lithologies carbonatées

Sommaire

Liste des tableaux et figures.....	185
Introduction.....	188
Partie A : Etat de l'art et méthodes.....	189
A.I Potentiel des éléments en trace comme traceurs de l'origine des eaux en milieu carbonaté..	189
A.I.1 Origine des éléments en trace dans les eaux souterraines : processus et facteurs de contrôle des concentrations.....	189
A.I.1.1 Sources d'éléments en trace dissous.....	189
A.I.1.2 Facteurs de contrôle des concentrations.....	192
A.I.2 De la signature en éléments traces des roches à celle des eaux qui les traversent.....	193
A.I.3 Bilan préliminaire sur la potentialité des éléments en trace comme traceurs de l'origine des eaux en milieux carbonatés.....	201
A.II Développement de méthodes d'analyse des éléments en trace en milieu carbonaté (roches et eaux).....	202
A.II.1 Analyse d'échantillons de roches carbonatées.....	202
A.II.1.1 Méthodologie générale.....	202
A.II.1.2 Attaque acide des échantillons de roches carbonatés.....	203
A.II.1.3 Validation de la méthode d'analyse des échantillons de roches.....	205
A.II.2 Protocole de prélèvement des eaux du LSBB pour analyse des éléments en trace.....	210
A.II.2.1 Influence des parois de béton (modifié de Serene, 2019).....	210
A.II.2.2 Influence du dispositif de collecte des flux d'eau au niveau des écoulements du LSBB.....	213
A.II.2.3 Influence de l'environnement durant la phase du percement de la galerie MIGA: contamination de l'air de la galerie et poussières.....	214
A.II.2.4 Protocole final de prélèvement de l'eau pour analyse des éléments en trace.....	219
A.II.3 Sélection des éléments en trace et pré-traitement des données d'analyses des roches	219
Partie B : Résultats et discussion.....	221
B.I. Signature en éléments en trace des carbonates du système Fontaine de Vaucluse.....	221
B.I.1 Mise en évidence d'une signature en éléments en trace des carbonates induite par les environnements de dépôt.....	221
B.I.2 Nature de la signature en éléments en trace des environnements de dépôt des carbonates.	225
B.II Signature en éléments en trace des eaux et potentiel d'utilisation comme traceur des	

environnements de dépôt.....	229
B.II.1 Nature de la signature en éléments en trace des eaux et lien avec la signature en éléments en trace des roches.....	229
B.II.2 Distinction des écoulements en zone non saturée sur le site du LSBB (échelle locale).....	235
Conclusion.....	242
Annexe 4.1 : Liste des échantillons de roches.....	245
Annexe 4.2 : Protocole de test à l'HCL 0.15M.....	249
Annexe 4.3 : Résultats bruts du test de la dissolution des calcaires par HCl 0.15M.....	250
Annexe 4.4 : valeurs de référence du CRM NIST-1d calcaire argileux.....	252
Annexe 4.5 : Protocole final d'attaque acide pour analyse des éléments en traces des roches avec HCl 0.15M.....	257
Annexe 4.6 : Protocoles de préparation des flacons d'échantillonnage des éléments en trace et de préparation des échantillons pour analyse ICP-MS.....	257
Annexe 4.7 : Comparaison des concentrations en éléments en trace des écoulements B, C, W et AJ prélevés le 13/02/2020 et filtré in situ (en rouge), le lendemain (J+1, en bleu) et une semaine après le prélèvement (J+7, en vert).....	258
Annexe 4.8 : Protocole de prélèvement pour analyse des éléments en trace dans les eaux.....	261
Annexe 4.9 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les roches de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse.....	262
Annexe 4.10 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les eaux de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse.....	264
Annexe 4.11 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les eaux du LSBB.....	266
Annexe 4.12 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les roches du LSBB.....	268
Références.....	270

Liste des tableaux et figures

Tableau 4.1 : Récapitulatif des origines minéralogiques des éléments en trace d'après Edmunds et al. (2002), Schumann and Poirot (2016) et Shand et al. (2007); avec : classification minéralogique, type de roche (magmatique, métamorphique, sédimentaire) et noms des minéraux.	296
Tableau 4.2 : Concentrations et particularités des éléments en trace dans les aquifères carbonatés réalisés à partir de 112 échantillons d'eaux issues d'aquifères carbonatés des chaînes alpines d'Europe centrale et méridionale (d'après Dematteis, 1995).	200
Tableau 4.3 : Principaux éléments chimiques des phases minérales présentes dans le béton et susceptibles de passer en solution (Carde, 2007).	211
Tableau 4.4 : Valeurs minimales, maximales et moyennes des débits aux écoulements du LSBB au cours du suivi bi-mensuel de juin 2020 à octobre 2021. Les moyennes sont lissées sur la période (prise en compte de débits nuls).	212
Tableau 4.5 : Concentrations en éléments en trace du béton des galeries du LSBB. Les concentrations en majeurs (SiO ₂ , Al ₂ O ₃ , MnO, CaO, Na ₂ O, K ₂ O, TiO ₂ , P ₂ O ₅) n'ont pas été mesurées.	213
Figure 4.1 : Schéma récapitulatif des sources majeures d'éléments en trace dans les eaux souterraines (apports atmosphériques, anthropiques et géogéniques) et des interactions entre l'eau et l'environnement (sol/vivant, roches) ainsi que des processus liés aux interactions eau-roche.	189
Figure 4.2 : Représentation graphique des rayons ioniques (mesurés en picomètres, 10-12 m) en fonction de la charge ionique pour la plupart des éléments en trace. Les éléments majeurs (en rouge) indiquent les endroits où les substitutions ioniques sont les plus susceptibles de se produire. Le potentiel ionique (rapport charge/taille) de 0,02 subdivise les éléments en éléments à faible champ (LFS) (également connus sous le nom d'éléments lithophiles correspondant aux éléments de grande taille, LILE) et en éléments à champ élevé (HFSE). Les rayons ioniques proviennent de Rollinson and Pease (2021; Shannon, 1976).	191
Figure 4.3 : Spéciation du fer en fonction des conditions du milieu : pH et potentiel d'oxydo-réduction noté ϵ_0 .	193
Figure 4.4 : Comparaison des gammes de valeurs de certains éléments en trace pour des eaux issues de grès, du socle et du schiste au sud-ouest du Nigéria, données d'après (Edet, 2014). Les grès ont la plus grande variabilité des éléments en trace car ils présentent localement des niveaux évaporitiques.	194
Figure 4.5 : Variabilité des éléments en trace au sein des roches carbonatées, d'après le jeu de données de (Dematteis, 1995).	197
Figure 4.6 : Facteurs d'enrichissement et d'appauvrissement en éléments en trace au cours de la diagenèse (Veizer, 1983).	198
Figure 4.7 : Schéma explicatif de la méthodologie suivie depuis la préparation de l'échantillon de roche aux résultats d'analyses obtenus.	203
Figure 4.8 : Concentrations en CaO et SiO ₂ mesurées par ICP-OES et ratio SiO ₂ /CaO pour les 107 échantillons de roches considérés.	204

Figure 4.9 : Représentation des écarts moyens entre les 3 analyses du standard NIST-1d (calcaire argileux).	207
Figure 4.10 : Représentation de l'écart entre la moyenne des triplicats de NIST-1d et les valeurs certifiées.	208
Figure 4.11 : Proportion (%) d'éléments présents en analyse totale retrouvés par la méthode à l'HCl 0.15M par rapport aux analyses totales (obtenues par ICP-OES pour BR62T et Jp; valeur certifiée pour CRM NIST-1d, matériau de référence certifié de calcaire argileux). Fraction de SiO ₂ de chacun des échantillons de roche indiquée en % dans la légende.	209
Figure 4.12 : Représentation des concentrations en magnésium, silice, de la conductivité électrique et du pH sur le suivi réalisé de juin 2020 à octobre 2021 pour Fontaine de Vaucluse (Outlet) et les écoulements du LSBB (UZ-LSBB).	211
Figure 4.13 : Diagramme binaire des concentrations en chlorures et sulfates des écoulements A, B, C, D et W du LSBB (données du suivi bimensuel de juin 2020 à octobre 2021).	212
Figure 4.14 : Ecart relatif entre les concentrations en éléments en trace des écoulements C, A et W prélevés en amont et en aval de la réglette métallique. Un écart positif met en évidence de plus fortes concentrations en amont qu'en aval de la réglette suggérant l'adsorption de l'élément considéré; un écart négatif suggère un relargage.	214
Figure 4.15 : Tests de contamination de l'air en galerie réalisés le 19/11/2019.	215
Figure 4.16 : Concentration en éléments en trace des eaux ultra-pures conditionnées au laboratoire et au niveau du point D le 19/11/2019. Les valeurs absentes sont des valeurs inférieures aux limites de détection.	216
Figure 4.17 : Concentration en éléments en trace à l'écoulement A le 13/02/2020 pour des filtrations réalisées in situ, et en laboratoire à J+1 et J+7.	218
Figure 4.18 : Histogramme des proportions d'échantillons d'eau et de roches supérieures aux limites de quantification (LQ) et par extension supérieures aux limites de détection (LD) pour l'ensemble des éléments analysés par ICP-MS.	220
Figure 4.19 : Dendrogramme résultant du clustering hiérarchique avec calcul des distances Euclidiennes sur l'ensemble des 107 échantillons de carbonates prélevés sur le système de Fontaine de Vaucluse, et selon les 21 variables suivantes : Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U.	224
Figure 4.20 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée pour l'ensemble des échantillons de roches à partir des variables suivantes : Ca et Si (en %) issus de l'analyse totale des échantillons par ICP-OES et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse uniquement de la fraction carbonatée par ICP-MS.	227
Figure 4.21 : Représentation en boîte à moustaches de la distribution des concentrations en éléments traces des échantillons de roches par cluster (Figure 4.19).	228
Figure 4.22 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée pour l'ensemble des échantillons d'eau suivis sur la période de juin 2020 à octobre 2021, à partir des variables suivantes : Ca ⁺⁺ et SiO ₂ issus de l'analyse	230

des éléments majeurs et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse par ICP-MS. Sources (Millet, Trinit, S.Nesque, Outlet = Fontaine de Vaucluse), écoulements du LSBB (UZ-LSBB) et Pertes de la Nesque (P. Nesque).

Figure 4.23 : Boxplot des 21 éléments en trace utilisés pour l'ACP présentée en Figure 16 pour les 6 types d'eau considérés: les sources de Millet, Fontaine de Vaucluse (Outlet), St Trinit, pertes et source de la Nesque et les écoulements du LSBB. 232

Figure 4.24 : Diagramme binaire des concentrations en Sr et Si (en ppb) des eaux des sources (Millet, Fontaine de Vaucluse, la Nesque, St Trinit), pertes de la Nesque, et des écoulements du LSBB. 235

Figure 4.25 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée pour les échantillons d'eau du LSBB prélevés de juin 2020 à octobre 2021 (écoulements A, AJ, B, C, D, W) à partir des variables suivantes : Ca⁺⁺ et SiO₂ issus de l'analyse des éléments majeurs et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse par ICP-MS. 236

Figure 4.26 : Coupe géologique projetée des galeries du LSBB faisant apparaître avec les failles, les potentielles barrières aux écoulements et les environnements géologiques. Les unités stratigraphiques U1, U2 et U3 correspondent aux trois niveaux de l'Urgonien décrit par Leenhardt (1883). 238

Figure 4.27 : Dendrogramme résultant du clustering hiérarchique avec calcul des distances Euclidiennes sur les échantillons de roches prélevés dans le secteur de Rustrel (LSBB et Buissonnière) et selon les 21 variables suivantes : Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U. 239

Figure 4.28 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée sur les échantillons de roches prélevés dans le secteur de Rustrel (LSBB et Buissonnière) à partir des variables suivantes : Ca et Si (en %) issus de l'analyse totale des échantillons par ICP-OES et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse uniquement de la fraction carbonatée par ICP-MS. Les groupes correspondent au clustering Figure 4.27. 240

Introduction

La forte hétérogénéité des systèmes karstiques est à l'origine d'une grande variabilité des chemins empruntés par l'eau depuis la surface jusqu'à l'exutoire (voir chapitre 1, partie I). La connaissance de ces chemins est indispensable pour la préservation quantitative et qualitative de la ressource en eau. Les éléments majeurs permettent d'avoir un aperçu des types de roches traversés par l'eau lorsque l'aquifère est constitué de lithologies de natures contrastées (e.g. carbonates et évaporites ; chapitre 1, partie II.1.1). Cependant, ils peinent à distinguer des eaux ayant circulé dans des roches d'un même type présentant toutefois des différences de composition (e.g. différents faciès de calcaires). En revanche, les éléments en trace pourraient le permettre à en juger par leur utilisation en tant que traceurs lithologiques et des processus géochimiques abordés au chapitre 1, partie II.1.2.

Le système karstique de Fontaine de Vaucluse est quasi exclusivement constitué de calcaires aux caractéristiques variables (voir chapitre 2, partie II) ; il constitue en cela un site particulièrement adéquat pour tester l'utilisation des éléments en trace comme traceurs naturels des lithologies calcaires traversées par l'eau. Cette hypothèse fait l'objet de ce chapitre, qui est en trois parties.

Un état de l'art concernant les principales origines des éléments en trace, les processus mis en jeu ainsi que les différents facteurs de contrôle de leurs concentrations est tout d'abord présenté. Cette première partie intègre également la présentation des méthodologies d'analyses des roches et de prélèvement des eaux développées pour obtenir un set de données adapté à la problématique.

Les résultats de l'étude menée sont ensuite discutés en se focalisant en premier lieu sur les signatures en éléments en trace des échantillons de roches, puis de celles de l'eau afin d'évaluer le transfert potentiel des signatures des roches aux eaux. Ce travail est mené dans différents contextes et à différentes échelles : système karstique de Fontaine de Vaucluse (échelle régionale, influence anthropique locale) et LSBB (échelle locale, absence de contamination anthropique).

Enfin, nous concluons sur le potentiel et les limites de l'utilisation des éléments en trace comme traceurs naturels des lithologies calcaires traversées par l'eau.

Partie A : Etat de l'art et méthodes

A.I Potentiel des éléments en trace comme traceurs de l'origine des eaux en milieu carbonaté

A.I.1 Origine des éléments en trace dans les eaux souterraines : processus et facteurs de contrôle des concentrations

A.I.1.1 Sources d'éléments en trace dissous

Dans les eaux souterraines, les éléments en trace peuvent être d'origine atmosphérique (naturelle ou poussières anthropiques), géogénique ou liée à des contaminations anthropiques plus directes (e.g. décharge, effluents urbains; Figure 4.1).

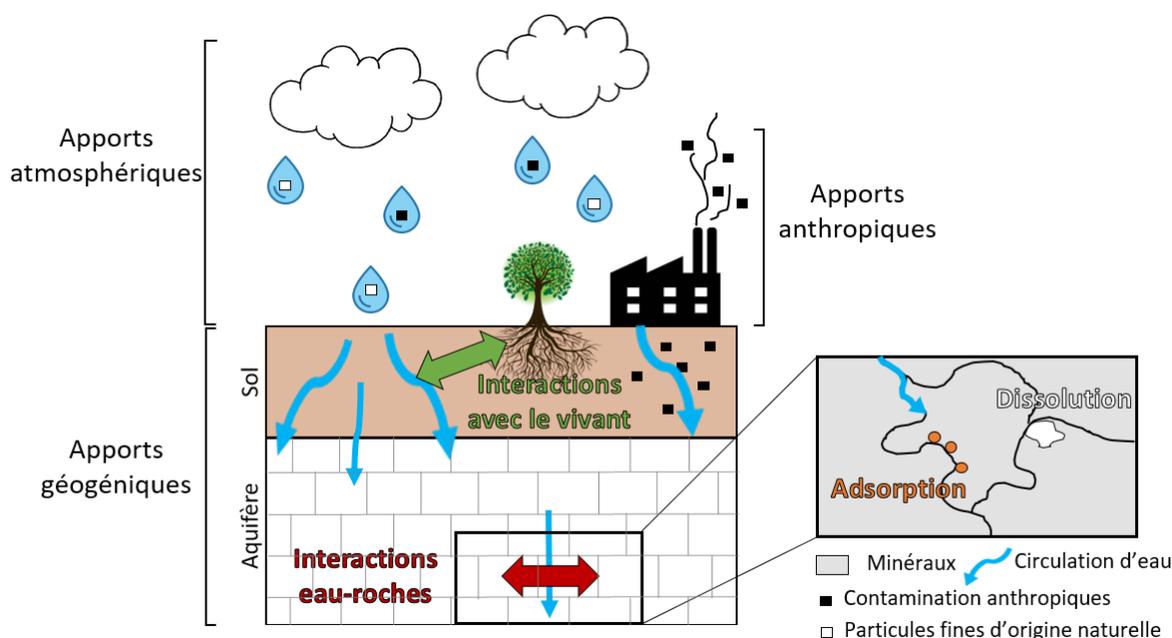


Figure 4.1 : Schéma récapitulatif des sources majeures d'éléments en trace dans les eaux souterraines (apports atmosphériques, anthropiques et géogéniques) et des interactions entre l'eau et l'environnement (sol/vivant, roches) ainsi que des processus liés aux interactions eau-roche.

L'origine primaire de toute eau souterraine est d'abord atmosphérique (Figure 4.1). L'eau de pluie résulte de l'agglomération de gouttes d'eau atmosphériques très faiblement minéralisées autour de particules fines d'origine naturelle (e.g. embrun marin) ou anthropique (e.g. particules fines issues de la combustion de carburants, des activités industrielles et minières). Les interactions eau-particules peuvent être à l'origine de concentrations importantes en certains éléments en trace, notamment dans les zones très industrialisées (e.g. Bai and Wang, 2014; Cereceda-Balic et al., 2020). Les apports atmosphériques peuvent ainsi avoir une

influence sur la qualité des eaux souterraines, particulièrement si leur capacité de filtration est faible (Edmunds et al., 2003).

Les éléments en trace des eaux souterraines peuvent également avoir une origine anthropique en lien avec les activités développées sur le bassin hydrogéologique : industries, décharges, agriculture (via l'usage de fertilisants et pesticides), ou encore rejets d'effluents (Bodrud-Doza et al., 2019; Brindha et al., 2020; Li et al., 2021; Raja et al., 2021; Figure 4.1).

Au cours de son infiltration depuis la surface jusqu'à l'aquifère, l'eau subit des modifications de chimie et de pH du fait de ses interactions avec le milieu (Edmunds et al., 2003; Shand et al., 2007; voir partie A.I.1.2). L'évolution du pH est particulièrement marquée à la traversée du sol, compartiment dont la pression partielle de CO₂ (pCO₂) est 10 à 100 fois supérieure à celle de l'atmosphère (Shand et al., 2007). Dans ce compartiment, la chimie de l'eau est par ailleurs susceptible d'évoluer au contact des organismes vivants (végétaux, micro organismes) qui prélèvent les éléments traces nécessaires à leur développement, et les restituent à leur mort.

Au sein des aquifères, les interactions eau-roche constituent la principale source d'éléments en trace par le biais des processus de dissolution et de précipitation. Ces processus sont susceptibles d'impacter à la fois la chimie des roches, la chimie de l'eau, mais également la porosité et la perméabilité du milieu, soit en les augmentant (e.g. dissolution de ciment carbonaté, karstification), soit en les diminuant (e.g. précipitation de carbonates ou d'oxydes au sein des réseaux de fissures et fractures; Shand et al., 2007). Les dissolutions et précipitations de certains minéraux sont réversibles dans la plupart des eaux souterraines (e.g. précipitation/dissolution des carbonates), mais d'autres le sont plus difficilement comme celles des silicates, dont le potentiel de dissolution est minimal au pH de la plupart des eaux naturelles, entre 6 et 8 (Shand et al., 2007). La solubilité est une caractéristique propre à chaque élément chimique. Par exemple, des expériences de digestion des roches ont montré que Li, Cs, Rb, Ba, Sr, Mo, Sb, Ge, W et U figurent parmi les éléments les plus solubles (rapport des concentrations dans les eaux sur celles des roches de l'ordre de 1/20), tandis que les éléments Al, Th, Zr et les lanthanides parmi les moins solubles (concentration eau/roche de 1/106 ou 1/107 ; Guo et al., 2005). Ces éléments sont susceptibles de se retrouver sous formes d'impuretés dans les minéraux, en quantités variables. Dans le cas des roches carbonatées, les éléments en trace peuvent s'incorporer de plusieurs manières, en fonction de la nature et des concentrations des éléments en solution au moment de la sédimentation (Veizer, 1983) : i) par substitution de Ca dans la structure CaCO₃ ; ii) par substitution interstitielle entre deux plans de la structure cristalline ; iii) par occupation des nœuds de la

maille vacants du fait d'un défaut de la structure ; ou encore vi) par adsorption. L'adsorption est un phénomène d'échanges ioniques entre éléments dissous et surfaces adsorbantes. Ce phénomène correspond à l'attachement d'un ion à une surface solide, soit l'inverse de la désorption qui consiste à un relargage ionique. Elle se produit généralement au contact de substances ayant une grande surface d'échange (minéraux argileux, oxydes de fer, Mn et Al, matière organique; Shand et al., 2007) et qui développent des groupements OH au contact de l'eau, les rendant capables d'adsorber de nombreux éléments en traces (Sigg et al., 2006). L'incorporation des éléments en trace au sein d'une structure cristalline dépend de la charge ionique de l'élément ainsi que de sa taille (Rollinson and Pease, 2021 ; Figure 4.2). Par exemple, le Sr qui est l'un des éléments fréquent retrouvé dans les minéraux carbonatés présente la même charge ionique que le calcium et une taille comparable (moins de 20pm de différence; Figure 4.2).

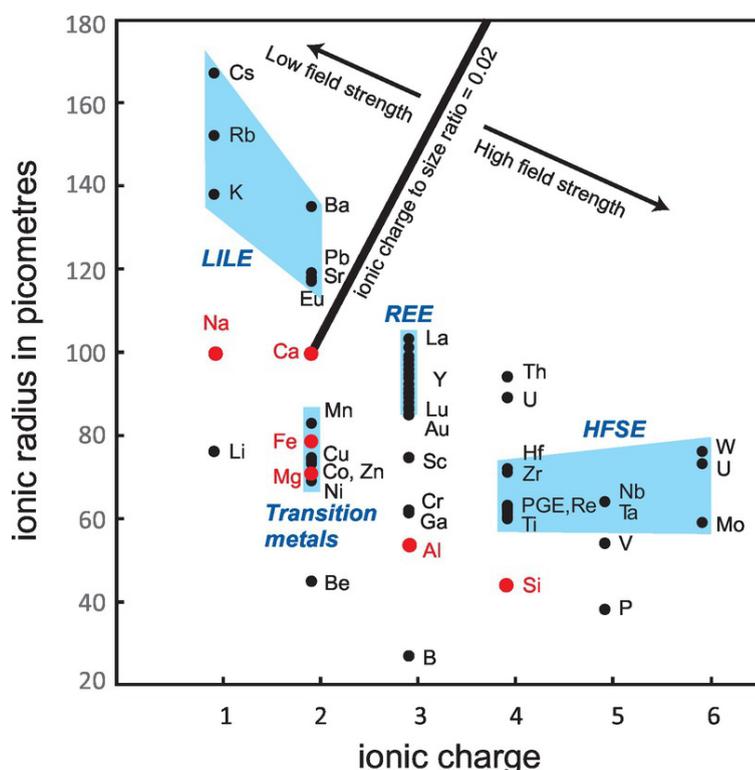


Figure 4.2 : Représentation graphique des rayons ioniques (mesurés en picomètres, 10^{-12} m) en fonction de la charge ionique pour la plupart des éléments en trace. Les éléments majeurs (en rouge) indiquent les endroits où les substitutions ioniques sont les plus susceptibles de se produire. Le potentiel ionique (rapport charge/taille) de 0,02 subdivise les éléments en éléments à faible champ (LFS) (également connus sous le nom d'éléments lithophiles correspondant aux éléments de grande taille, LILE) et en éléments à champ élevé (HFSE). Les rayons ioniques proviennent de Rollinson and Pease (2021; Shannon, 1976).

Ainsi, les sources d'éléments en trace influencent la chimie des eaux par le biais de 3 facteurs : la chimie des roches (susceptible de varier pour un même minéral en fonction de la

nature et du nombre d'impuretés), les propriétés des éléments considérés (solubilité, rayon et charge ionique) et celles des minéraux (solubilité), ainsi que la présence de substances adsorbantes (argiles, oxydes, matière organique).

A.I.1.2 Facteurs de contrôle des concentrations

Les processus de précipitation, dissolution, adsorption et désorption évoqués dans la partie précédente (partie A.I.1.1) varient dans l'espace et le temps en fonction des conditions du milieu (oxydantes ou réductrices, acides ou basiques) ainsi que du temps d'interaction eau-roche. Le temps d'interaction eau-roche est une notion essentielle. En effet, il peut être suffisamment long ou non pour permettre d'atteindre un équilibre entre précipitation et dissolution et entre adsorption et désorption. Les réactions acido-basiques liées au pH sont par exemple plus rapides que les réactions d'oxydo-réduction liées au potentiel d'oxydoréduction (Eh) dont l'équilibre est rarement atteint.

L'Eh mesure la quantité d'électrons susceptible d'être échangée. Les réactions d'oxydo-réduction peuvent affecter le regroupement des atomes en molécules en impactant les liaisons covalentes. Le pH (potentiel hydrogène) mesure la quantité de protons (H^+) liée à l'acidité du milieu et régissant les réactions acido-basiques. Ces réactions sont susceptibles d'influencer les liaisons hydrogènes liant les molécules les unes aux autres par transfert de protons. Eh et pH peuvent tous deux impacter la spéciation des éléments en trace c'est-à-dire la forme ionique majoritaire en agissant sur leur charge ionique en ajoutant/retirant un électron ou un proton. Cela affecte leur capacité d'adsorption et donc leur mobilité, avec un impact indirect sur la totalité des éléments qui s'adsorbent sur les oxydes (Abesser and Smedley, 2008; Shand et al., 2007). L'impact des conditions de pH et Eh sur la spéciation du fer est illustré en Figure 4.3. Sous conditions réductrices, le fer est principalement présent sous forme soluble Fe^{2+} . Sous conditions très acides et oxydantes, l'ion Fe^{3+} est dominant et si le pH est neutre à alcalin (pH de la plupart des eaux souterraines), le fer est présent sous forme insoluble $Fe(III)(OH)_3$, permettant l'adsorption des éléments en trace métalliques (Celle-Jeanton et al., 2009; Shand et al., 2007).

L'équilibre entre dissolution et précipitation dépend majoritairement du pH car il implique des réactions acido basiques (Sigg et al., 2006). Certaines phases minérales, comme la calcite et les oxydes ou hydroxydes, jouent un rôle important dans la régulation du pH des eaux naturelles (Sigg et al., 2006). Parmi les minéraux carbonatés, la calcite ($CaCO_3$) est la

forme minérale la plus stable en raison de la courte durée nécessaire à son équilibrage avec les conditions du milieu (Sigg et al., 2006).

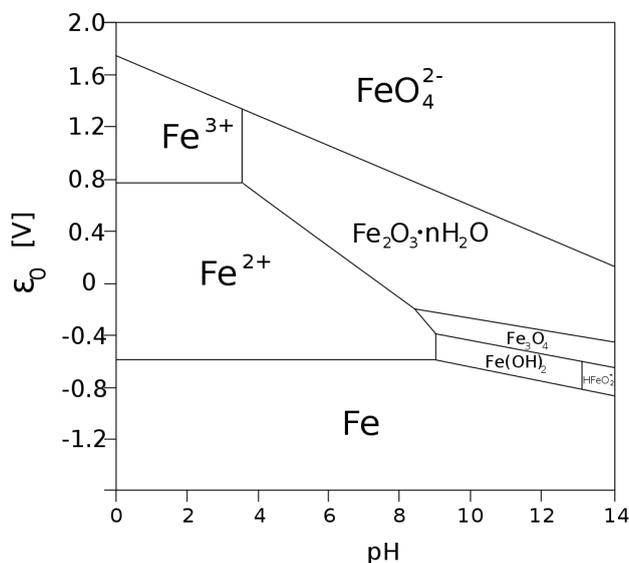
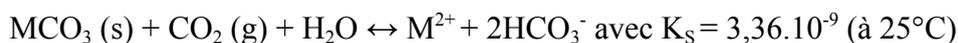


Figure 4.3 : Spéciation du fer en fonction des conditions du milieu : pH et potentiel d'oxydo-réduction noté ϵ_0 .

Sa mise en solution par l'eau a la particularité de tamponner le pH en limitant l'acidité et la basicité (Shand et al., 2007; Sigg et al., 2006). Le carbonate de calcium constituant la calcite (ou tout autre élément se substituant à Ca, désigné par M ci-après) réagit par précipitation ou dissolution avec le CO_2 gazeux issu de la respiration racinaire et de l'oxydation de la matière organique du sol, pour engendrer des ions bicarbonates :



Cette réaction affecte directement les concentrations en éléments en trace en permettant la mise en solution d'éléments incorporés dans la calcite. Elle a également une action indirecte sur la mobilité des éléments en trace (Shand et al., 2007) puisqu'elle agit sur le pH dont l'augmentation engendre en général un accroissement de l'adsorption des anions; et la diminution du pH engendre un accroissement des adsorptions des cations (Sigg et al., 2006).

Ainsi, de façon générale, les conditions du milieu vont impacter la capacité des éléments en trace à se lier entre eux et avec leur environnement (autres éléments dissous, roches), et donc leur concentration.

A.I.2 De la signature en éléments traces des roches à celle des eaux qui les traversent

La dissolution des roches est l'une des principales sources d'éléments en trace dans les eaux souterraines (voir partie A.I.1). La connaissance des éléments en trace contenus dans les

roches constitue un prérequis au développement d'un traceur naturel des lithologies traversées par l'eau.

- **Variabilité des éléments traces au sein de différents types d'aquifères**

Le marquage des eaux souterraines par la nature lithologique des roches aquifères est un résultat bien établi (chapitre 1, partie II.1). Il résulte de la variation des signatures en éléments en trace d'un type de roche à l'autre, notamment en raison des différents minéraux les constituants (Tableau 4.1). Par exemple, de fortes teneurs en terres rares, Fluor, Nickel, Silicium, et Thallium sont généralement associées aux roches magmatiques (Shand et al., 2007), qui contiennent principalement des minéraux de la famille des silicates (Schumann and Poirot, 2016). Dans des aquifères développés au sein de roches évaporitiques, un enrichissement en Sr, Li et Ba est fréquemment observé (Kilchmann et al., 2004; Potot et al., 2012; Rabiet, 2006). Une analyse des éléments en trace de 16 forages au Sud-est du Nigéria, réalisée dans le but de déterminer le fond géochimique des eaux souterraines locales en éléments en trace, illustre ainsi la variabilité des concentrations en éléments en trace d'eaux issues de trois types de roches : grès (roches sédimentaires), socle (roches magmatiques), schistes (roches métamorphiques ; Figure 4.4).

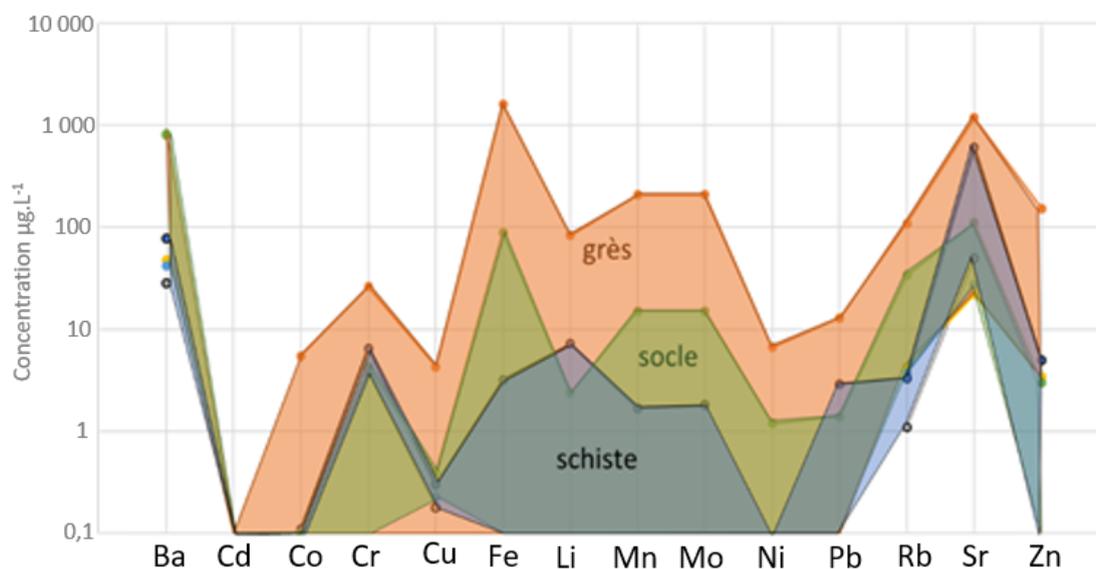


Figure 4.4 : Comparaison des gammes de valeurs de certains éléments en trace pour des eaux issues de grès, du socle et du schiste au sud-ouest du Nigéria, données d'après (Edet, 2014). Les grès ont la plus grande variabilité des éléments en trace car ils présentent localement des niveaux évaporitiques.

Pour les aquifères développés dans les roches sédimentaires, des signatures spécifiques sont plus difficilement généralisables en raison de la variabilité minérale et chimique de ce type de roches (Potot et al., 2012).

- **Variabilité des éléments traces au sein des roches carbonatées**

Les roches carbonatées sont majoritairement constituées de calcite. Ce minéral est particulier du fait de sa rapide précipitation susceptible de piéger des éléments en trace, notamment Zn, Cu, Co, Cd et Sr (Marini et al., 2001; Rimstidt et al., 1998). En effet, au sein d'un même type de roches, notamment des roches carbonatées, des variations peuvent également être observées (Figure 4.5; Dematteis, 1995).

Dematteis (1995) a caractérisé, grâce au procédé de lixiviation, les signatures en éléments traces de roches prélevées au niveau d'aquifères alpins et les a comparées à la signature en éléments en trace des eaux souterraines de ces aquifères. Ces résultats ont été utilisés par l'auteur de l'étude pour analyser la variabilité des éléments en trace des différents types de roches carbonatées. Dematteis (1995) met ainsi en évidence une spécificité de la signature en éléments en trace des échantillons de dolomies, calcaires, et marnes (Figure 4.5a). Les résultats suggèrent une tendance à l'enrichissement en Mn pour les marnes, en Fe pour les dolomies, par rapport aux autres lithologies carbonatées. Les environnements de dépôt d'une partie des échantillons de roches calcaires étant spécifiés par Dematteis (1995), nous avons utilisé ces données pour comparer les concentrations moyennes en éléments en trace des échantillons associées aux environnements de dépôt de type plateforme interne et plateforme externe (Figure 4.5b). Les résultats indiquent une différence de signature en éléments en trace entre les calcaires de plateforme interne et externe (Figure 4.5b), avec un enrichissement en Si, Sr, F, Fe et Zn pour les carbonates de plateforme interne.

Classe minéralogique	Roches			Minéraux	Al	Sb	As	Ba	Be	B	Cd	REE	Cs	Cr	Co	Cu	Ge	I	F	Fe	Pb	Li	Mn	Mo	Ni	Rb	Si	Sr	Tl	Se	Sn	W	U	V	Y	Zn	
	magm	métam	sed																																		
Sulfures et sulfosels	X	X	X	Pyrite		X	X									X			X				X	X					X					X			
	X	X	X	Arsénoopyrite			X											X		X				X	X										X		
Halogénures	X		X	Fluorite															X																		
			X	Halite						X								X					X				X										
Oxydes et hydroxydes	X	X	X	Quartz		X	X			X									X			X	X	X		X			X	X	X	X	X	X	X	X	X
	X		X	Uranite		X	X			X										X			X	X	X		X			X	X	X	X	X	X	X	X
Nitrates et carbonates			X	Aragonite																																	
			X	Calcite				X												X			X				X										X
			X	Dolomite				X													X			X			X										
			X	Sidérite																	X							X									
Sulfates, Chromates, Molybdate, Tungstate			X	Barytine				X			X			X		X				X	X		X	X			X		X		X		X				
			X	Gypse						X	X				X		X				X	X	X		X			X		X		X		X			
Phosphates, aréniates, vanadates	X	X	X	Apatite			X				X								X	X														X		X	
	X	X	X	Monazite			X				X																									X	
Silicates	X	X		Allanite							X																									X	
	X	X		Feldspaths	X			X					X								X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	X	X	X	Micas	X			X		X	X	X			X					X	X	X				X		X		X	X	X					X
	X			Hornblende																X																	
	X			Olivine											X	X					X					X	X										
	X			Topaze																X					X												
				Tourmaline				X		X							X							X													
	X			Zircon								X																						X		X	
	X	X		Pyroxène											X	X					X					X	X										
	X	X		Amphibole											X						X	X				X	X										
	X			Augite																																	
	X	X	Argiles		X	X			X				X	X								X		X	X		X				X	X	X	X	X	X	
Pegmatites	X	X																				X															
Minerais							X			X	X				X	X				X	X				X				X	X	X	X	X	X	X	X	

Tableau 4.1 : Récapitulatif des origines minéralogiques des éléments en trace d'après Edmunds et al. (2002), Schumann and Poirot (2016) et Shand et al. (2007); avec : classification minéralogique, type de roche (magmatique, métamorphique, sédimentaire) et noms des minéraux. La présence des éléments en trace dans un minéral est signifiée par une croix (X) dans la case correspondance, et la présence d'un minéral dans une classe minéralogique est montrée par une croix occupant tout l'espace entre deux lignes plus épaisses (ex : pour Ba, une croix sur aragonite, calcite, dolomite, sidérite, signifiant que cet élément est généralement présent dans des carbonates). La présence d'une croix dans la case de la halite et de celle du gypse pour un même élément signifie un lien avec les évaporites (ex. Li).

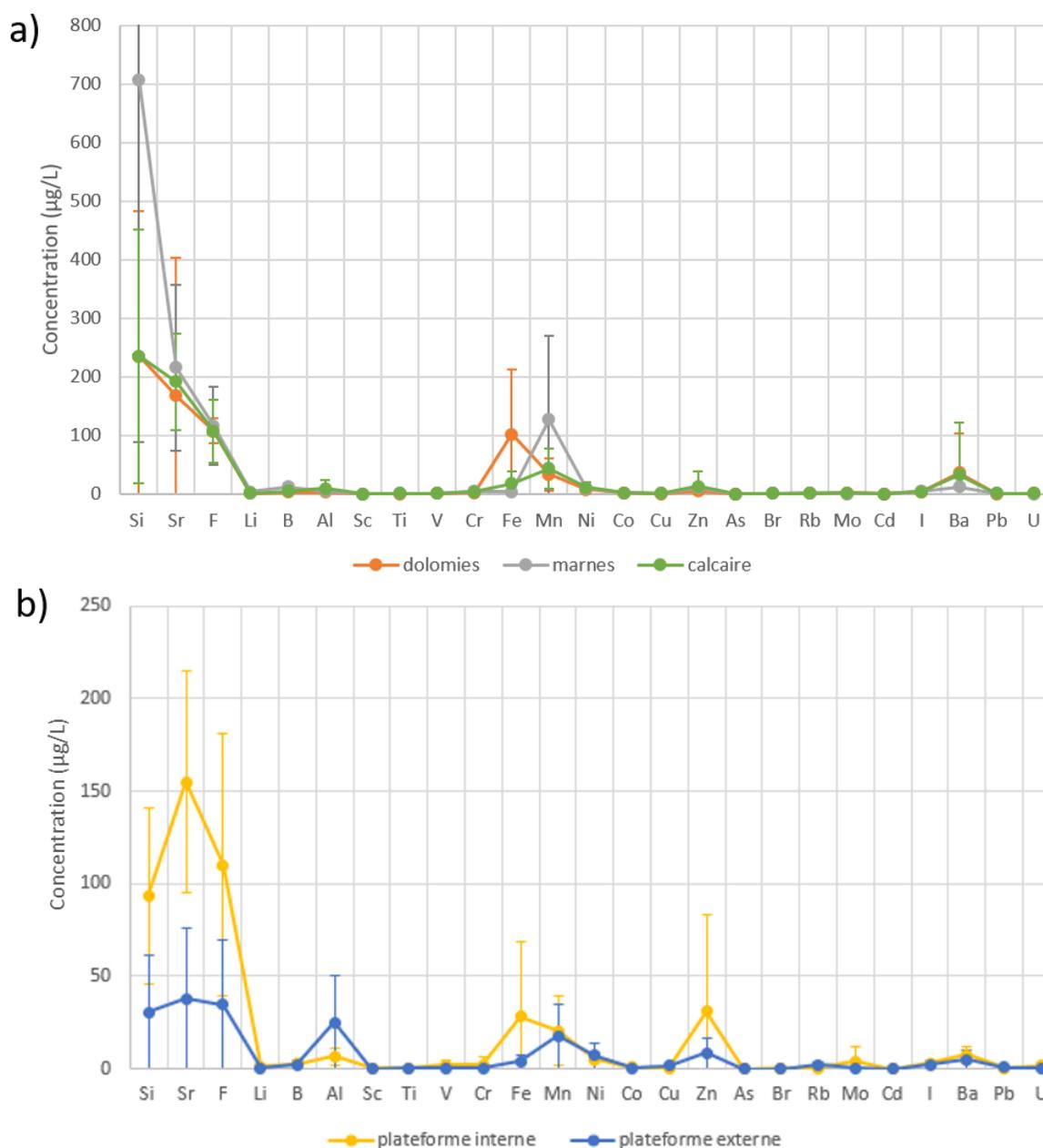


Figure 4.5 : Variabilité des éléments en trace au sein des roches carbonatées, d'après le jeu de données de (Dematteis, 1995).

a) Concentrations moyennes en éléments en trace pour différents types de roches : dolomitique (4 échantillons), marneuse (3 échantillons), calcaire (34 échantillons);

b) Concentrations moyennes en éléments en trace des échantillons de roches calcaires pour lesquelles l'environnement de dépôt a été identifié : 4 échantillons de calcaires de plateforme interne, 3 de plateforme externe. Figure réalisée à partir des données de Dematteis (1995).

D'autres études plus récentes ont mis en évidence un lien entre la concentration en éléments en trace et certains processus de la diagenèse : recristallisation et cimentation (Delpomdor et al., 2013; Gholami Zadeh et al., 2019; Hood et al., 2018; Li et al., 2020). Ces

études illustrent la théorie communément admise qu'au cours de la diagenèse, l'origine des fluides de recristallisation (marins ou météoriques) influence l'enrichissement ou l'appauvrissement en certains éléments en trace (Veizer, 1983; Figure 4.6).

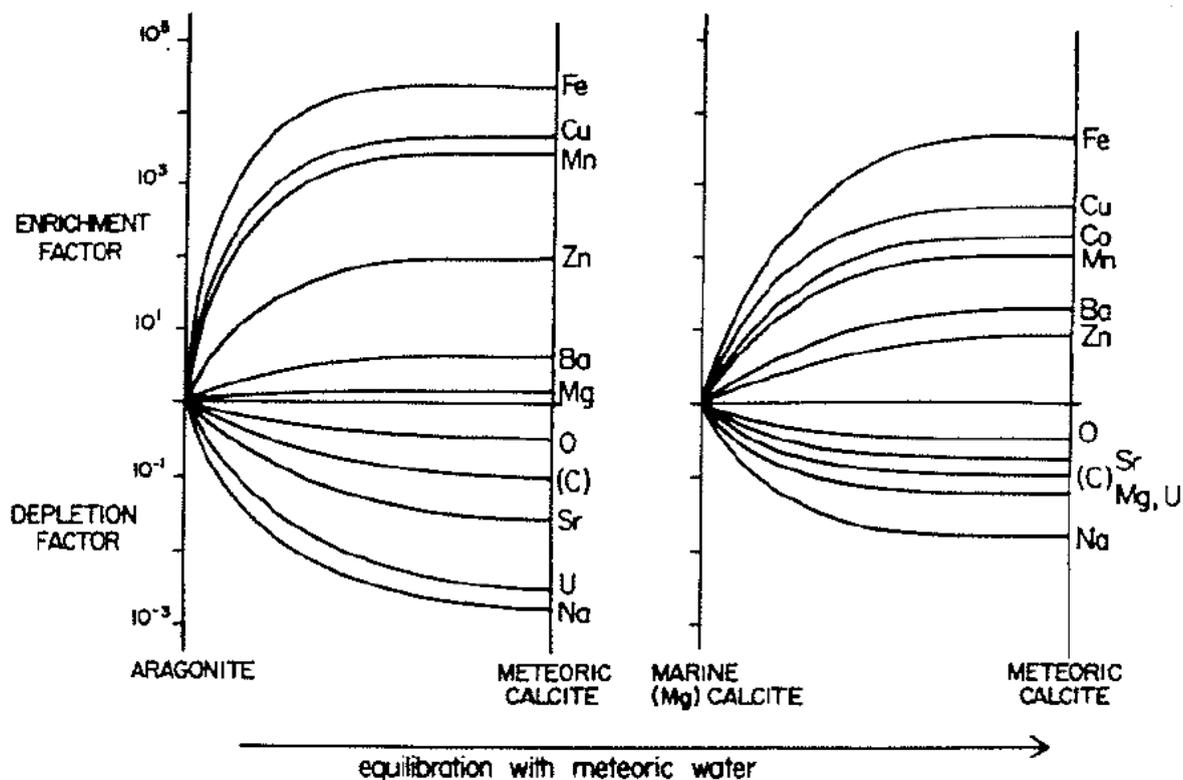


Figure 4.6 : Facteurs d'enrichissement et d'appauvrissement en éléments en trace au cours de la diagenèse (Veizer, 1983).

La fissuration est également susceptible, à petite échelle, d'influencer les concentrations en éléments en trace comme l'a démontré une étude de Schürch et al. (2004). En effet, les carbonates subissent des cycles successifs de dissolution et précipitation de minéraux carbonatés, excluant cycles après cycles les impuretés de la matrice carbonatée. Les éléments relargués par les réactions incongruantes se produisant au sein de la matrice (milieu faible en oxygène, réducteur), diffusent progressivement par les fissures. Leur rencontre avec une eau plus riche en oxygène (conditions oxydantes et pH proche de 8), par exemple à la surface des fissures, permet la co-précipitation des éléments en trace et des oxydes/hydroxydes de fer et manganèse (Schürch et al., 2004). A force de précipitations successives, on peut ainsi observer au niveau des fissures une re-concentration en éléments en trace (Schürch et al., 2004). Certains éléments en trace métalliques co-précipitent avec des oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse à la surface des fissures et peuvent être remobilisés lors de variations de conditions redox (Schürch et al., 2004).

Une variabilité des concentrations en éléments en trace est donc observable dans les roches à toutes les échelles. Pour les roches calcaires, cette variabilité est en lien avec le paléoenvironnement de dépôt ainsi que des modifications post-dépôts (e.g. diagenèse, recristallisation, dissolution incongruentes).

- **Variabilité des éléments en trace au sein des eaux d'aquifères carbonatés**

La variabilité des concentrations en éléments traces des eaux issues d'aquifères carbonatés peut être illustrée par les travaux de Dematteis (1995; Tableau 4.2). Elle est de plusieurs ordres de grandeur pour les différents éléments analysés, et maximale pour le baryum, le fluor et le fer. En l'absence de contamination anthropique, cette variabilité est susceptible d'être liée à la variabilité de composition des carbonates détaillés en A.I.2.1. Les interactions eau-roche gouvernent le transfert de la signature en éléments en trace des eaux à celle des roches (voir partie A.I.1) et ainsi la transmission de la signature des roches à l'eau est dépendante des propriétés des éléments en traces considérés. La mobilité des éléments est l'un des facteurs de ces interactions. Ce paramètre dépend de la solubilité et du potentiel d'adsorption (voir partie A.I.1.2). Le baryum figure ainsi parmi les éléments les plus mobiles, à l'inverse du fer et du manganèse qui s'adsorbent souvent en formant des oxydes (voir Tableau 4.2). Ainsi par exemple, à concentration égale dans une roche et tous paramètres égaux par ailleurs, on attendra donc dans l'eau en contact avec cette roche une concentration en baryum plus élevée que celle en fer et en manganèse.

Elément	Concentration dans les eaux souterraines des aquifères carbonatés (µg/L)			Particularités
	min	max	médiane	
Baryum	0	220,5	10,5	Mobilité du Ba très élevée si teneurs en sulfate inférieures à 100mg/L (sinon précipite en barytine)
Halogénures	Iode	1	82,4	Bonne mobilité car faible adsorption sur les parois de l'aquifères qui sont souvent chargées négativement
	Brome	0	95,6	
	Fluor	0 mg/L	500 mg/L	
Lithium	0	6,3	0,3	Concentration plus importante en présence de sulfates
Bore	0	55,9	7,7	Concentration élevée dans les évaporites
Titane	0	2,7	0,2	
Chrome	0	2,8	0,3	
Vanadium	0	1,4	0,4	
Manganèse	0	36,9	0,8	Adsorption de Mn et Fe sur la surface des particules carbonatées, et fragments calcaires qui servent de nucleus à l'accrétion d'hydroxydes de Mn et Fe
Fer	0	4000	1,2	
Aluminium	0	137	2,8	Interprétation complexe car liée à la turbidité de l'eau. (Valeurs élevées >30µg/L pour dolomites)
Nickel	0	5,8	0,4	Tendance à précipiter sous forme de carbonate en milieu faiblement basique. Forte concentrations sont origine atmosphérique (> 1 µg/L)
Cuivre	0	50,8	0,28	Fortes concentrations en présence de colloïdes (minéraux ou organiques)
Zinc	0	86,6	0,86	
Cobalt	0	0,5	0	Très peu de dans les eaux souterraines car coprécipite avec les oxydes de Fe et Mn
Plomb	0	6	0,3	Peut être transporté sous forme colloïdale, interprétation difficile de sa concentration
Uranium	0	3,1	0,3	Marqueurs des eaux des aquifères dolomitiques
Molybdène	0	10,7	0,3	
Rubidium	0	7,45	0,6	Plus de Rb dans les eaux des roches à forte composante pélitique
Arsenic	0	1,4	0,2	Mauvais traceurs, concentrations trop faibles
Scandium	0	1,3	0,1	
Cadmium	Cd < LD			
Strontium	0,010 mg/L	2,400 mg/L	0,160 mg/L	typique des eaux d'aquifères évaporitiques ou calcaires

Tableau 4.2 : Concentrations et particularités des éléments en trace dans les aquifères carbonatés réalisés à partir de 112 échantillons d'eaux issues d'aquifères carbonatés des chaînes alpines d'Europe centrale et méridionale (d'après Dematteis, 1995).

A.I.3 Bilan préliminaire sur la potentialité des éléments en trace comme traceurs de l'origine des eaux en milieux carbonatés

Dans les eaux souterraines, les éléments en trace peuvent provenir d'apports atmosphériques, anthropiques ou géogéniques. En l'absence de contamination anthropique, les interactions eau-roches par le biais de la dissolution sont la principale source d'éléments en trace dans les eaux souterraines. L'importance de ces interactions est particulièrement marquée dans les aquifères carbonatés du fait de la forte solubilité des carbonates. Différents processus contrôlent les concentrations en éléments traces : dissolution, précipitation et adsorption, désorption. Ces processus varient en fonction des conditions du milieu (Eh, pH) et affectent de façon différenciée les éléments en trace considérés en influant notamment sur leur mobilité.

Au sein des roches carbonatées, une variation des teneurs en éléments en trace est observée à toutes les échelles en raison de la variabilité des conditions paléoenvironnementales de dépôt, ainsi que des modifications post-dépôt. La variabilité des teneurs en éléments en trace contenus dans les eaux karstiques pourrait ainsi être liée pour partie à la variabilité des teneurs en éléments en trace dans les roches. Dit autrement, les éléments en trace sont susceptibles d'être des traceurs naturels des lithologies carbonatées.

Afin d'évaluer ce potentiel, nous avons constitué un set de données sur le site karstique de Fontaine de Vaucluse, à différentes échelles spatiales : l'échelle régionale (sources et exutoires du système) et l'échelle locale (écoulements du LSBB). La partie A.II présente ainsi les méthodes de prélèvements et d'analyses des données utilisées ou développées. La partie B propose une première caractérisation de la variabilité des concentrations en éléments en trace dans les eaux et dans les faciès lithologiques du système de Fontaine de Vaucluse, puis étudie leur potentiel pour tracer les chemins d'écoulement de l'eau.

A.II Développement de méthodes d'analyse des éléments en trace en milieu carbonaté (roches et eaux)

Des développements méthodologiques ont été nécessaires à la réalisation des analyses entreprises dans le cadre de cette thèse. La partie A.II.1 présente les motivations et étapes de développement et validation d'une méthode d'analyse des éléments en trace dans les roches adaptée à la problématique traitée. La partie A.II.2 présente la démarche ayant abouti au protocole de prélèvement des échantillons d'eau dans le cadre particulier du LSBB. Enfin, la partie A.II.3 présente l'élaboration du set de données final en sélectionnant notamment les éléments en trace.

A.II.1 Analyse d'échantillons de roches carbonatées

A.II.1.1 Méthodologie générale

La méthodologie permettant l'analyse des majeurs et traces d'un échantillon rocheux est schématisée en Figure 4.7 Les échantillons de roches sont réduits en une fine poudre par concassage au marteau puis broyage (Figure 4.7). Une partie de la poudre est réservée à l'analyse des majeurs par ICP-OES. La préparation consiste en une fusion alcaline et l'analyse porte sur la totalité du produit de fusion. Les étapes de fusion et analyse sont intégralement réalisées par la plateforme AETE ISO (OSU OREME). Cette analyse fournit les proportions relatives en : Na_2O , MgO , Al_2O_3 , SiO_2 , K_2O , CaO , TiO_2 , MnO , Fe_2O_3 et P_2O_5 (Figure 4.7).

L'autre partie de la poudre est réservée à l'analyse des éléments traces. Cette analyse a été réalisée par ICP-MS (plateforme AETE ISO) conformément à la majorité des travaux précédents ayant utilisé des méthodes spectrométriques pour analyser les éléments en traces dans les carbonates (Delpomdor et al., 2013; Gholami Zadeh et al., 2019; Hood et al., 2018; Li et al., 2020) plutôt que la lixiviation des roches utilisée par Dematteis (1995). La préparation des échantillons pour ce type d'analyse nécessite l'élaboration d'un protocole distinct adapté au type de roche analysé. Il fait l'objet de la section A.II.1.2.

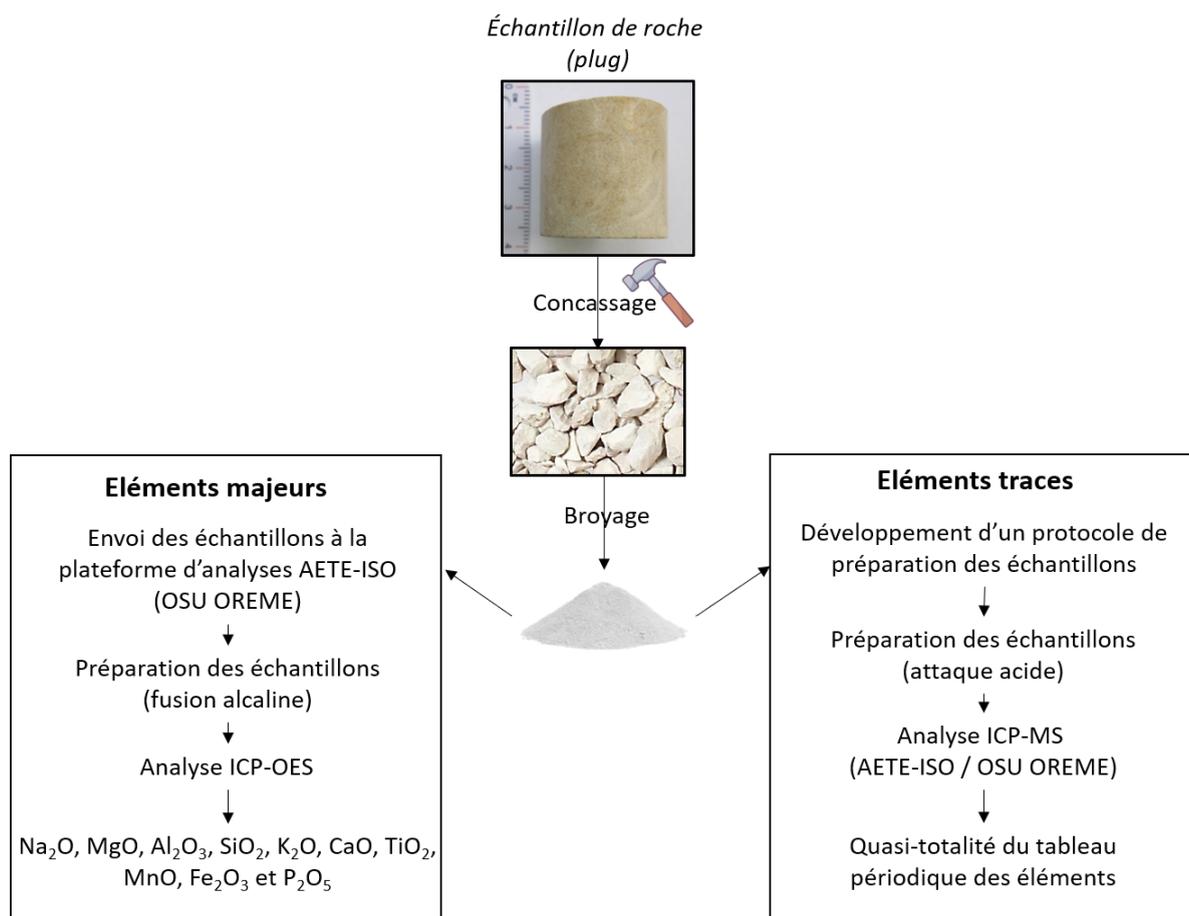


Figure 4.7 : Schéma explicatif de la méthodologie suivie depuis la préparation de l'échantillon de roche aux résultats d'analyses obtenus.

A.II.1.2 Attaque acide des échantillons de roches carbonatés

- **Adaptation à la problématique**

L'objectif de l'analyse des éléments en trace des roches est d'identifier la signature susceptible d'être transférée par dissolution aux eaux. Les interactions eau roches dépendent cependant de plusieurs paramètres, dont certains sont spécifiques des éléments considérés. Par exemple la solubilité des minéraux silicatés tels que le quartz est très faible par rapport à celle de la calcite (à 25°C et 1 bar, le K_s du quartz est 10^{-34} et celui de la calcite de $10^{-8,4}$; Seidell, 1958). L'ensemble des échantillons prélevés appartient à des roches carbonatées, constituées majoritairement de carbonates (e.g. calcite, dolomite) mais contenant également une fraction silicatée (tous les minéraux contenant SiO_2 e.g. argiles, feldspaths, pyroxène). Les temps de séjour moyens des eaux du système de Fontaine de Vaucluse excédant rarement 1 à 2 ans (Barbel-Périneau, 2013; Blondel, 2008; Garry, 2007), on peut considérer que la fraction silicatée des roches traversées par les écoulements est peu susceptible d'être mise en solution. Tandis que la fraction carbonatée, ou matrice carbonatée, influencerait

majoritairement les eaux du système. De plus, les analyses par ICP-OES indiquent que la proportion de CaO des échantillons analysés est en moyenne bien supérieure à 50 % alors que celle en SiO₂ est beaucoup plus faible (proche de 0 %, Figure 4.8).

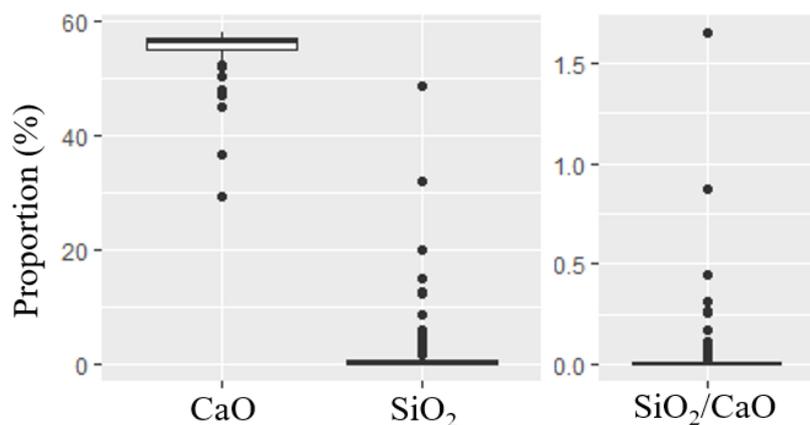


Figure 4.8 : Concentrations en CaO et SiO₂ mesurées par ICP-OES et ratio SiO₂/CaO pour les 107 échantillons de roches considérés.

Ainsi, les éléments ci-dessus indiquent qu'une analyse partielle de l'échantillon, visant uniquement la fraction carbonatée, pourrait fournir un profil de signature en éléments traces plus adapté à la problématique que la signature en éléments trace de la totalité de la roche.

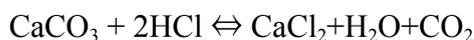
- **Utilisation de l'acide chlorhydrique : quantité et molarité**

L'acide chlorhydrique HCl est communément admis comme l'acide permettant la dissolution des carbonates en laboratoire. Cependant, son utilisation peut induire une mise en solution d'une partie des éléments faiblement liés à la fraction silicatée (e.g. éléments adsorbés sur des minéraux argileux). C'est par exemple le cas de la bentonite, dissoute à partir d'une molarité d'HCl de 0,25 M (Bendou and Amrani, 2014). Une étude s'intéressant aux isotopes du lithium a mis en évidence une contamination liée à la fraction silicatée pour des molarités d'HCl supérieures à 0,18 mol.L⁻¹ (Bastian et al., 2018). Pour des échantillons de roches ayant un rapport silicates/carbonates supérieur à 2, la contamination par les silicates ne peut être évitée même à des molarités très inférieures à 0,1 mol.L⁻¹. Le ratio SiO₂/CaO de nos échantillons est toujours bien inférieur à 1 (Figure 4.8), excepté pour un seul échantillon (provenant de la galerie MIGA du LSBB, EX72.60). Ainsi, en utilisant une molarité inférieure à 0.18 mol.L⁻¹, il semble envisageable de dissoudre la fraction carbonatée des échantillons rocheux du système Fontaine de Vaucluse avec une contamination par les silicates pouvant être considérée comme négligeable.

La quantité d'HCl nécessaire pour dissoudre la totalité de la fraction silicatée peut être estimée à partir des teneurs relatives en CaO établie par ICP-OES. La proportion maximale de CaO obtenue par cette analyse est de 58 % (échantillon Jp). La proportion de calcium correspondante est donnée par l'équation de conservation de la masse :

$$[Ca] = \frac{[CaO] \times M_{Ca}}{M_{Ca} + M_O}$$

où M_{Ca} est la masse molaire de Ca (40 g.mol^{-1}) et M_O la masse molaire de l'oxygène (16 g.mol^{-1}). Elle est de 41,5 % de calcium pour l'échantillon Jp. La quantité d'échantillon nécessaire à l'analyse ICP-MS est de 50 mg. L'estimation ci-dessus permet d'établir à au maximum 20,75 mg, soit $5,2 \cdot 10^{-4}$ moles, la quantité de calcium à dissoudre. La stœchiométrie de l'équation de dissolution des carbonates par l'HCl :



indique que pour dissoudre une mole de Ca, il faut deux moles d'HCl. Ainsi, la dissolution de la fraction carbonatée de nos échantillons par HCl mobilisera au maximum $5,2 \cdot 10^{-4}$ moles $\times 2 = 10,4 \cdot 10^{-4}$ moles d'HCl soit 10,4 mL d'une solution d'HCl 0.1 M, ou 6,9 mL d'une solution d'HCl 0.15M.

Les contraintes à prendre en compte pour finaliser les volumes et molarités d'HCl retenus pour l'attaque acide sont les suivantes :

- Utilisation d'une molarité inférieure à 0.18M afin d'éviter une contamination par dissolution de la fraction silicatée (Bastian et al., 2018);
- Travailler en excès, c'est-à-dire ajouter plus d'acide que le résultat obtenu par le calcul;
- Tenir compte du temps nécessaire à l'évaporation de l'HCl non consommé avant l'analyse ICP-MS (protocole annexe 4.2). A quantité d'acide égale, un volume de solution (eau et acide) plus important permet de réduire la molarité de l'acide mais engendre un temps d'évaporation plus long.

Au vu de ces éléments il a été décidé de retenir pour l'attaque acide un volume de 10 mL d'HCl à 0.15 M.

A.II.1.3 Validation de la méthode d'analyse des échantillons de roches

- **Objectifs et échantillons retenus pour la validation**

A partir du volume d'HCl et de la molarité (0.15M) nécessaire à la dissolution de la fraction carbonatée de nos échantillons défini en partie A.II.2, un protocole d'analyse a été développé (annexe 4.2). A la suite de plusieurs heures sur table d'agitation afin de favoriser la

dissolution de la poudre de roche, ce protocole comprend une étape de centrifugation. Cette étape a pour objectif de permettre l'observation des éventuels grains non dissous par l'HCl afin de vérifier qu'il ne s'agisse pas de grains carbonatés. Elle ne sera pas reconduite dans le protocole d'analyse final (annexe 4.5). Chaque échantillon est ensuite filtré afin d'éliminer les particules non dissoutes, puis l'HCl est évaporé. Les résidus de l'évaporation sont finalement remis en solution grâce à l'acide nitrique HNO₃, puis diluer pour permettre l'analyse par ICP-MS.

Ce protocole a été appliqué à 3 réplicats d'un standard de calcaire argileux (NIST-1d : [Ca] = 37.8%, [SiO₂] = 4.1%) ainsi que sur deux échantillons issus de notre jeu de données et présentant des proportions de carbonates extrêmes (caractéristiques disponibles en annexe 4.1) :

- Jp : [Ca] = 41.5 %, [CaO] = 58,01 %, [SiO₂] = 0,02 %, échantillon ayant la proportion de carbonates la plus forte;
- BR62T : [Ca] = 33.6 %, [CaO] = 47,02 %, [SiO₂] = 12,47 %, cet échantillon faisant partie des échantillons aux plus faibles proportions de carbonates*;

Afin de vérifier :

- la réplicabilité du protocole,
- que la quantité d'HCl utilisée est suffisante pour dissoudre la totalité de la matrice carbonatée,
- que la fraction silicatée ne contamine pas les échantillons par dissolution.

**4 autres échantillons présentent des teneurs plus faibles encore ; il n'ont pas été utilisés car collectés après cette phase de test (EX 72.60 : 48,66 % ; SN1 : 32,05 % ; Mi2 : 20,06 % ; Mi1 : 14,97 % ; BR74 : 12,58 % ; voir annexe 4.3). Cela n'a pas d'incidence sur les résultats finaux étant donné que chaque analyse a été consciencieusement validée (description dans les étapes suivantes).*

- **Sélection des éléments pour la validation de la méthode**

Les résultats de l'ICP-MS montrent que certains éléments se retrouvent en proportions trop faibles pour être détectés (inférieurs à la limite de détection LD), ou bien trop peu concentrés pour être quantifiés (inférieurs à la limite de quantification LQ) : S, Mo, Ag, Sn, Sb, Tl. D'autres éléments ont pu être détectés et quantifiés pour uniquement un échantillon parmi les 5 analysés : Se, Cs. Des valeurs de RSD (relative standard deviation) comprises entre 10 et 20% de l'élément Th pour l'ensemble des échantillons justifient son exclusion de la suite du traitement de données, tout comme celle des 8 autres éléments cités précédemment (S, Mo, Ag, Sn, Sb, Tl, Se, Cs).

A la suite de cette première phase de sélection des éléments, l'ensemble des éléments chimiques des blancs ont des concentrations inférieures aux limites de détection ou de quantification exceptés le sodium et le nickel. Pour ces deux éléments, le blanc a une valeur qui correspond à moins de 5% des concentrations des échantillons à l'exception de l'échantillon Jp où le blanc représente jusqu'à 17,6% du Ni des échantillons. Cela peut s'expliquer par la faible concentration en Ni de cet échantillon, de l'ordre de 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (résultats bruts en annexe 4.3).

- Vérification de la réplicabilité de la méthode

L'écart entre les résultats des analyses des triplicats du matériau de référence certifié NIST-1d est représenté en Figure 4.9 (valeurs brutes en annexe 4.3). La majorité des éléments présente une faible variation ($< 5\%$), y compris les terres rares, témoignant d'une bonne réplicabilité de la méthode. Néanmoins, deux éléments font figure d'exception : le titane et le lithium. La variabilité associée aux teneurs en titane pourrait s'expliquer par les très faibles concentrations mesurées, de moins de 1,5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en moyenne (valeur de référence, annexe 4.4). La variabilité associée aux teneurs en lithium s'exprime a contrario dans un contexte où les concentrations mesurées sont bien supérieures aux limites de détection et de quantification. Elle pourrait être liée au fait que la valeur de cet élément n'est pas certifiée. En effet, une valeur n'est certifiée que si un grand nombre d'analyses est capable de conduire à des concentrations proches.

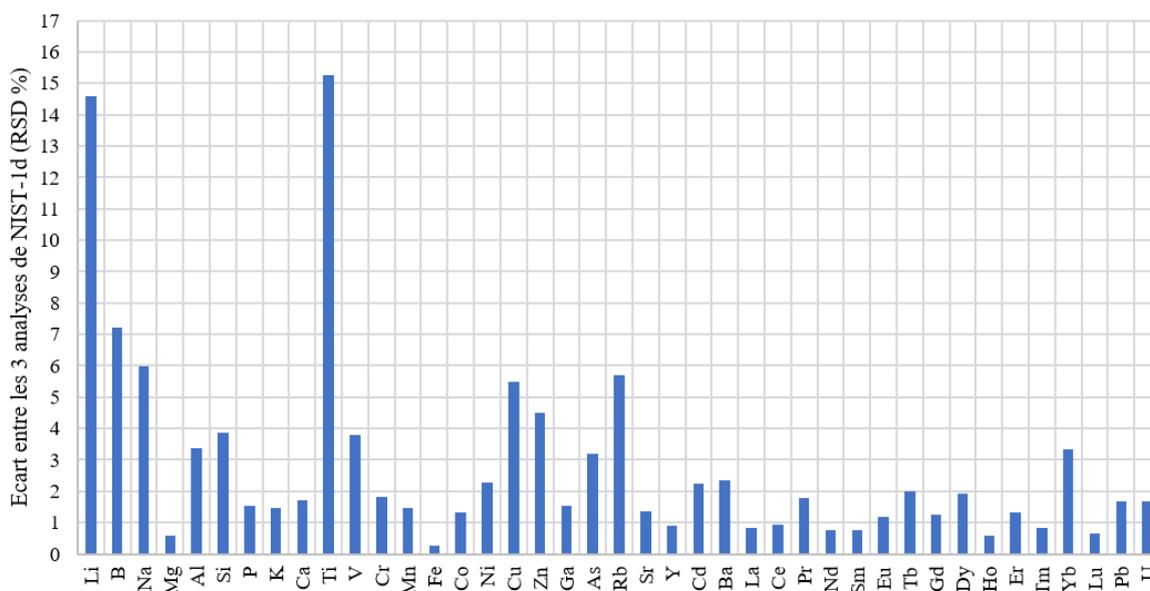


Figure 4.9 : Représentation des écarts moyens entre les 3 analyses du standard NIST-1d (calcaire argileux).

La Figure 4.10 représente l'écart entre la moyenne des triplicats de NIST-1d et les valeurs certifiées. Les résultats montrent qu'en moyenne 103 % de la valeur certifiée du calcium a pu être retrouvée par le protocole à l'HCl 0.15 M, indiquant que les carbonates ont bien été dissous et que les résultats de l'analyse des triplicats correspondent bien à la valeur certifiée. Cependant, en raison de l'attaque acide uniquement sur la fraction carbonatée, les valeurs mesurées de Si et Ti sont bien inférieures aux valeurs certifiées (moins de 3%). Cela signifie que la fraction silicatée n'a pas, ou très peu, été mobilisée par le protocole suivi.

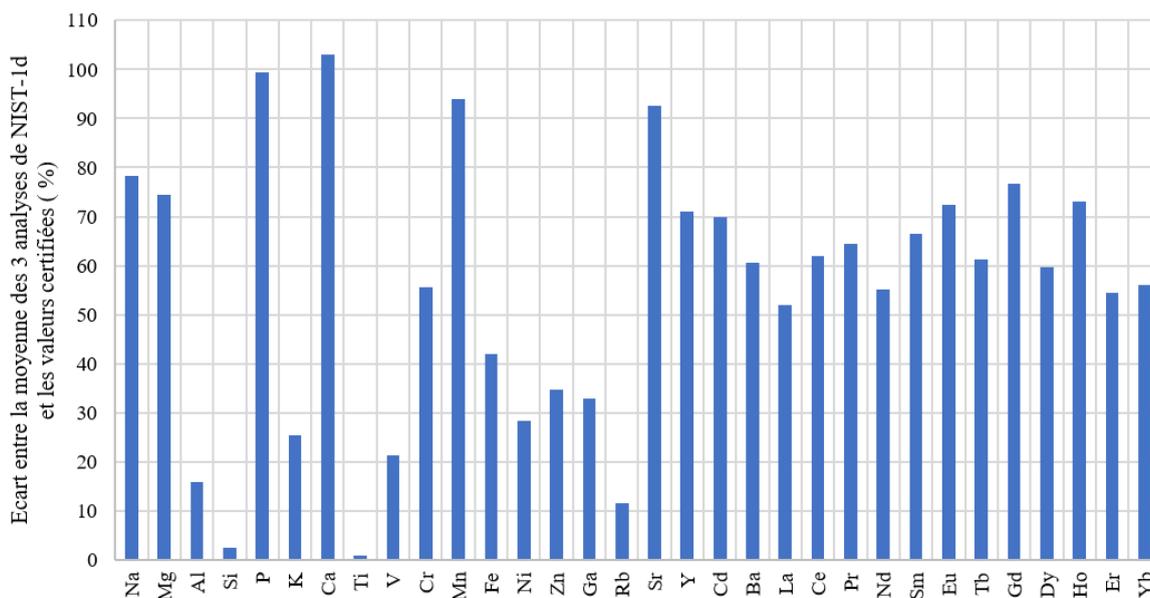


Figure 4.10 : Représentation de l'écart entre la moyenne des triplicats de NIST-1d et les valeurs certifiées.

- **Vérification de la dissolution totale de la fraction carbonatée et de la préservation de la fraction silicatée**

Afin de vérifier que la fraction carbonatée a bien été dissoute totalement, tout en préservant la fraction silicatée, les résultats de l'analyse à l'HCl 0.15M sont comparés aux résultats d'une attaque totale (cas des échantillons Jp et BR62T) ou des valeurs certifiées (cas du CRM NIST-1d; Figure 4.11). L'utilisation des concentrations en éléments majeurs issues des analyses ICP-MS a nécessité une forte dilution (x40 par rapport à l'utilisation des traces) compte-tenu de la gamme des concentrations pour cet appareil.

Les résultats montrent qu'une part variant entre 101 et 103% du calcium présent en analyse totale a pu être retrouvée par la méthode à l'HCl 0.15M. Il semblerait ainsi que la totalité de la fraction carbonatée ait bien été dissoute. A l'inverse, moins de 2,5% du silicium a été retrouvé, ainsi que relativement peu d'aluminium (< 15,8 %), indiquant une très faible voire négligeable mise en solution des silicates. Cette mise en solution des silicates semble

cependant plus importante pour le CRM NIST-1d que pour les deux autres échantillons, peut-être du fait de sa nature (calcaire argileux).

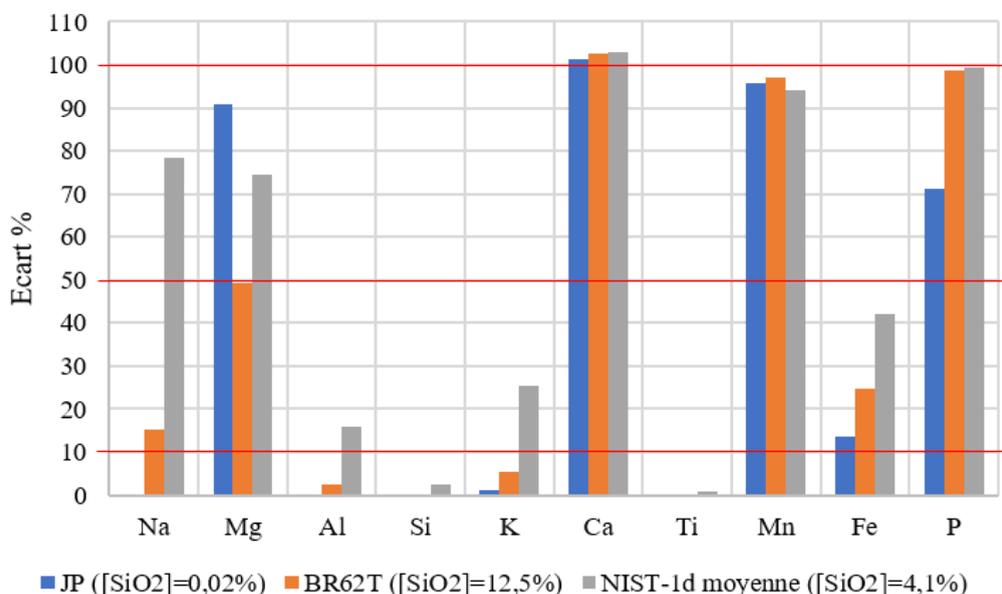


Figure 4.11 : Proportion (%) d'éléments présents en analyse totale retrouvés par la méthode à l'HCl 0.15M par rapport aux analyses totales (obtenues par ICP-OES pour BR62T et Jp; valeur certifiée pour CRM NIST-1d, matériau de référence certifié de calcaire argileux). Fraction de SiO₂ de chacun des échantillons de roche indiquée en % dans la légende.

Hors processus de validation de la méthode de l'attaque acide partielle, la dissolution de la totalité de la fraction carbonatée a été vérifiée pour l'ensemble des 107 échantillons analysés par comparaison du pourcentage de calcium mesuré par analyse totale (ICP-OES) et par l'analyse partielle (ICP-MS).

- **Validation de la méthode :**

Le protocole de dissolution de la fraction carbonatée de calcaires avec de l'HCl 0.15M permet de dissoudre la totalité de la matrice calcaire puisqu'on retrouve $102 \pm 1\%$ de calcium de l'analyse totale en ICP-OES. De plus, cette méthode d'analyse est répliquable car elle permet de retrouver les mêmes résultats à $\pm 5\%$ du standard NIST-1d. En revanche, l'éventualité d'une faible dissolution des argiles n'est pas à exclure dans le cas d'un calcaire riche en argiles ($[SiO_2] = 4,1\%$) comme le standard NIST-1d pour lequel 2.4% de Si et 15.8% d'Al ont été retrouvés par l'analyse à l'HCl 0.15M. Néanmoins, la majorité des échantillons de roches du système karstique de Vaucluse contenant une très faible proportion de SiO₂ (inférieure à 10%, voir Figure 4.8), cette méthode semble tout à fait indiquée pour l'analyse des éléments en trace contenue dans la matrice carbonatée de roches calcaires dans le but de tracer les chemins empruntés par l'eau au sein de roches carbonatées. Le protocole

final d'analyse des roches utilisé est détaillé en annexe 4.5, il correspond au protocole de test sans l'étape de centrifugation car cela n'avait pour objectif que d'observer les particules non dissoutes.

A.II.2 Protocole de prélèvement des eaux du LSBB pour analyse des éléments en trace

Le prélèvement et l'analyse des éléments en trace est soumis à un fort risque de contamination depuis l'échantillonnage in situ en galerie, jusqu'au moment des analyses. Il est ainsi indispensable d'effectuer une décontamination minutieuse des flacons avant prélèvements (protocole décrit en annexe 4.6). Les prélèvements réalisés dans la galerie du LSBB peuvent être particulièrement vulnérables à une contamination du fait :

- des parois de béton de plusieurs dizaines de centimètres d'épaisseur qui recouvrent les murs des galeries,
- de l'instrumentation des points d'écoulement : réglettes en métal qui dirigent l'eau vers l'entonnoir collectant le flux d'eau (Figure 2.11 du chapitre 2, photo de l'instrumentation),
- des poussières liées au confinement du lieu de prélèvement, notamment en galerie de secours, vers laquelle est dirigé le flux d'air de la ventilation de la galerie principale.

A.II.2.1 Influence des parois de béton (modifié de Serene, 2019)

De manière générale, le béton est composé de sable (principalement de quartz SiO_2), de granulats (e.g. graviers), d'eau, de chaux et/ou de ciment (issus du broyage de roches argilo-calcaire; Ecocem France, 2018). Les bétons armés comportent une armature en acier visant à augmenter la résistance mécanique du béton.

La composition chimique de ce matériau peut avoir un impact sur celle de l'eau qui la traverse. En effet, des éléments constituant le béton ou encore l'acier peuvent passer en solution et modifier la chimie de l'eau. Dans cette sous-partie, on cherche à évaluer l'impact potentiel d'une interaction eau/béton sur l'hydrochimie des points d'écoulement du LSBB.

Le pH du béton est très basique (avoisinant 12 ou 13) lorsque le liant hydraulique utilisé est de la chaux. La présence d'eau peut altérer ce matériau en acidifiant le milieu puisque le pH des eaux naturelles avoisine plutôt les 6-8 (Amouri, 2017). Un équilibrage entre le pH du béton et celui de l'eau qui s'infiltré peut avoir pour résultat une augmentation artificielle du pH de l'eau et donc des écoulements observés au LSBB. Les valeurs de pH mesurées au LSBB sont effectivement supérieures en moyenne à celles de Fontaine de Vaucluse

(Figure 4.12). Cependant, cette augmentation du pH pourrait être liée à une augmentation de la $p\text{CO}_2$ pouvant traduire une influence accrue du compartiment sol.

Les minéraux constituant le béton sont dissous au contact de l'eau d'autant plus rapidement que le pH est faible (Carde, 2007). Cette dissolution est susceptible d'influencer les concentrations en éléments constitutifs des phases minérales du béton (Tableau 4.3) tels que Ca et Si. Cependant, on n'observe pas de différences significatives dans les concentrations de ces éléments entre les écoulements du LSBB et Fontaine de Vaucluse (Figure 4.12).

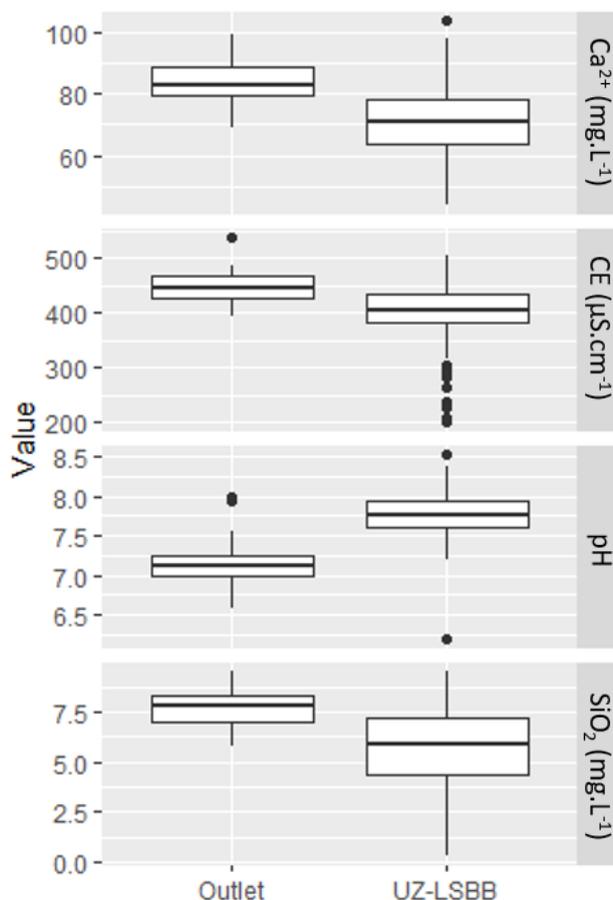


Figure 4.12 : Représentation des concentrations en magnésium, silice, de la conductivité électrique et du pH sur le suivi réalisé de juin 2020 à octobre 2021 pour Fontaine de Vaucluse (Outlet) et les écoulements du LSBB (UZ-LSBB).

Phases minérales contenues dans le béton	Ca	Al	S	Si
Portlandite	X			
Aluminates de calcium	X	X		
Monosulfate aluminat de calcium	X	X	X	
Ettringite	X	X	X	
Silicates de calcium	X			X

Tableau 4.3 : Principaux éléments chimiques des phases minérales présentes dans le béton et susceptibles de passer en solution (Carde, 2007).

L'altération du béton par des eaux agressives (acides) peut conduire à la formation de gypse secondaire (CaSO_4 ; Gasser, 2014) susceptible de conduire à un enrichissement préférentiel de l'eau en sulfates. Au LSBB, l'écoulement C présente le plus fort enrichissement en sulfates (Figure 4.13) et peut atteindre des débits supérieurs à $12 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ (Tableau 4.4). Dans le cas d'une origine des sulfates liée à la dissolution du béton, on attendrait un enrichissement plus important en sulfates pour le point d'écoulement présentant les débits les plus faibles et donc un temps d'interaction eau-béton plus important. Ainsi, un enrichissement en sulfates du fait d'un contact eau-béton n'est donc pas détectable au LSBB.

débits ($\text{mL}\cdot\text{s}^{-1}$)	A	B	C	D	W
Min	2,1	0,15	0	1,45	0
Max	5,9	7,1	12,5	3,6	12,5
Moy	3,6	2,1	3,6	2	0,72

Tableau 4.4 : Valeurs minimales, maximales et moyennes des débits aux écoulements du LSBB au cours du suivi bi-mensuel de juin 2020 à octobre 2021. Les moyennes sont lissées sur la période (prise en compte de débits nuls).

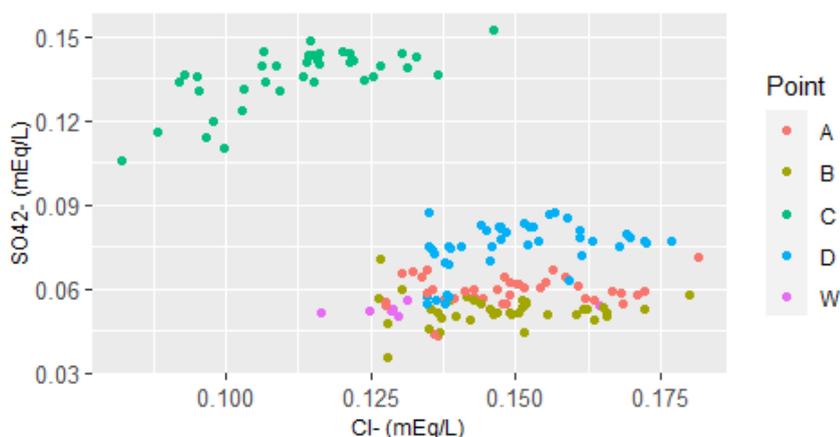


Figure 4.13 : Diagramme binaire des concentrations en chlorures et sulfates des écoulements A, B, C, D et W du LSBB (données du suivi bimensuel de juin 2020 à octobre 2021).

Ainsi, le béton ne semble pas avoir d'influence sur la composition en éléments majeurs de l'eau. Ce résultat n'exclut pas qu'il en ait sur les concentrations de certains éléments en trace. L'analyse chimique du béton recouvrant les galeries du LSBB (Tableau 4.5) révèle cependant des concentrations importantes en Tantale (Ta) et Baryum (Ba). Ces deux éléments sont susceptibles de passer en solution et d'impacter la qualité chimique de l'eau, tout particulièrement Ba dont la solubilité et la mobilité est importante (cf. partie A.I). On

retiendra donc que le développement des éléments en trace comme traceurs naturels ne pourra pas se baser uniquement sur ces deux éléments.

Concentration en éléments traces du béton des galeries du LSBB (ppm)			
As	3,746	Mo	< L.D.
Ba	165,9	Nd	2,718
Be	0,876	Ni	8,34
Bi	< L.D.	Pb	21,04
Cd	0,191	Pr	8,826
Ce	16,34	Rb	2,109
Co	3,64	Sb	30,96
Cr	23,85	Sm	0,487
Cs	1,294	Sn	1,871
Cu	5,7	Sr	1,189
Dy	1,74	Ta	720
Er	1,009	Tb	0,293
Eu	0,46	Th	0,311
Ga	3,898	Tm	0,293
Gd	1,805	U	3,057
Ge	0,607	V	0,155
Hf	1,577	W	1,21
Ho	0,349	Y	25,13
In	< L.D.	Yb	0,519
La	8,56	Zn	11,74
Lu	0,152	Zr	1,021

Tableau 4.5 : Concentrations en éléments en trace du béton des galeries du LSBB. Les concentrations en majeurs (SiO_2 , Al_2O_3 , MnO , CaO , Na_2O , K_2O , TiO_2 , P_2O_5) n'ont pas été mesurées.

A.II.2.2 Influence du dispositif de collecte des flux d'eau au niveau des écoulements du LSBB

Les points d'écoulement du LSBB sont équipés de réglettes en métal qui permettent de canaliser l'écoulement vers les appareils de mesure en continu (voir photographie Figure 2.11, chapitre 2). Cet équipement est susceptible de générer une contamination en éléments en trace (i) en provoquant un enrichissement des eaux circulant sur la réglette par dissolution, (ii) en constituant une surface adsorbante du fait de la formation d'oxydes, ou encore (iii) par l'accumulation de poussières sur la réglette en métal et remobilisation lors des épisodes de forts débits.

Afin d'estimer le potentiel impact de ce dispositif de collecte sur les signatures en éléments trace des échantillons prélevés, nous avons comparé les analyses de prélèvements réalisés en amont et en aval de cette réglette. Ce test a été conduit le 19/11/2019 sur les écoulements C,

A et W (Figure 4.14). De nombreux éléments en trace présentent des écarts relatifs supérieurs à 25 % (ou inférieurs à -25 %) à au moins un des écoulements considérés: Li, Al, Ti, Mn, Co, Zn, Sb, Pb et les terres rares. L'écoulement C présente un très fort écart relatif pour le Zn comparé aux deux autres écoulements testés qui pourrait être liée à une contamination extérieure à la réglette métallique (e.g au moment du prélèvement et/ou de l'analyse). La variabilité de ces écarts relatifs aux 3 écoulements suggère que l'influence de la réglette en métal est susceptible de varier dans le temps et/ou l'espace étant donné qu'ils sont équipés de la même réglette en métal. Cet impact reste néanmoins difficile à estimer, c'est pourquoi il est préférable de prélever l'écoulement au plus près de sa sortie, afin de limiter au maximum l'impact potentiel de la circulation de l'eau sur la réglette métallique.

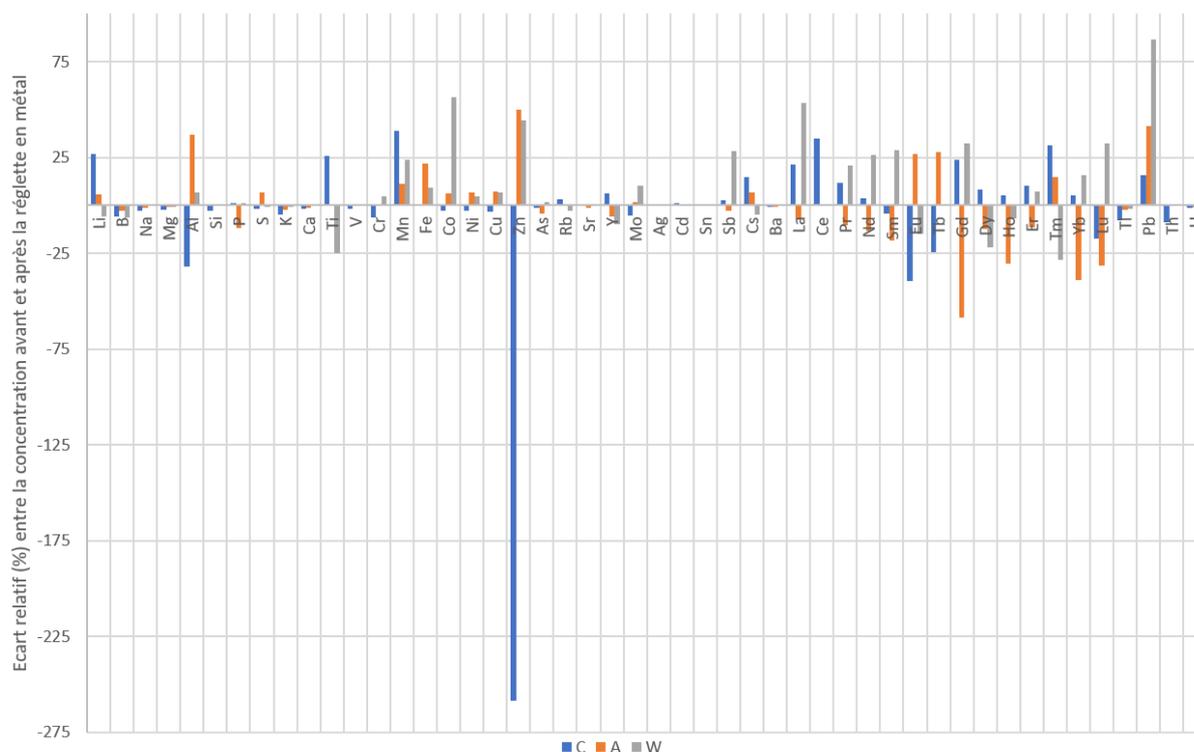


Figure 4.14 : Ecart relatif entre les concentrations en éléments en trace des écoulements C, A et W prélevés en amont et en aval de la réglette métallique. Un écart positif met en évidence de plus fortes concentrations en amont qu'en aval de la réglette suggérant l'adsorption de l'élément considéré; un écart négatif suggère un relargage.

A.II.2.3 Influence de l'environnement durant la phase du percement de la galerie MIGA: contamination de l'air de la galerie et poussières

Les travaux de creusement de la galerie Miga se sont terminés à l'automne 2019, période à laquelle une première phase de tests de prélèvement des éléments en trace en galerie a pu être réalisée. Au cours des travaux de la galerie Miga (voir chapitre 2 partie I.3)

et jusqu'à plusieurs mois après, une ventilation puissante a été mise en place afin que les poussières de la galerie principale soient évacuées via la galerie de secours. Afin d'estimer la contamination potentielle liée à toutes ces poussières, plusieurs tests ont été réalisés le 19 novembre 2019. Ces tests ont été réalisés avec de l'eau ultra-pure (eau milliQ) conditionnée, filtrée, acidifiée au laboratoire (mQ F), puis la même eau ultra-pure a été filtrée et acidifiée au niveau des points C et D de la galerie de secours avec 3 réplicats pour chaque site (voir schéma, Figure 4.15).

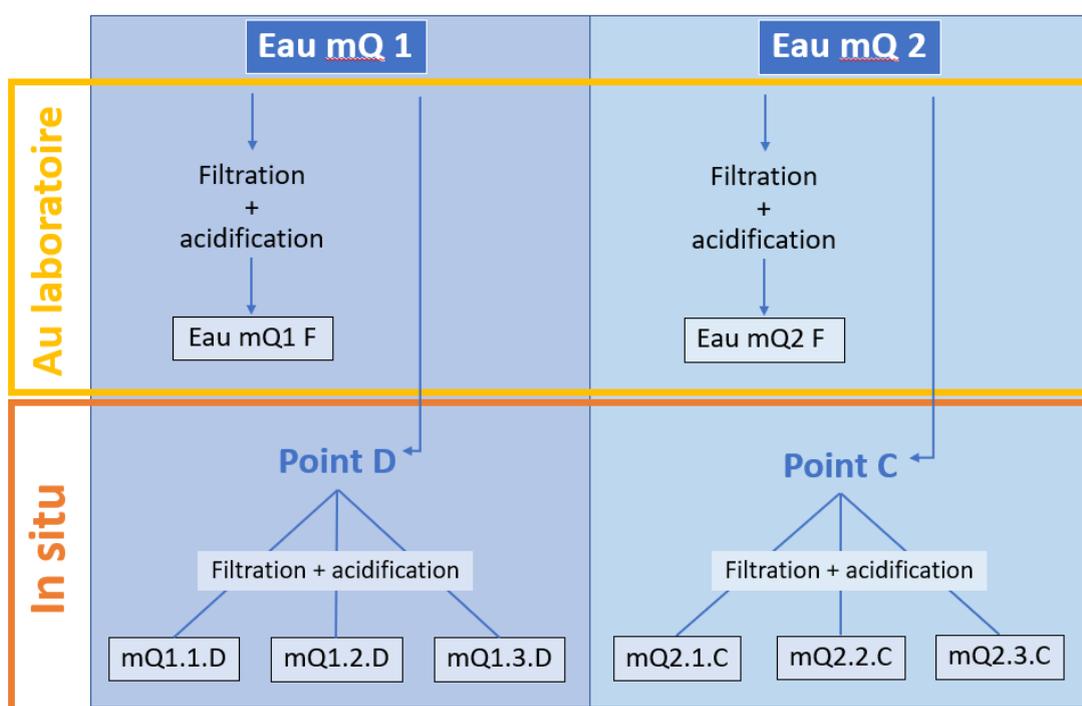


Figure 4.15 : Tests de contamination de l'air en galerie réalisés le 19/11/2019.

Ces différents tests ont mis en évidence, notamment au niveau du point D, un fort impact de la poussière sur les résultats des analyses en éléments en trace. En effet, l'eau ultrapure filtrée et conditionnée au laboratoire (mQ1F, en bleu, Figure 4.16), a des concentrations faibles et souvent inférieures aux limites de détection contrairement aux eaux filtrées et acidifiées sur place. Ces dernières présentent des concentrations plus élevées, particulièrement le réplicat mQ1.3D dont la quasi-totalité des concentrations est supérieure aux limites de détections. Il semblerait donc que la contamination liée à la poussière soit forte au moment du prélèvement au niveau du point D, le 19/11/2019, lorsque la ventilation liée aux travaux de la galerie Miga était encore en marche.

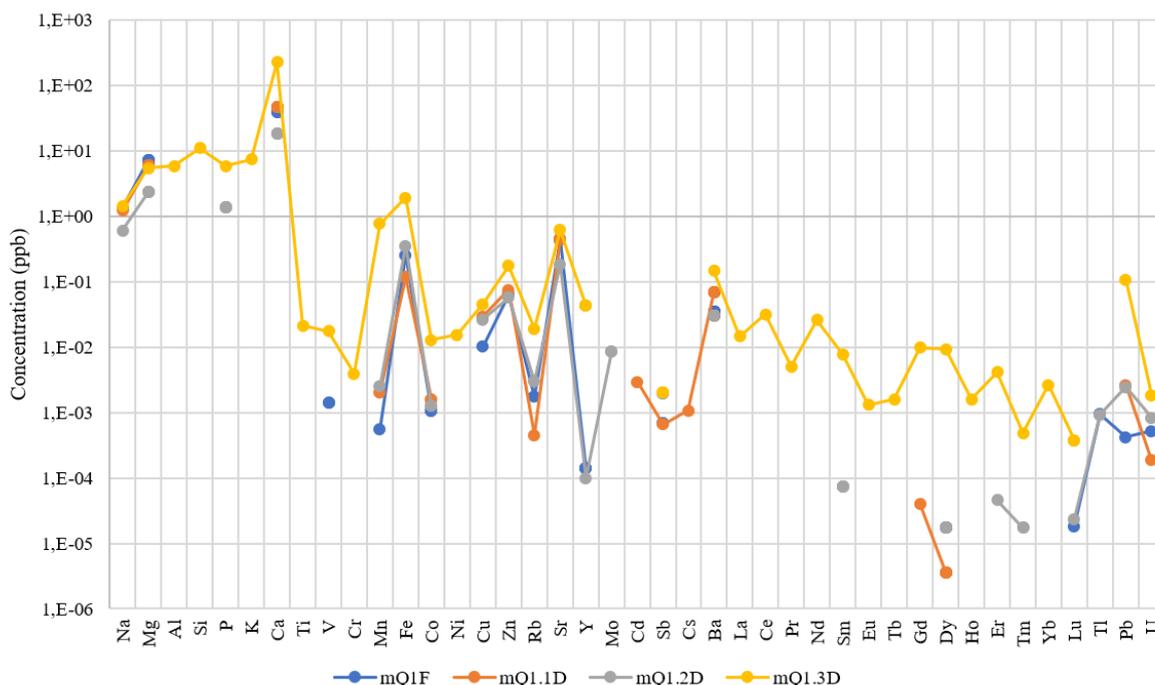


Figure 4.16 : Concentration en éléments en trace des eaux ultra-pures conditionnées au laboratoire et au niveau du point D le 19/11/2019. Les valeurs absentes sont des valeurs inférieures aux limites de détection.

En raison de cette contamination par la poussière identifiée au point D, la décision a été prise de ne pas filtrer les échantillons sur place afin de limiter au maximum le temps de remplissage du flacon, et donc la durée de contact entre le contenu du flacon et l'air chargé en poussières de la galerie. Cependant, l'organisation des tournées de prélèvements génère un délai pouvant être important entre le prélèvement et la filtration de l'échantillon. C'est pourquoi une seconde phase de tests a été réalisée le 13/02/2020. Ces nouveaux tests ont consisté au prélèvement en triple exemplaire des écoulements A, B, C, W et AJ. Un flacon sur 3 a été filtré et acidifié dans la galerie, un second flacon a été filtré et acidifié en salle blanche le lendemain, et le dernier 7 jours après le prélèvement. Une diminution de la concentration en éléments en trace pour l'échantillon filtré en laboratoire à J+1 et J+7 par rapport à l'échantillon filtré in situ pourrait en effet être liée au délai avant l'acidification de l'échantillon. Ce délai pourrait permettre la précipitation d'éléments en suspension sous forme de particules de taille plus importante qui serait ensuite éliminées par une filtration à J+1 ou J+7. Cela pourrait également témoigner d'une contamination sur l'échantillon filtré in situ lié à la poussière de la galerie. A l'inverse, une augmentation de la concentration en éléments en trace pour l'échantillon filtré en laboratoire à J+1 et J+7 par rapport à l'échantillon filtré in situ pourrait s'expliquer par la présence de micro-particules contenant des éléments en traces directement éliminées par le filtre in situ, mais ayant eu le temps de

passer en solution avec le délai de 1 ou 7 jours avant filtration. Ce passage en solution pourrait être lié à des modifications d'Eh et pH de l'échantillons liées aux conditions de stockage.

La Figure 4.17 représente les résultats d'analyses des échantillons filtrés in situ, le lendemain, et une semaine après pour l'écoulement A (autres écoulements en annexe 4.7). Les profils des 3 échantillons ont la même allure. Il apparaît néanmoins que l'échantillon filtré in situ a généralement des concentrations en éléments en trace légèrement supérieures à celles filtrées à J+1, ces dernières étant à leur tour légèrement supérieures à celles filtrées à J+7. Un écart important est visible pour Zn, avec une concentration beaucoup moins forte à J+7 ; et pour les terres rares donc la plupart des analyses à J+1 et J+7 sont inférieures aux limites de détection. Il est néanmoins possible que les plus fortes concentrations observées pour la filtration in situ soient liées à la contamination de la poussière de la galerie. Il semblerait donc que le délai de filtration ait une incidence modérée sur les concentrations en éléments en trace, mais que la filtration in situ présente le principal risque de dénaturation/contamination des échantillons.

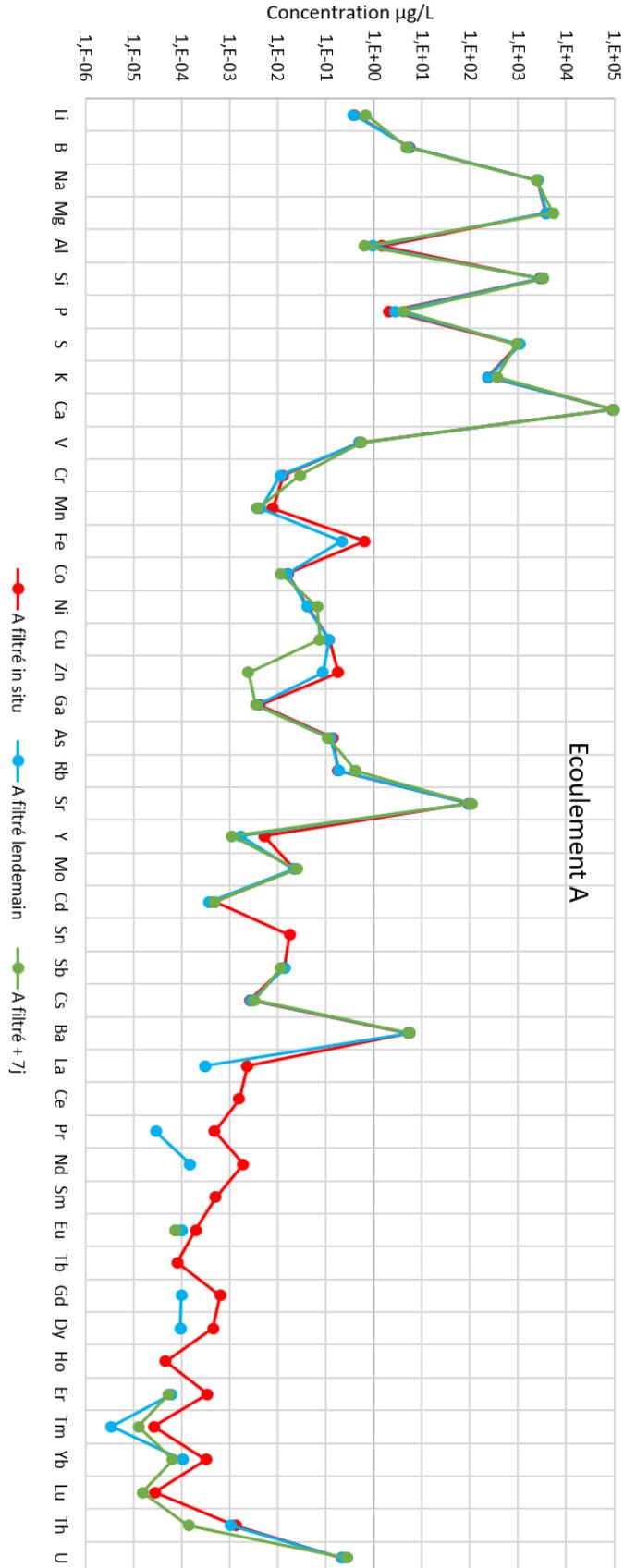


Figure 4.17 : Concentration en éléments en trace à l'écoulement A le 13/02/2020 pour des filtrations réalisées in situ, et en laboratoire à J+1 et J+7.

A.II.2.4 Protocole final de prélèvement de l'eau pour analyse des éléments en trace

Les éléments évoqués dans la partie A.II.2 ont permis d'élaborer un protocole en annexe 4.8 permettant de faciliter le prélèvement de l'eau tout en préservant l'échantillon des contaminations potentielles (influence du béton, réglette en métal, poussières de la galerie). Les éléments en trace sont prélevés à l'aide d'une seringue au plus près de l'écoulement, et donc le plus loin possible de l'appareillage de collecte du flux d'eau. Le prélèvement n'est pas réalisé quand il n'y a qu'une goutte-à-goutte afin d'éviter la contamination par la poussière et une trop longue interaction avec le béton. Les flacons décontaminés utilisés pour le prélèvement sont stockés pleins, contenant de l'eau ultra-pure acidifié à 1% d' HNO_3 suprapur, et sont vidés sur place afin d'éviter toute contamination. La filtration est quant à elle réalisée le lendemain ou au plus tard le surlendemain en salle blanche.

A.II.3 Sélection des éléments en trace et pré-traitement des données d'analyses des roches

Le traitement statistique de données par clustering ou analyse en composante principale (ACP) exclut systématiquement les observations pour lesquelles une variable est absente, ce qui est le cas pour les mesures inférieures aux limites de détection. Pour pallier ce problème et conserver un maximum d'observations, les valeurs manquantes peuvent être arbitrairement remplacées par la limite de détection (LD), LD/10, ou encore la moyenne de la concentration de l'élément sur tout le jeu de données. Afin de limiter son impact sur le traitement statistique, le remplacement des valeurs non quantifiées ne doit concerner qu'une petite partie du set de données. Pour éviter d'avoir à remplacer trop de données, il est indispensable de sélectionner les éléments ayant des concentrations suffisantes dans les eaux. Pour cela, les limites de quantification ont été calculées pour les analyses d'eau et de roches à partir des limites de détection pour l'ensemble des analyses ($LQ = 3.3 \cdot LD$, Figure 4.18; (Recueil international des méthodes d'analyses, 2021). Afin d'éviter que la proportion de données remplacées ($> LD$) et peu fiables ($< LQ$) ne soit trop importante, un seuil de 25% a été choisi, et une sélection des éléments basés sur 4 variables proposée. Ces variables correspondent aux proportions d'échantillon $> LD$ et $> LQ$ pour les roches ainsi que pour l'eau. Les éléments pour lesquels au moins deux de ces variables sont inférieures à 75% ont été éliminés. Les éléments pré-sélectionnés sont alors : Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U. L'élément calcium est un cas particulier. Il présente de très fortes concentrations autant dans l'eau que dans les roches et dépasse

largement la gamme étalon ($\gg 5000$ ppb). De ce fait, ses concentrations sont fortement susceptibles d'être impactées par l'interpolation dans le domaine hors gamme. Il est ainsi préférable d'éliminer également cet élément, prenant en compte uniquement pour la suite des traitements de données les 21 éléments en trace suivants: **Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U.**

Les données brutes doivent ensuite être corrigées du coefficient de dilution ainsi que de la proportion de la fraction carbonatée étant donné que seule cette fraction a été analysée. La proportion de la fraction carbonatée peut-être estimée par le pourcentage de CaO résultant de l'analyse ICP-OES totale. La correction s'effectue alors grâce au calcul suivant: $(100 * [\text{trace}]) / [\text{CaO}]$. Pour le traitement statistique des données, les valeurs manquantes restantes ont été remplacées par une valeur correspondante à LD/10 multipliée par le facteur de dilution.

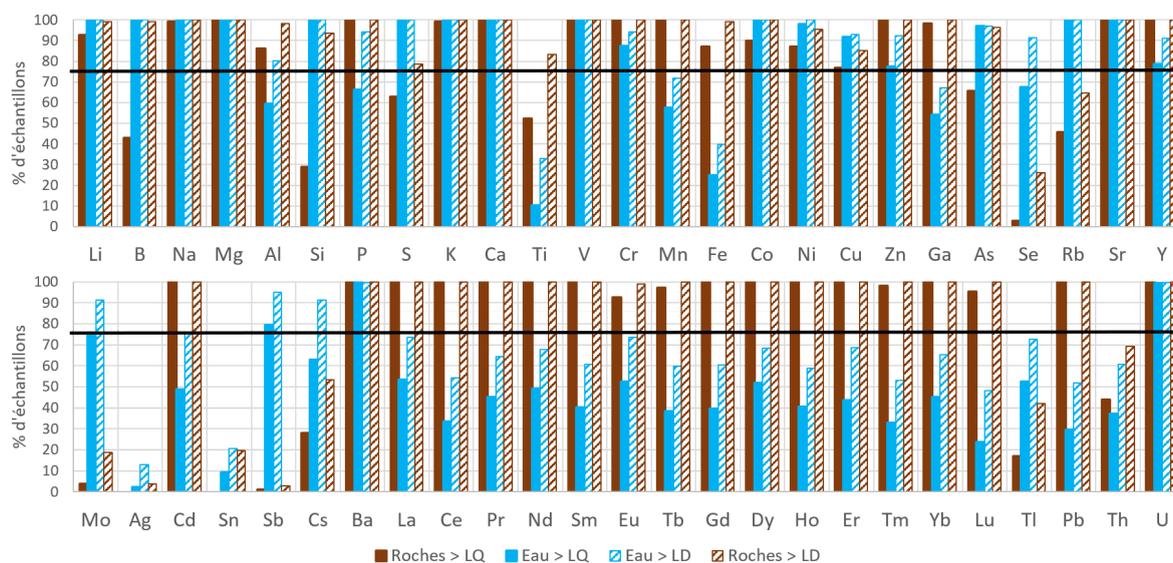


Figure 4.18 : Histogramme des proportions d'échantillons d'eau et de roches supérieures aux limites de quantification (LQ) et par extension supérieures aux limites de détection (LD) pour l'ensemble des éléments analysés par ICP-MS.

Partie B : Résultats et discussion

B.I. Signature en éléments en trace des carbonates du système Fontaine de Vaucluse

B.I.1 Mise en évidence d'une signature en éléments en trace des carbonates induite par les environnements de dépôt

Dans l'objectif de déterminer s'il existe une signature des éléments en trace des environnements de dépôt dans les calcaires du système Fontaine de Vaucluse, un clustering hiérarchique par le calcul de distances euclidiennes a été réalisé sur la base des teneurs des éléments en trace (retenus en partie A.II.3) des 107 échantillons de roches prélevés (descriptif en annexe 4.1).

- **Cluster 1 VS Cluster 2 : distinction des échantillons de plateforme interne et de bassin**

Le dendrogramme obtenu classe les échantillons en deux groupes principaux (groupes 1 et 2), distingués ensuite en deux sous-groupes (1.1 et 1.2, 2.1 et 2.2, Figure 4.19). Les 45 échantillons de plateforme interne sont tous présents dans le groupe 1, tandis que les 2 échantillons les plus distaux - ceux du bassin - sont tous présents dans le groupe 2 ce qui suggère que le groupe 1 est associé aux faciès plutôt internes, et le groupe 2 plutôt aux faciès externes. Au sein du cluster 2, l'échantillon BR62T s'individualise dans le groupe 2.1 car il est le seul véritablement déposé en milieu de bassin étant donné que l'environnement de dépôt de l'autre échantillon du bassin (BR74) est plutôt caractéristique d'une zone en début de bassin, à proximité de la pente.

- **Ubiquité des échantillons de plateforme externe**

Contrairement aux interprétations issues des données de Dematteis présentées partie A.I.2, le clustering réalisé sur les échantillons de roches du système de Fontaine de Vaucluse ne permettent pas de distinguer plateforme interne et plateforme externe. En effet, les 27 échantillons de plateforme externe sont équitablement répartis entre les deux groupes ce qui est cohérent avec la localisation de cet environnement de dépôt, entre la plateforme interne et la pente (voir chapitre 1, partie I.1.1). En effet, la limite géographique entre deux environnements de dépôts n'est pas linéaire et correspond plutôt à une zone de transition au sein de laquelle du matériel issu des deux environnements de dépôts peuvent se retrouver.

Ainsi, on peut supposer que les échantillons de calcaires déposés en plateforme externe à proximité de la plateforme interne apparaissent dans le groupe 1, alors que ceux déposés à l'autre extrémité de la plateforme externe, en bordure de pente, sont regroupés avec les échantillons de bassin dans le groupe 2. En effet, 6 des 7 échantillons attribués à des dépôts de fin de plateforme externe et début de pente sont regroupés dans le cluster 2.2 (MAR.BAN2, SAR.BAN, ST1, Mi1, Mi2 et ST2; voir annexe 4.2). Afin de valider cette hypothèse, il pourrait être intéressant de replacer ces échantillons sur une carte paléogéographique.

- **Cluster 1.1 : regroupement des échantillons de faciès à orbitolines**

Les faciès à orbitolines sont caractéristiques des périodes de changement brutaux de l'environnement marin que ce soit par une modification de la chimie de l'eau de mer ou une période d'enneigement de la plateforme carbonatée. Ils sont ainsi susceptibles d'avoir une signature hydrochimique proche mais légèrement différente des faciès déposés en milieu de plateforme interne et externe. Il n'est ainsi pas surprenant de retrouver la majorité des faciès à orbitolines dans le groupe 1.1. Le nombre d'échantillons déposés en milieu de pente et de bassin étant plus réduit que celui déposés en milieu de plateforme, le clustering ne permet pas d'individualiser aussi bien l'échantillon de faciès à orbitolines présent dans le cluster 2. Néanmoins la présence de cet échantillon dans ce groupe est cohérente avec le fait qu'il peut se déposer dans la zone de transition entre plateforme externe et pente représentée par le cluster 2.2.

- **Classification des échantillons de pente**

Les échantillons de pentes sont plus fréquents dans le cluster 2, en cohérence avec la caractérisation de ce groupe (faciès externes). Cependant, 5 d'entre eux sont présents dans le groupe 1 associé à des faciès déposés en plateforme : 3 dans le groupe 1.1 correspondant aux faciès particuliers (comprenant les échantillons à orbitolines) et 2 dans le groupe 1.2.

Les trois échantillons présents dans le cluster 1.1 sont susceptibles de comporter un grand nombre d'éléments déposés en milieu de plateforme externe, ce qui expliquerait cette classification.

Les deux échantillons de pente retrouvés dans le groupe 1.2 sont très particuliers. En effet, l'échantillon RB54 est un grainstone à foraminifères péloïdaux caractérisé comme un faciès très mélangé. Il est donc susceptible de contenir un grand nombre d'éléments en provenance de la plateforme qui justifierait cette classification. L'échantillon V19 a été entièrement

recristallisé par une diagenèse tardive, ce qui peut impliquer un changement de chimie en fonction des fluides de recristallisation.

Il est ainsi fortement probable que les signatures hydrogéochimiques de ces deux échantillons (RB54 et V19) soient proches de celles des échantillons de plateforme sans pourtant correspondre à des échantillons déposés dans ce milieu. Une vérification de ces informations en étudiant les lames minces pourrait valider ces hypothèses.

- **Cluster 2.2 : faciès entièrement recristallisés et déposés en milieu lacustre**

Les échantillons prélevés dans le bassin d'alimentation de la source de la Nesque (SN1 et SN2) sont regroupés dans le cluster 2.2 avec les faciès de pente. Ces deux échantillons ont été déposés bien plus récemment (Oligocène) que l'ensemble des autres échantillons (Crétacé). Leur environnement de dépôt est de type lagune ou lac à influence marine. Ce type d'environnement est caractérisé par une faible énergie permettant la sédimentation des particules fines, avec une production biologique probablement moins variée en raisons de conditions particulières (e.g. luminosité, oxygénation). Ces caractéristiques sont semblables à celles généralement observées en milieu de pente ou de bassin, où la production biologique est très peu variée, principalement d'origine planctonique. Cela explique la présence des échantillons SN1 et SN2 dans le cluster 2.2.

La classification de l'ensemble des échantillons totalement recristallisés dans le cluster 2.2 (Ap, A, EX 53.80) pourrait être liée à la nature du fluide à l'origine de la précipitation des carbonates. En effet, les fluides de recristallisation sont généralement très minéralisés et la précipitation de la calcite qui y est associée est susceptible de contenir un grand nombre d'impuretés. Ainsi, la chimie résultante de ces échantillons recristallisés pourrait se rapprocher des échantillons déposés en milieu lacustre et en contextes externes (pente, bassin) en raison de la plus faible agitation du milieu permettant la décantation des particules en suspension et de ce fait formant un sédiment carbonaté riche en impuretés.

Ainsi, l'ensemble de cette analyse suggère que le groupe 2.2 est associé à une signature hydrochimique de pente, le groupe 2.1 à celle du bassin, le groupe 1.2 à celui de plateforme, et le groupe 1.1 à des échantillons particuliers de plateforme. Il semblerait donc que les éléments en trace sélectionnés soient porteurs d'une signature de l'environnement de dépôt de la fraction carbonatée.

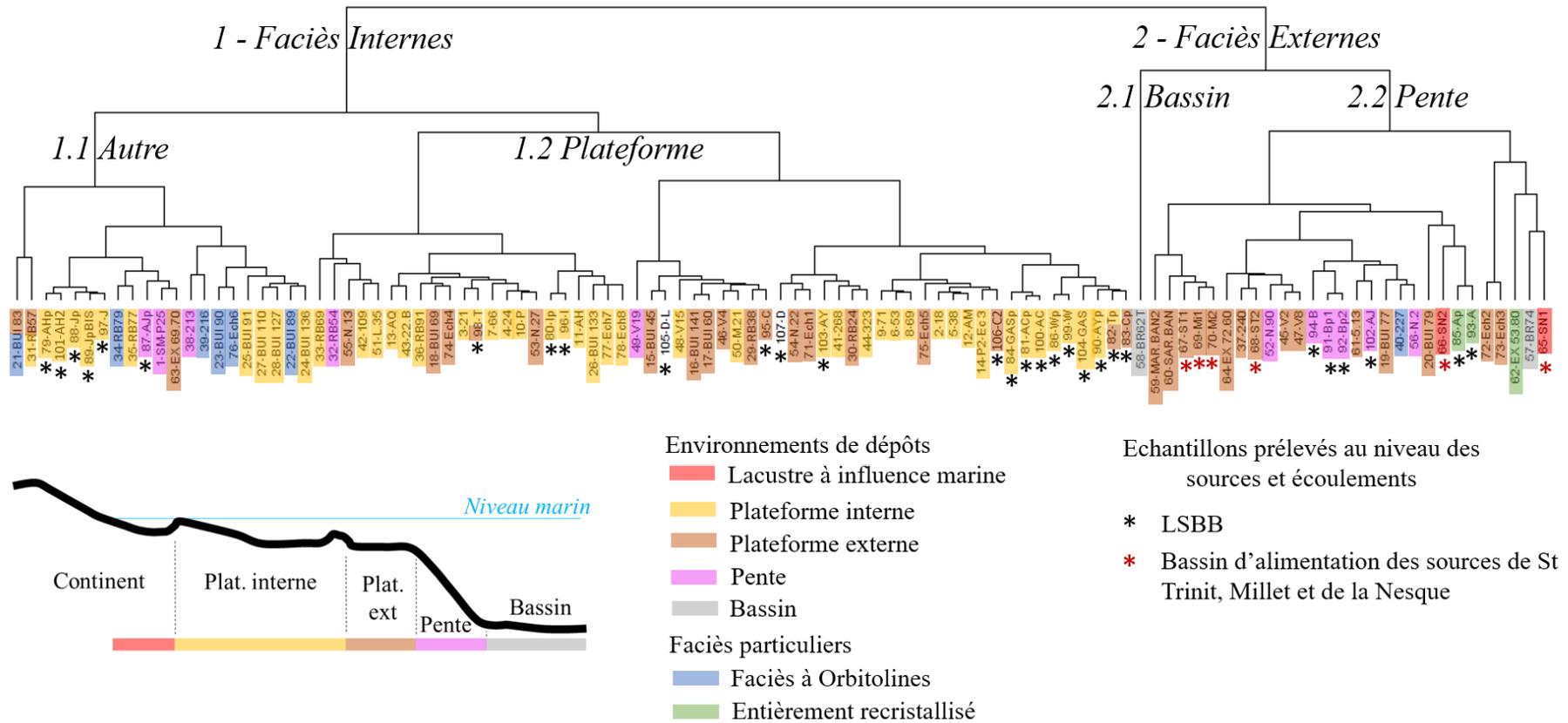


Figure 4.19 : Dendrogramme résultant du clustering hiérarchique avec calcul des distances Euclidiennes sur l'ensemble des 107 échantillons de carbonates prélevés sur le système de Fontaine de Vaucluse, et selon les 21 variables suivantes : Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U.

B.I.2 Nature de la signature en éléments en trace des environnements de dépôt des carbonates

L'analyse par clustering hiérarchique menée en partie B.I.1 a mis en évidence le potentiel des 21 éléments en trace sélectionnés pour distinguer l'environnement de dépôt des roches analysées à partir de la fraction carbonatée. L'objet de cette section est de caractériser la signature hydrochimique à l'origine de la classification par clustering. La méthodologie retenue est celle de l'analyse en composantes principales (ACP) de la composition géochimique des échantillons de roches. Cette analyse a porté sur les 21 éléments en trace retenus pour le clustering, auxquels ont été adjoints les proportions de CaO (maj_Ca, en %) et SiO₂ (maj_Si, en %) issues de l'analyse totale des échantillons par ICP-OES (corrélation entre les variables en annexe 4.9). Cet ajout a pour objectif d'évaluer une éventuelle appartenance à l'une des deux principales fractions : la fraction silicatée non prise en compte par la méthode de préparation des échantillons de roches mise au point en vue de leur analyse par ICP-MS (maj_Si), et la fraction carbonatée (maj_Ca).

La première dimension permet d'expliquer la variance du set de données à hauteur de 34 %, et la seconde à hauteur de 11,6 % (pour les autres dimensions, voir annexe 4.9). La proportion de la variance expliquée par ces deux premières dimensions est significative mais reste modeste (45,6 %). Son ordre de grandeur est cohérent avec les nombreux facteurs de la forte hétérogénéité hydrogéochimique des échantillons de roches : environnements de dépôts, âge des formations, historique de diagenèse et éventuelles dissolutions et recristallisations.

La plupart des variables (Al, Si, Li, P, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Ba, B, Na, maj_Si) sont principalement portées par la dimension 1 et s'opposent à la proportion de calcium de l'échantillon total (maj_Ca; Figure 4.20). La dimension 1 distingue très bien les échantillons d'environnements de dépôt de faciès plutôt interne (clusters 1.1 et 1.2) de ceux de faciès plutôt externe (clusters 2.1 et 2.2). A priori, cela semble cohérent avec les données issues des travaux de Dematteis (1995) mettant en évidence un enrichissement en silice dans les marnes par rapport aux calcaires (partie A.I.2, Figure 4.5a). En effet, les marnes se déposent dans des milieux calmes plutôt associés à des environnements de dépôt de pente ou de bassin. Des concentrations plus élevées en une majorité des éléments en trace peuvent également être observées sur la représentation en boîte à moustache des distributions (Figure 4.21), les échantillons de bassin y présentent des valeurs supérieures aux autres environnements de dépôt pour les éléments suivants : Sr, Cu, maj_si, Ba, P, Li, Co, Si, Ni, Al, As, Y. Les calcaires déposés en milieu les plus externes semblent ainsi avoir de plus fortes

concentrations en la majorité des éléments. Cela peut être lié à : (i) une plus grande proportion de silicates (alignement avec la variable *maj_Si*) qui aurait été au moins partiellement mobilisée par l'attaque acide; et/ou (ii) une production biogénique de carbonates différente en raison d'une différence de biocénose (différents producteurs), et/ou (iii) un taux de sédimentation moins important (diminution du nombre de producteurs de carbonates) engendrant une plus faible "dilution" des oxydes qui peuvent précipiter et des matières en suspension qui se décantent; et/ou (iv) une concentration des impuretés des carbonates en profondeur en raison de la dissolution des carbonates qui y est possible (chapitre 1 partie I.1.1, Chamley and Deconinck, 2011).

L'hypothèse (i) correspond à un biais potentiel de la méthode d'analyse. Parmi les échantillons qui ont les plus fortes valeurs en dimension 1 on retrouve des échantillons figurant parmi les plus riches en silice par rapport à l'analyse totale par ICP-OES (BR62T : $[\text{SiO}_2] = 12,5 \%$; SN1: $[\text{SiO}_2] = 32 \%$; BR74 : $[\text{SiO}_2] = 12,6 \%$; MAR.BAN2 : $[\text{SiO}_2] = 8,8 \%$). Cependant, les analyses ICP-MS réalisées uniquement sur la fraction carbonatée permettent de retrouver moins de 1% des teneurs totales issues de l'ICP-OES (0,8 % pour BR62T; 0,4% pour BR74 et MAR.BAN2; 0,2% pour SN1). La silice retrouvée est susceptible de provenir d'impuretés des carbonates (e.g. au sein même de la structure de la calcite, partie A.I.1.1), et donc pas d'une influence d'une fraction silicatée à proprement parler.

Ainsi, la méthode d'analyse semble préserver la fraction silicatée et n'attaquer que la fraction carbonatée; elle n'est donc pas remise en cause. L'enrichissement en ces éléments en trace est donc présent au sein même de la fraction carbonatée des échantillons, favorisant les hypothèses (ii), (iii) et (iv).

Ces trois hypothèses sont compatibles entre elles. En effet, les producteurs de carbonates diffèrent d'un environnement de dépôt à un autre en raison des variations de conditions environnementales (température, agitation, luminosité, quantité de nutriments, ...). On retrouve ainsi majoritairement des foraminifères planctoniques au large, et un ensemble de coraux, algues et foraminifères au plus près des récifs (Langer et al., 1997; Milliman, 1993). Ces différents producteurs sont susceptibles de fabriquer des carbonates aux chimies variables. De plus, leur nombre peut fortement influencer sur le taux de sédimentation en agissant sur la quantité de carbonates produits (Milliman, 1993), induisant une "dilution" plus ou moins importante des particules en suspension qui décantent à partir de l'eau de mer. Ces impuretés sont ainsi susceptibles d'être plus concentrées lorsque le taux de sédimentation est faible (bassin) que lorsqu'il est fort (plateforme carbonatée), et influencent ainsi la chimie des sédiments carbonatés formés. De plus, la dissolution d'une partie des carbonates déposés en

différents éléments sensibles aux conditions redox (Cd, Cr, Mo, Ni, U, V, Zn) issus d'une précipitation chimique (non biogénique) attribuée à un dépôt dans des conditions anoxiques.

L'ACP met ainsi en évidence que les environnements de dépôts des carbonates se distinguent principalement par des concentrations plus élevées en la majorité des éléments pour les faciès les plus externes (excepté V, Cr, Cd et U; Figure 4.20 et Figure 4.21).

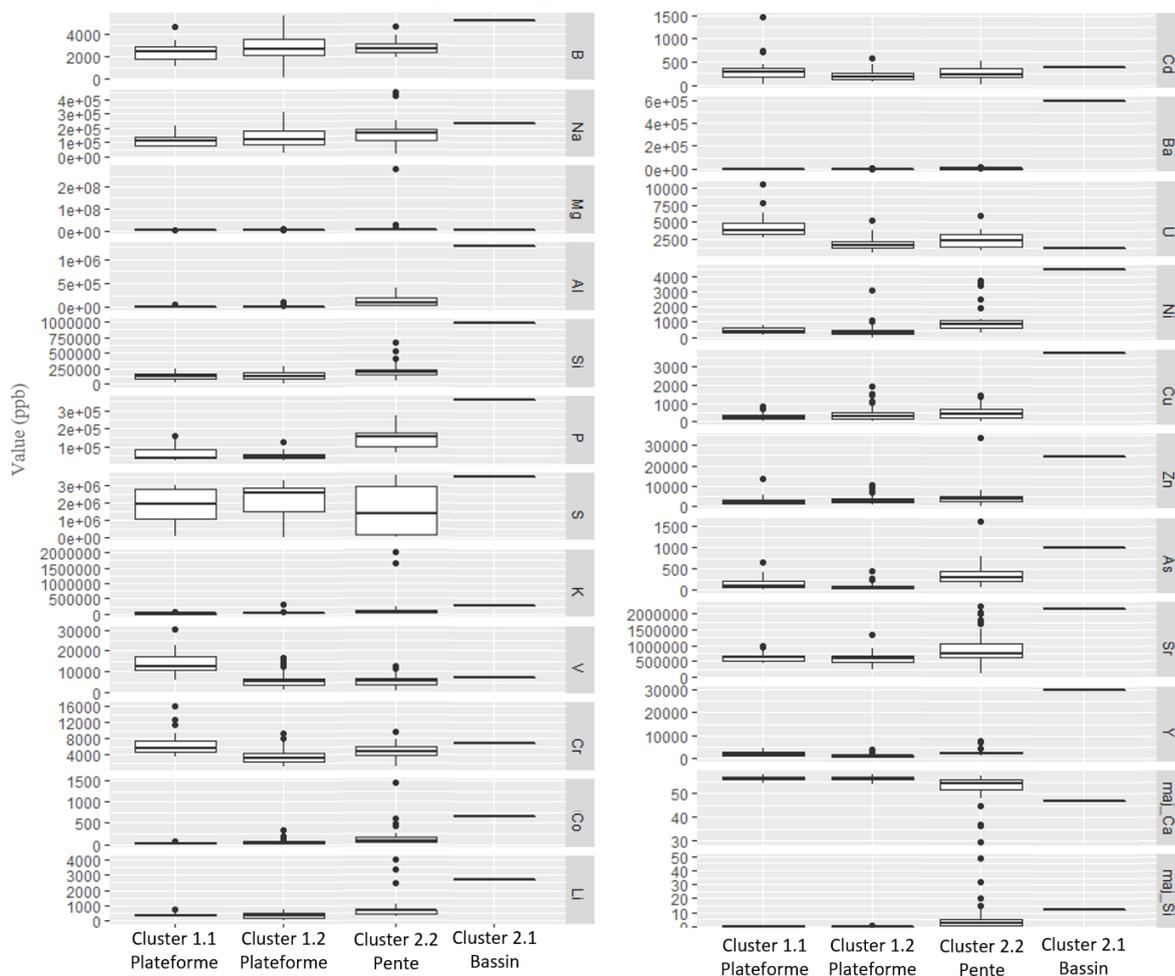


Figure 4.21 : Représentation en boîte à moustaches de la distribution des concentrations en éléments traces des échantillons de roches par cluster (Figure 4.19).

B.II Signature en éléments en trace des eaux et potentiel d'utilisation comme traceur des environnements de dépôt

B.II.1 Nature de la signature en éléments en trace des eaux et lien avec la signature en éléments en trace des roches

- **Présentation de l'ACP**

La partie B.I a mis en évidence l'aptitude des éléments en trace à distinguer les environnements de dépôts des roches carbonatées, avec de plus fortes concentrations dans les faciès les plus externes. Afin d'évaluer la potentielle transmission de cette signature à l'eau par dissolution des carbonates, une ACP sur l'ensemble des échantillons d'eau a été réalisée en prenant en compte les mêmes éléments que dans l'ACP des roches réalisée en partie B.I.2 : Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, K, Li, Mg, Na, Ni, P, S, Si, Sr, U, V, Y et Zn issus de l'analyse des éléments en trace par ICP-MS; Ca^{2+} et SiO_2 issus de l'analyse des éléments majeurs (corrélations entre les variables en annexe 4.10). La première dimension de l'ACP résultante explique la variance du jeu de données à hauteur de 43,1 % et la seconde à hauteur de 18,3 % (autres dimensions en annexe 4.10). La somme des variances expliquées par les dimensions 1 et 2 de l'ACP sur les échantillons d'eau est bien supérieure à celles de l'ACP sur les échantillons de roches. Cela semble cohérent étant donné qu'en milieu peu anthropisé la principale source d'éléments en trace dans les eaux souterraines est géogénique (partie A.I.1.1). De plus, les 6 types d'eau considérés lissent la variabilité des signatures des roches à l'échelle de leur bassin d'alimentation (Figure 4.22).

- **Première analyse des dimensions 1 et 2**

A l'image de l'ACP des échantillons de roches, la dimension 1 de l'ACP des échantillons d'eau représente la majorité des variables et distingue relativement bien les différents points d'écoulement (Figure 4.22). De la même manière, la dimension 1 représente la majorité des variables dont les concentrations les plus élevées sont associées à des concentrations en éléments en trace plus importantes (e.g. pour la source et/ou les pertes de la Nesque : As, B, Ba, Co, Cu, K, Li, Mg, Na, Ni, S, Si, Sr, U; Figure 4.23). Parmi les variables associées à cet axe on retrouve les concentrations en SiO_2 et Ca. On aurait pu s'attendre à ce que ces deux variables soient opposées comme c'est le cas dans l'ACP des roches (Figure 4.20). Ce n'est pas le cas, ce qui peut s'expliquer que ces deux analyses ne soient pas directement comparables. En effet dans le cas de l'ACP menée sur les analyses de roches, les teneurs en Si et Ca sont issues de l'analyse totale des échantillons de roches par ICP-OES, et

correspondent respectivement aux proportions de silicates et de carbonates ce qui explique leur anti-corrélation. A contrario les teneurs en SiO_2 dans l'ACP menée sur les analyses des eaux (Figure 4.22) sont celles qui résultent de la dissolution de la fraction carbonatée, qui contient en faible proportion de la silice.

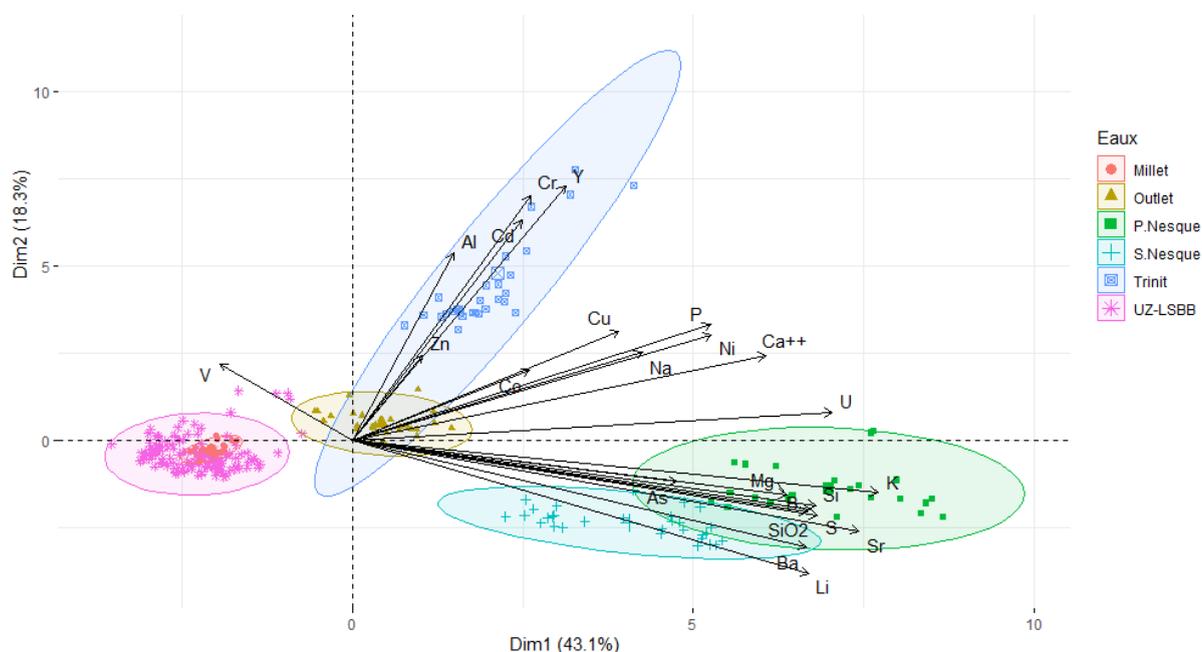


Figure 4.22 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée pour l'ensemble des échantillons d'eau suivis sur la période de juin 2020 à octobre 2021, à partir des variables suivantes : Ca^{++} et SiO_2 issus de l'analyse des éléments majeurs et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse par ICP-MS. Sources (Millet, Trinit, S.Nesque, Outlet = Fontaine de Vaucluse), écoulements du LSBB (UZ-LSBB) et Pertes de la Nesque (P. Nesque).

La dimension 2 représente moins de variables que la dimension 1, elle est associée à Al et Y ainsi qu'à Cd et Cr que l'on retrouve associés à la dimension 2 de l'ACP des roches (Figure 4.22). Cette dimension ne permet de distinguer que les échantillons de St Trinit, alors que les échantillons de roches prélevés sur le bassin d'alimentation de cette source ont une signature géochimique proche de ceux prélevés aux autres sources (Nesque et Millet, regroupés dans le cluster 2.2, Figure 4.19). Il est ainsi peu probable que cet axe représente également une signature en éléments en trace d'origine géogénique. La source de St Trinit se distinguant des autres sources étudiées par une contamination d'origine anthropique plus marquée, il est ainsi fortement probable que la dimension 2 soit liée à ce type de contamination. Cette hypothèse pourrait se vérifier par l'observation d'une corrélation entre les éléments Al, Y, Cd, Cr et les composés humic-like M (attribués à une contamination anthropique dans le chapitre 3, partie IV.2), le COT ou encore les nitrates.

- **Analyse détaillée de la dimension 1**

La dimension 1 individualise les sources et écoulements avec d'une part les eaux de la source de la Nesque et des pertes de la Nesque, et d'autre part les eaux de l'Urgonien (Millet et LSBB). La dimension 1 est susceptible de distinguer ces échantillons d'eau selon deux facteurs :

- (i) la durée de l'interaction eau-roche, qui en augmentant engendre des concentrations plus élevées en éléments en trace;
- (ii) l'environnement de dépôt des roches constituant le bassin d'alimentation des sources et écoulements : opposition des dépôts de plateforme et de pente/bassin.

La localisation des échantillons de Fontaine de Vaucluse autour des valeurs nulles de la dimension 1 ne permet d'éliminer aucune des hypothèses présentées ci-dessus. En effet, en tant qu'exutoire principal du système de Fontaine de Vaucluse, l'eau de cette source est un mélange de l'ensemble des eaux circulant sur le bassin d'alimentation comprenant des eaux récentes et plus anciennes (hypothèse (i), ayant circulées dans l'ensemble des environnements de dépôt des roches (hypothèse (ii)). En raison de leur caractère moins intégrateur et de leur échelle plus locale, les autres sources et écoulements sont plus capables d'évaluer les deux hypothèses proposées.

L'hypothèse (i) suppose que les fortes valeurs de la dimension 1, associées à de plus fortes concentrations en éléments en trace soient causées par de plus longs temps de transit (durée de l'interaction eau-roche). Cette hypothèse impliquerait de ce fait que les temps de transit soient croissants du LSBB/Millet, Fontaine de Vaucluse, St Trinit, Source de la Nesque jusqu'aux pertes de la Nesque. Cependant, la classification des temps de séjour moyen des sources suggérées par le TTI au chapitre 3 (partie IV.1) propose un temps de séjour croissant de la source de St Trinit, Millet, la Nesque à Fontaine de Vaucluse. Ainsi, il semble peu probable que le processus majoritaire reflété par la dimension 1 soit le temps de séjour. Néanmoins, le temps de transit est susceptible d'expliquer la variabilité temporelle des valeurs de la dimension 1 à une même source/écoulement car l'augmentation de la durée d'interaction eau-roche peut engendrer une augmentation des concentrations en éléments traces et par conséquent une augmentation de la valeur de la dimension 1.

L'hypothèse (ii), par analogie avec l'ACP des échantillons de roches (Figure 4.20), suppose que les fortes valeurs de la dimension 1 sont associées à des eaux ayant circulé dans des faciès externes (pente, bassin) par opposition aux faibles valeurs correspondant à des eaux ayant circulé dans des calcaires déposés en faciès interne (plateforme).

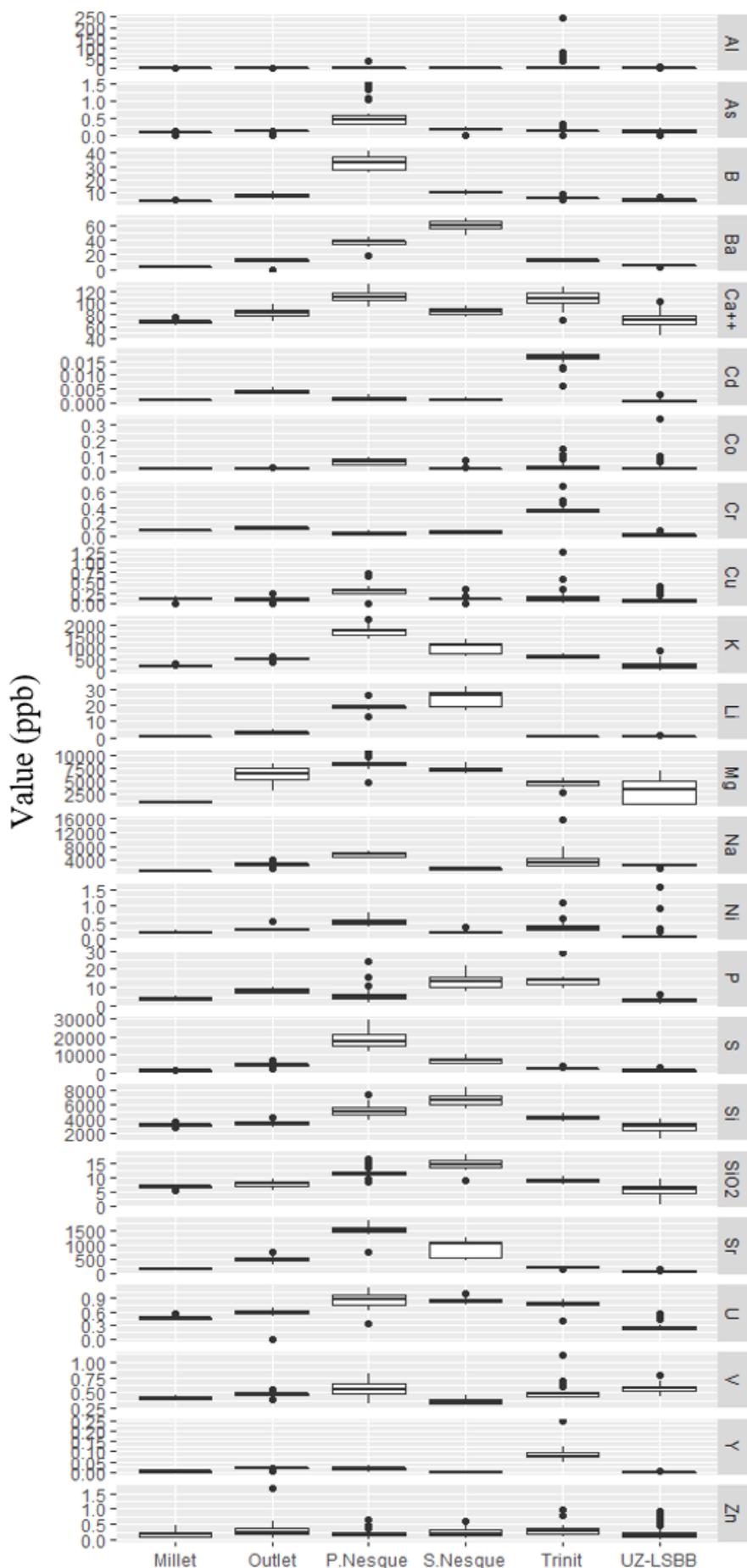


Figure 4.23 : Boxplot des 21 éléments en trace utilisés pour l'ACP présentée en Figure 4.22 pour les 6 types d'eau considérés: les sources de Millet, Fontaine de Vaucluse (Outlet), St Trinit, pertes et source de la Nesque et les écoulements du LSBB.

Cette hypothèse est à priori en adéquation avec le fait que la dimension 1 de l'ACP des échantillons d'eau représente la majorité des variables (Figure 4.22) et associe les plus fortes valeurs aux plus fortes concentrations en éléments en trace (e.g. pour la source et/ou les pertes de la Nesque : As, B, Ba, Co, Cu, K, Li, Mg, Na, Ni, S, Si, Sr, U; Figure 4.23).

Tout comme les échantillons de la source de St Trinit, ceux de la source de la Nesque et des pertes ont les valeurs de dimension 1 les plus élevées, ce qui signifierait en accord avec l'hypothèse (ii), que leur bassin d'alimentation est constitué de calcaires déposés en milieu externe (pente, bassin). Cette hypothèse est cohérente avec la signature géochimique des roches prélevées sur le bassin d'alimentation des sources de St Trinit et de la Nesque associée à des faciès externes par le clustering des roches (échantillons SN1, SN2, ST1, ST2, Figure 4.19). De plus, les calcaires de l'Oligocène (bassin de la Nesque) sont particulièrement marneux, et l'exploration spéléologique du réseau karstique de St Trinit a permis l'observation d'une importante épaisseur d'argile à la base des conduits résultant de la dissolution de la fraction carbonatée. A première vue, la dimension 1 de l'ACP des eaux semble bien correspondre à la dimension 1 de l'ACP des roches, indiquant de ce fait une forte influence géogénique.

Néanmoins, les plus faibles valeurs de la dimension 1 et plus faibles concentrations en éléments en trace sont associées aux eaux du LSBB et de Millet (Figure 4.23, Figure 4.22) alors que les échantillons de roches prélevés au niveau des écoulements du LSBB sont présents dans l'ensemble des groupes du clustering des roches. De plus, les échantillons de roches du bassin d'alimentation de Millet sont regroupés dans le cluster 2.2 associé aux environnements de dépôt de pente/bassin (Mi1 et Mi2, Figure 4.19). A priori, il n'y a donc pas de lien simple et direct entre les teneurs en éléments en trace des roches échantillonnées sur le bassin d'alimentation de ces points d'écoulement (LSBB et Millet), et les teneurs en éléments traces des eaux issues de ces mêmes bassins. Ce lien peut cependant être envisagé différemment, si l'on prend en compte le fait que les différents faciès présentent des propriétés hydrodynamiques contrastées, et que le temps d'interaction eau-roche est probablement également différent d'un faciès à l'autre, d'autant plus que l'on considère des eaux au temps de transit différents. Il est ainsi possible que les eaux de la source de Millet et du LSBB soient majoritairement stockées et/ou transitent dans des roches d'environnement de dépôt plutôt interne (plateforme), ce qui expliquerait leur faible valeur en dimension 1 et validerait l'hypothèse (ii). Dans le cas du LSBB, l'hypothèse est cohérente avec la coupe présentée Figure 4.26b. Les faciès déposés en milieu interne (plateforme interne et externe) y

dominant largement les dépôts de pente et de bassin. Dans le cas de la source de Millet, une étude géologique approfondie du bassin d'alimentation serait nécessaire.

- **Conclusion**

De façon générale, les 21 éléments en trace sélectionnés distinguent bien les diverses sources et écoulements observés et de façon cohérente, en lien avec les signatures identifiées pour les roches prélevées sur les bassins d'alimentation des sources et leur caractère anthropisé ou non. Ces premiers résultats mettent ainsi en évidence le potentiel des éléments en trace à être des traceurs des différentes lithologies carbonatées traversées par l'eau. Cependant, il existe deux limitations à ce stade de notre étude :

(1) Ces résultats ne permettent pas, à l'heure actuelle, de distinguer les eaux ayant circulé dans les différents environnements de dépôts, ne permettant que d'identifier l'influence du type de roches (calcaire vs calcaire marneux). Pour vérifier l'influence potentielle des environnements de dépôt, il faudrait tout d'abord procéder à la caractérisation géologique de l'aquifère de la source de Millet afin de savoir si la totalité de l'aquifère est développé dans des roches déposées en milieu externe (pente, bassin), ou si les roches de cet environnement de dépôt ne se retrouvent qu'en surface. De plus, l'ajout à l'ACP d'autres sources et écoulements interagissant avec des roches aux environnements de dépôt connus permettrait de compléter ces investigations. Il est également envisageable de considérer une échelle plus locale en se focalisant sur un site à la géologie bien contrainte comme au LSBB (abordé en partie B.II.2).

(2) La forte variabilité temporelle des valeurs de la dimension 1 peut être liée à une variation de la durée des interactions eau-roche qui peut altérer la signature en provenance des roches, pour une source ou un écoulement donné. Afin de limiter ce biais, il pourrait être intéressant de considérer des rapports d'éléments, impliquant par exemple le Sr (souvent substitué à Ca dans la fraction carbonatée) et/ou le Si (présent sous forme d'impuretés dans les carbonates; Figure 4.24). Un diagramme binaire des teneurs en Sr et Si (Figure 4.24) distingue en effet les différents écoulements, avec une plus forte concentration en Sr et Si des eaux de la source de la Nesque et des pertes et des faibles teneurs en Sr au LSBB. Ces différences pourraient être liées à la géochimie des roches des bassins d'alimentation de ces différentes sources et écoulements. Une confirmation du lien entre ces ratios et la nature de la roche encaissante nécessiterait de prendre en compte, en sus des teneurs des roches en ces éléments, la mobilité

des éléments (e.g solubilité, capacité d'adsorption) ainsi que la solubilité des phases (minérales ou non) auxquelles ils sont associés, aux conditions Eh et pH des eaux étudiées.

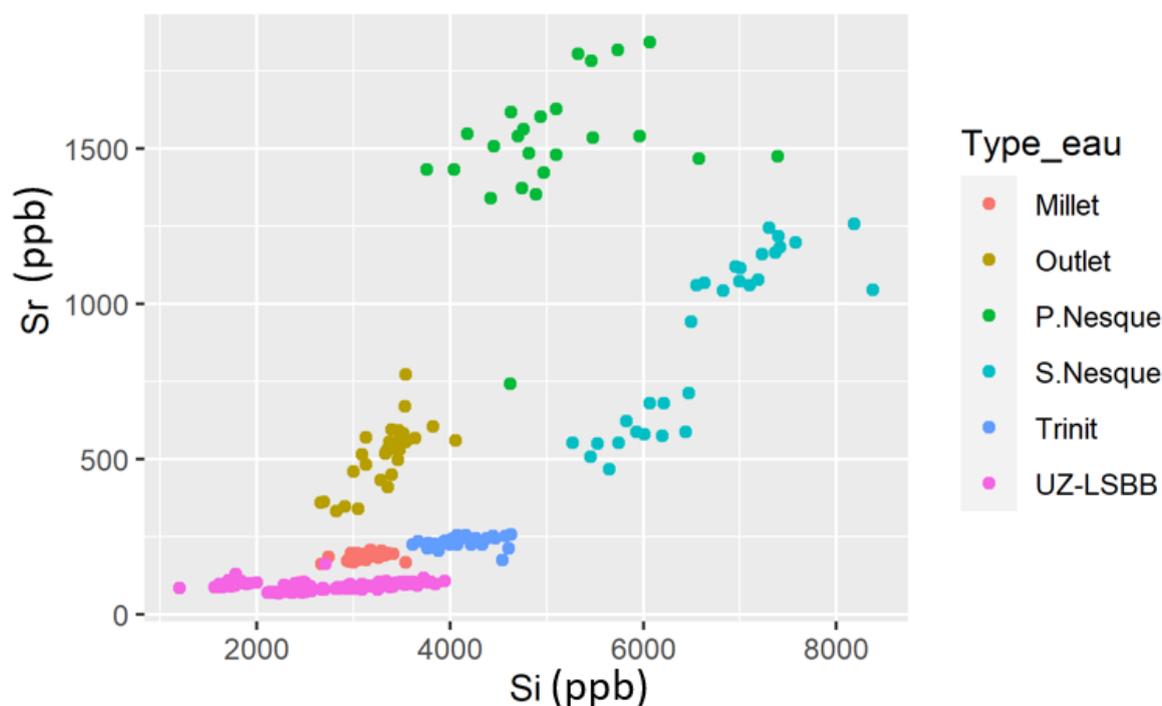


Figure 4.24 : Diagramme binaire des concentrations en Sr et Si (en ppb) des eaux des sources (Millet, Fontaine de Vaucluse, la Nesque, St Trinit), pertes de la Nesque, et des écoulements du LSBB.

B.II.2 Distinction des écoulements en zone non saturée sur le site du LSBB (échelle locale)

Les environnements de dépôts rencontrés sur le site du LSBB sont très variés (plateforme externe, plateforme interne, pente et bassin, Figure 4.26b). Les points d'écoulement situés tout au long du tunnel ont des localisations différentes vis-à-vis de ces différents environnements de dépôts, et donc des bassins d'alimentation faisant intervenir en proportions variables ces environnements. Cette section vise à évaluer l'aptitude des éléments en trace à distinguer les écoulements en zone non saturée du LSBB et le lien entre les signatures en éléments trace de ces écoulements et les différents calcaires traversés.

- **Signature hydrochimique des eaux du secteur du LSBB**

L'ACP des échantillons d'eau prélevés au LSBB (écoulements A, AJ, B, C, D et W) est présentée en Figure 4.25. Les variables utilisées sont les mêmes que pour les précédents traitements : Ca et SiO₂ issus de l'analyse des éléments majeurs ainsi que Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse par ICP-MS (corrélation entre les variables en annexe 4.11). La proportion de la variance totale du jeu de

données expliquée par la dimension 1 atteint 34,3 %, et celle de la seconde dimension 16,9 % (autres dimensions en annexe 4.11).

Contrairement aux ACP précédentes, la majorité des variables n'est pas principalement représentée par une même dimension. On peut néanmoins observer qu'une majorité des variables est représentée par les valeurs positives de la dimension 1 (K, Li, Mg, Si, SiO₂, Ba et Na), qui est également celle qui distingue le mieux les différents écoulements.

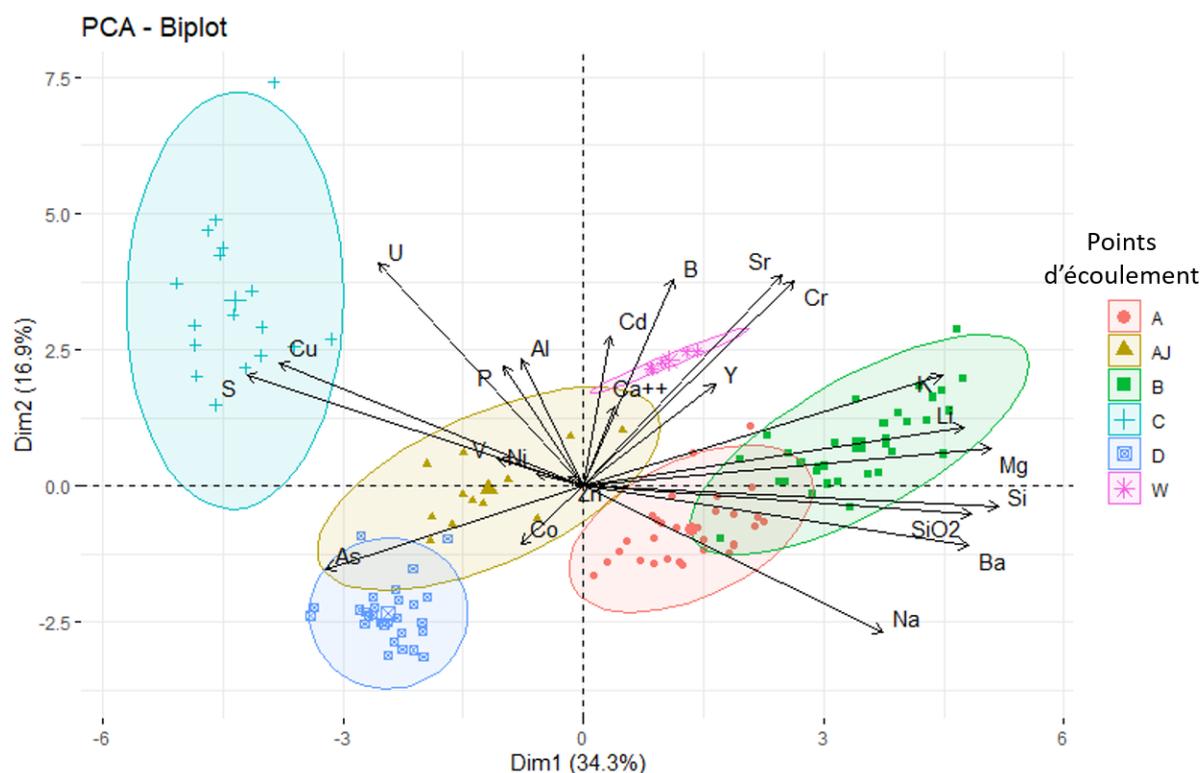


Figure 4.25 : Représentation des variables et des individus pour les dimensions 1 et 2 de l'ACP réalisée pour les échantillons d'eau du LSBB prélevés de juin 2020 à octobre 2021 (écoulements A, AJ, B, C, D, W) à partir des variables suivantes : Ca⁺⁺ et SiO₂ issus de l'analyse des éléments majeurs et Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U issus de l'analyse par ICP-MS.

Trois hypothèses peuvent être évoquées :

- (1) Par analogie avec l'ACP sur la totalité des échantillons d'eau étudiées sur le système de Fontaine de Vaucluse (Figure 4.19, partie B.II.1), on peut supposer que les valeurs positives de la dimension 1 représentant le plus grand nombre de variables sont associées à la signature des faciès plutôt externes. Ainsi, l'écoulement C serait influencé par des faciès les plus internes, contrairement à l'écoulement B.
- (2) Il est possible que les concentrations en éléments en trace soient influencées par les temps de séjour à l'échelle du LSBB. Les valeurs positives de la

dimension 1 pourraient ainsi être associées à des temps de séjour plus longs du fait de fortes teneurs en silice, magnésium et lithium (Edmunds and Smedley, 2000; Lastennet and Mudry, 1997; Morgantini et al., 2009), et les valeurs négatives à des temps de séjours plus courts. Sous cette hypothèse l'écoulement C présenterait les plus courts temps de séjour, et B les plus longs.

- (3) Il est aussi possible que le référentiel du clustering des roches sur l'ensemble du système Fontaine de Vaucluse ne soit pas adapté à la petite échelle du LSBB car il ne permettrait pas d'atteindre un niveau de précision suffisant.

L'hypothèse (1) semble plausible car la dimension 1 distingue les écoulements A, B et W émergeant en dessous de calcaires déposés en milieu de pente des écoulements D, C et AJ situés au-dessus de cette formation. Ainsi, les écoulements A, B et W sont susceptibles d'être influencés par ce faciès externe contrairement aux écoulements D, C et AJ. De plus, la plus faible valeur de dimension 1 est attribuée à l'écoulement C. Au-dessus de ce dernier on retrouve un rapport d'épaisseur de calcaires déposés en plateforme interne / plateforme externe bien plus important qu'au-dessus des autres écoulements ($\gg 50\%$; Figure 4.26), suggérant ainsi, dans le cas où l'infiltration serait majoritairement verticale, que les calcaires déposés en plateforme interne sont plus susceptibles d'influencer l'hydrochimie de l'écoulement C que celle des autres écoulements. A l'opposé, les plus fortes valeurs de la dimension 1 sont attribuées à l'écoulement B qui résulte probablement d'une infiltration le long d'une faille puis d'un écoulement au sein du faciès de pente/bassin, le long de l'interface peu perméable correspondant à l'intervalle stratigraphique UB.d1b (Figure 4.26). L'écoulement B semble ainsi présenter le plus long trajet (en distance et peut-être en temps) au sein d'un calcaire déposé en plateforme externe.

L'hypothèse (2) est également plausible. En effet, si on considère que la valeur de la dimension 1 augmente avec le temps de séjour, la classification des écoulements donne des temps de séjours croissants de l'écoulement C, D/AJ, W/A, B. Cette classification est proche de celle obtenue par la fluorescence de la matière organique (Chapitre 3, partie V), attribuant des temps de séjours croissants de l'écoulement C, AJ, D, A à B.

Enfin, il est essentiel de considérer l'hypothèse (3). En effet, la variabilité des environnements de dépôt (plateforme et pente/bassin) distingue les signatures en éléments en trace des roches à l'échelle du système Fontaine de Vaucluse. Cependant, à l'échelle du LSBB, les environnements de dépôt des roches sont principalement de plateforme interne ou externe. Il est ainsi indispensable de caractériser les signatures en éléments en trace des roches à l'échelle spécifique et locale du LSBB afin d'interpréter l'ACP en Figure 4.25.

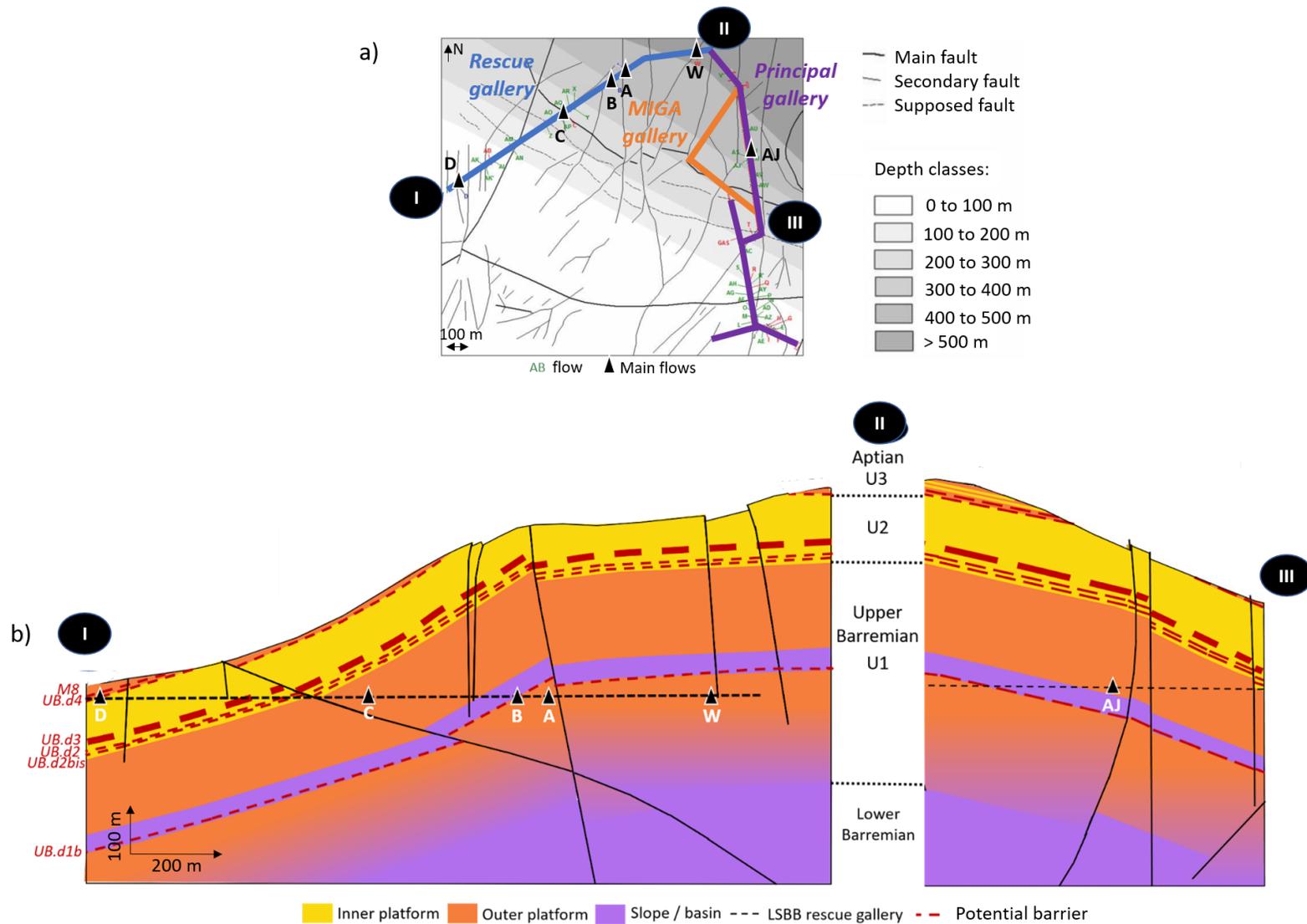


Figure 4.26 : Coupe géologique projetée des galeries du LSBB faisant apparaître avec les failles, les potentielles barrières aux écoulements et les environnements géologiques. Les unités stratigraphiques U1, U2 et U3 correspondent aux trois niveaux de l'Urgonien décrit par Leenhardt (1883).

● **Signature géochimique des roches du secteur du LSBB**

Dans cet objectif, un nouveau clustering hiérarchique selon les mêmes paramètres que le clustering présenté en Figure 4.19 a été réalisé en reprenant uniquement les échantillons de roches prélevés sur le secteur du LSBB (Figure 4.27). Les éléments sélectionnés ne permettent pas, à cette échelle, de distinguer les échantillons de roches en fonction de leur environnement de dépôt. D'autres paramètres tels que la séquence de dépôt, ou le type de diagenèse subie sont susceptibles d'expliquer cette classification mais nécessitent plus d'investigations.

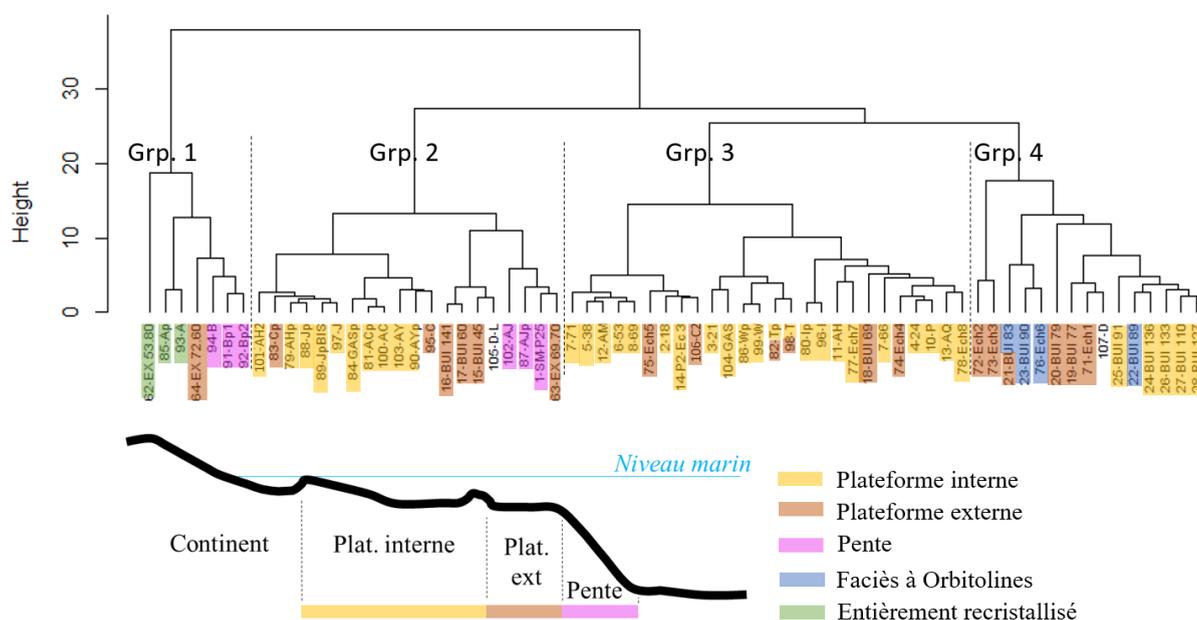


Figure 4.27 : Dendrogramme résultant du clustering hiérarchique avec calcul des distances Euclidiennes sur les échantillons de roches prélevés dans le secteur de Rustrel (LSBB et Buissonnière) et selon les 21 variables suivantes : Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U.

Les signatures en éléments en trace des 4 groupes identifiés par le clustering des échantillons de roches du LSBB (voir ACP, Figure 4.28, corrélation entre les variables en annexe 4.12) sont différentes de celles des clusters issus de l'analyse de l'ensemble des échantillons de roches du système Fontaine de Vaucluse (Figure 4.20, partie B.I.2). Par rapport à l'ACP sur l'ensemble des échantillons de roches, les dimensions 1 et 2 de l'ACP sur les roches du secteur du LSBB (Figure 4.28) représentent moins bien les différentes variables (25,3 % et 13,3 %, autres dimensions en annexe 4.12) et la dimension 1 ne représente pas la majorité des variables. On remarque en revanche qu'une partie des variables (V, U, Cd et Cr) contribuant majoritairement à la dimension 2 de l'ACP de l'ensemble des échantillons de roches

(Figure 4.28). Il en est de même pour les valeurs positives de la dimension 1 qui est associée dans les deux ACP aux variables suivantes : Mg, Si, Li et Ba. Cela pourrait provenir d'un marquage des eaux du LSBB en lien avec les roches traversées à cette échelle. Cependant ce lien est moins évident pour les eaux du LSBB que pour les eaux de l'ensemble du système Fontaine de Vaucluse. Cela pourrait être lié aux plus faibles temps de séjour du LSBB qui ne permettent probablement pas de temps d'interaction eau-roche suffisant pour acquérir de façon aussi complète la signature géochimique des roches traversées comparé aux sources. De plus, la sélection des éléments utilisés pour ces traitements statistiques est basée sur le nombre de valeurs au-dessus des limites de détection et de quantification à l'échelle de toutes les eaux du système. Il pourrait être pertinent d'adapter cette sélection aux écoulements du LSBB afin de vérifier que cette cohérence limitée entre les ACP des signatures en éléments en trace des eaux et des roches à cette échelle ne soit pas liée au remplacement des données manquantes ($<$ aux limites de détections LD) par LD/10 (abordé en partie A.II.3).

-Conclusion-

Les éléments en trace en milieu carbonaté: vers un traceur naturel des chemins empruntés par l'eau

En l'absence de contamination anthropique, la principale source d'éléments en trace dans les eaux souterraines est la dissolution des roches. Au sein des roches carbonatées, les concentrations en éléments en trace varient en fonction de différents paramètres tels que l'environnement de dépôt ou encore la diagenèse.

Afin d'étudier le potentiel des éléments en trace pour distinguer différentes lithologies carbonatées traversées par l'eau, une méthode d'analyse des roches a été développée permettant d'extraire uniquement la signature géochimique de la fraction carbonatée de 107 échantillons de calcaires prélevés sur le système de Fontaine de Vaucluse. Une méthode de prélèvement des eaux adaptée aux conditions particulières des écoulements en zone non saturée du LSBB (poussière, équipement de la galerie) a également été développée.

L'analyse statistique par clustering de la géochimie des roches distingue les signatures en éléments en trace des environnements de dépôts internes (plateforme) de celles des environnements externes (pente/bassin). De plus fortes concentrations pour la majorité des éléments en trace constituent la caractéristique principale de la signature géochimique des faciès externes.

Les analyses en composantes principales réalisées sur i) l'ensemble des eaux du système de Fontaine de Vaucluse (sources de Fontaine de Vaucluse, Millet, St Trinit, la Nesque, pertes de la Nesque et écoulements du LSBB), ii) ainsi que uniquement sur l'ensemble des écoulements du LSBB, mettent en évidence l'aptitude des éléments en trace à distinguer les sources et écoulements. Cependant, ces distinctions ne peuvent pas encore être reliées à la circulation d'eau au sein de différents environnements de dépôts. Néanmoins, à l'échelle régionale de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse, les variations observées dans les eaux ont pu être liées à l'influence du type de roches traversées (calcaire vs calcaire marneux). A l'échelle locale du LSBB, la signature hydrochimique des eaux semble au moins en partie provenir de celle des roches, mais les résultats actuels ne permettent pas encore d'identifier les paramètres à l'origine des différentes signatures géochimiques des échantillons de roche, ce qui rend difficile la validation de l'hypothèse de la transmission de ces signatures à l'eau.

De façon générale, à ce stade de notre étude nous avons pu mettre en évidence deux axes de travail à renforcer pour la suite des investigations :

- La nécessité de sélectionner les échantillons de roches à considérer en fonction de l'échelle spatiale des échantillons d'eaux étudiés (e.g. utiliser uniquement les échantillons de roches du LSBB lorsqu'on considère les eaux du LSBB). Il est aussi nécessaire d'adapter la sélection des éléments en trace en fonction des eaux étudiées afin de ne considérer que les éléments en trace les plus fréquemment mesurés, par exemple en éliminant Cd et Y très peu présents dans les eaux du LSBB;
- Le temps de transit est étroitement lié à la lithologie puisqu'il dépend des propriétés structurales et hydrodynamiques des roches traversées (porosité, perméabilité, karstification, connectivité des réseaux de fracture, ...), ces propriétés étant elles-mêmes liées à l'hétérogénéité des sédiments déposés et aux modifications post-dépôt. Néanmoins, le temps de transit est susceptible de constituer un biais dans l'étude des liens entre les signatures en éléments en trace des eaux et des roches telle que réalisée dans ce chapitre, c'est-à-dire en considérant l'ensemble des éléments en trace dans une ACP. En effet, bien que le temps de transit ne semblait pas être un paramètre majeur affectant la distribution des échantillons d'eau sur l'ACP, une augmentation des concentrations a été identifiée comme discriminante des deux principales signatures géochimiques des roches du système Fontaine de Vaucluse. Ainsi, l'augmentation du temps de transit engendre une augmentation des concentrations en éléments en trace, ce qui peut constituer un biais à la signature en éléments en trace d'origine géogénique, au moins à l'échelle d'une même source ou écoulement. Afin de limiter ce biais potentiel lié au temps de transit, il pourrait être pertinent d'ajouter des traceurs naturels des temps de transit dans l'ACP des eaux (e.g. fluorescence de la matière organique), ou de considérer des rapports d'éléments en trace pour caractériser les signatures géochimiques tels que Ca/Sr, ou encore Sr/Si.

Bien que le traitement des données acquises et leur interprétation nécessitent encore d'être approfondis, le potentiel des éléments en trace semble bien présent étant donné les similarités entre les ACP réalisées sur les roches et celles sur les eaux qui ont pu être observées à différentes échelles (ensemble du système de Fontaine de Vaucluse et LSBB). Cependant il faut encore caractériser ces signatures et mieux appréhender les processus de transfert de la signature géochimique de la roche à l'eau. De façon générale, les éléments en trace pourraient potentiellement permettre d'identifier différents compartiments contribuant à un exutoire,

notamment à Fontaine de Vaucluse, permettant ainsi d'améliorer la compréhension des chemins empruntés par l'eau au sein des carbonates et de ce fait d'améliorer la compréhension des mécanismes de recharge, connaissance essentielle à la préservation de la ressource en eau karstique.

Annexe 4.1 : Liste des échantillons de roches

	Echantillon	Lieu d'échantillonnage	Environnement de dépôt	Lithologie
1	SM-P25	LSBB - SC Miga	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
2	18	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
3	21	LSBB - P1	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
4	24	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
5	38	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
6	53	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
7	66	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
8	69	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
9	71	LSBB - P1	Inner PF	FA3-Rudist facies
10	P	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
11	AH	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
12	AM	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
13	AQ	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
14	P2-Ec 3	LSBB - P2	Inner PF	FA3-Rudist facies
15	BUI 45	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
16	BUI 141	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
17	BUI 60	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
18	BUI 69	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
19	BUI 77	Buissonière	Outer PF	FA6-Ooidal facies
20	BUI 79	Buissonière	Outer PF	FA6-Ooidal facies
21	BUI 83	Buissonière	MIX	FA14-palorbitolina facies et FA6-Ooidal facies
22	BUI 89	Buissonière	Orbitolines	FA14-palorbitolina facies
23	BUI 90	Buissonière	Orbitolines	FA14-palorbitolina facies
24	BUI 136	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
25	BUI 91	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
26	BUI 133	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
27	BUI 110	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
28	BUI 127	Buissonière	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
29	RB38	Carrière de Lagnes	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
30	RB24	Carrière de Lagnes	Outer PF	FA5-Coral facies
31	RB57	Carrière de Lagnes	MIX	FA3-Rudist facies et FA7 (Bioclastic facies) ou FA8 (Very fine bioclastic facies)
32	RB54	Carrière de Lagnes	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
33	RB69	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
34	RB79	Carrière de Lagnes	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
35	RB77	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
36	RB91	Carrière de Lagnes	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
37	240	Font Jouval Combe	Outer PF	FA6-Ooidal facies
38	213	Font Jouval Combe	Slope	FA10-Platform-derived bioclastic facies
39	216	Font Jouval Combe	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
40	227	Font Jouval Combe	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
41	268	Font Jouval Combe	Inner PF	FA3-Rudist facies
42	109	Font Jouval Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
43	22.B	Font Jouval Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
44	323	La Sigalière Combe	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
45	V2	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
46	V4	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
47	V8	Vaulongue Combe	Outer PF	FA7-Bioclastic facies

48	V15	Vaulongue Combe	Inner PF	FA3 (Rudist facies) ou FA4 (Coral–Rudist gravel facies)
49	V19	Vaulongue Combe	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
50	M.21	Murs	Inner PF	FA3-Rudist facies
51	L.35	Col de la Ligne	Inner PF	FA3-Rudist facies
52	N.90	Gorges de la Nesque-la Lauze	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
53	N.27	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF	FA5-Coral facies
54	N.22	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF	FA6-Ooidal facies
55	N.13	Gorges de la Nesque-la Lauze	Outer PF to slope	FA8 (Very fine bioclastic facies) / FA8 (Finely-laminated bioclastic facies)
56	N.2	Gorges de la Nesque-la Lauze	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
57	BR74	Brantes	Basin	FA11-Basinal limestone facies
58	BR62T	Brantes	Basin	FA11-Basinal limestone facies
59	MAR.BAN2	Banon	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
60	SAR.BAN	Banon	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
61	5.13	St Christol- Aubert Aven	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
62	EX 53.80	LSBB - Miga explo		Recristallisé
63	EX 69.70	LSBB - Miga explo	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
64	EX 72.60	LSBB - Miga explo	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
65	SN1	Source de la Nesque	lacustre avec influence marine	grès à oestracodes, quartz et milioles, bioturbé
66	SN2	Source de la Nesque	lacustre avec influence marine	grès à oestracodes, quartz et milioles, bioturbé
67	ST1	Source de St Trinit	Outer PF to slope	FA8-Very fine bioclastic facies
68	ST2	Source de St Trinit	Outer PF to slope	FA8-Very fine bioclastic facies
69	Mi1	Source de Millet	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
70	Mi2	Source de Millet	Outer PF to slope	FA9-Finely-laminated bioclastic facies
71	Ech1	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
72	Ech2	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
73	Ech3	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
74	Ech4	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
75	Ech5	Buissonière	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
76	Ech6	Buissonière	Orbitolines	FA14-Palorbitolina facies
77	Ech7	Buissonière	Inner PF	FA3-Rudist facies
78	Ech8	Buissonière	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
79	AHp	LSBB	Inner PF	FA7-Bioclastic facies
80	Ip	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
81	ACp	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
82	Tp	LSBB	MIX	FA7-Bioclastic facies et FA3-Rudist facies
83	Cp	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
84	GASp	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies et FA3-Rudist facies
85	Ap	LSBB		Recristallisé
86	Wp	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
87	AJp	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
88	Jp	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
89	JpBIS	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
90	AYp	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
91	Bp1	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
92	Bp2	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies

93	A	LSBB		Recristallisé
94	B	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
95	C	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
96	I	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
97	J	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies
98	T	LSBB	MIX	FA7-Bioclastic facies et FA3-Rudist facies
99	W	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
100	AC	LSBB	Inner PF	FA3-Rudist facies
101	AH2	LSBB	Inner PF	FA7-Bioclastic facies
102	AJ	LSBB	Slope	FA8-Very fine bioclastic facies
103	AY	LSBB	Inner PF	FA2-Peloidal-Foraminiferal facies
104	GAS	LSBB	Inner PF	FA8-Very fine bioclastic facies et FA3-Rudist facies
105	D-L	LSBB	Outer PF	non identifié
106	C2	LSBB	Outer PF	FA7-Bioclastic facies
107	D	LSBB	Outer PF	non identifié

Annexe 4.2 : Protocole de test à l'HCL 0.15M

- 1/ Peser 50 mg d'échantillon, dans des tubes adaptés à la centrifugeuse
- 2/ Sous la hotte, ajouter 10 mL d'HCl à 0.15M, fermer et mettre parafilm autour des bouchons
- 3/ Table d'agitation pendant 19h à 300 tr/min
- 4/ Centrifugation à 4000 tr/min pendant 5 min
- 5/ Filtration à 0,22 μm (filtre PVDF) après rinçage du filtre et de la seringue avec 10 mL d'HCl 0.15M
- 6/ Évaporer l'HCl sur plaque à 70°C le jour, 60°C la nuit, éteindre avant l'évaporation de la dernière micro-goutte
- 7/ Ajouter 15 mL d'HNO₃ 10%, peser
- 8/ Ultrasons 15 min
- 9/ Prendre 1 mL et mettre dans tubes ICP-Ms (peser), compléter à 10g d'eau (peser)
- 10/ Passer à l'ICP-MS

**Annexe 4.3 : Résultats bruts du test de la dissolution des
calcaires par HCl 0.15M**

	Blanc	Blanc filtration	S1	S2	S3	Jp	BR62T
Li	<LD	<LD	0,14	0,19	0,13	0,04	0,20
B	<LD	<LD	<LQ	0,79	0,76	<LD	<LQ
Na	0,91	0,75	21,89	27,02	23,20	15,20	39,02
Mg	<LD	<LD	489,77	542,45	494,78	563,96	689,00
Al	<LD	<LD	160,81	171,64	167,85	2,94	83,14
Si	<LD	<LD	166,46	194,87	167,00	<LQ	58,44
P	<LD	<LD	65,19	71,48	67,11	5,53	53,94
S	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
K	<LD	<LD	103,49	113,82	106,58	3,01	36,89
Ca	<LD	<LD	140593,62	159206,13	142550,46	143187,21	135840,01
Ti	<LD	<LD	0,58	0,47	0,56	<LQ	0,13
V	<LD	4,03E-03	0,76	0,84	0,82	2,19	0,92
Cr	<LD	<LQ	1,65	1,82	1,71	0,71	0,93
Mn	<LD	<LD	71,71	80,32	71,56	2,95	37,42
Fe	<LD	<LD	343,26	377,80	345,37	5,29	650,91
Co	<LQ	<LD	0,07	0,07	0,07	0,00	0,07
Ni	0,01	0,01	0,42	0,44	0,42	0,05	0,37
Cu	<LD	<LD	0,13	0,13	0,13	<LQ	0,42
Zn	<LQ	<LD	2,33	2,34	2,28	0,55	2,92
Ga	<LD	<LD	0,12	0,13	0,12	0,01	0,31
As	<LD	<LD	0,10	0,10	0,10	<LD	0,16
Se	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	0,31
Rb	<LD	<LD	0,25	0,27	0,27	<LQ	0,15
Sr	<LD	<LD	86,47	95,61	85,16	84,31	340,63
Y	<LD	<LD	1,31	1,44	1,29	0,18	4,72
Mo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Ag	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Cd	<LD	<LD	0,08	0,08	0,08	0,04	0,06
Sn	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sb	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	<LD
Cs	<LD	<LD	<LQ	<LQ	<LQ	<LD	0,00
Ba	<LD	<LD	6,64	7,32	6,41	0,25	95,82
La	<LD	<LD	0,77	0,84	0,76	0,06	2,89
Ce	<LD	<LD	0,91	1,00	0,90	0,05	2,53
Pr	<LD	<LD	0,14	0,16	0,14	0,01	0,56
Nd	<LD	<LD	0,61	0,67	0,60	0,04	2,59
Sm	<LD	<LD	0,12	0,13	0,12	0,01	0,53
Eu	<LD	<LD	0,03	0,03	0,03	0,00	0,14
Tb	<LD	<LD	0,02	0,02	0,02	0,00	0,09
Gd	<LD	<LD	0,14	0,15	0,14	0,01	0,64
Dy	<LD	<LD	0,13	0,15	0,13	0,01	0,56
Ho	<LD	<LD	0,03	0,03	0,03	0,00	0,11
Er	<LD	<LD	0,08	0,09	0,08	0,01	0,32
Tm	<LD	<LD	0,01	0,01	0,01	0,00	0,04
Yb	<LD	<LD	0,06	0,07	0,06	0,01	0,25
Lu	<LD	<LD	0,01	0,01	0,01	0,00	0,03
Tl	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Pb	<LD	<LD	0,21	0,23	0,21	0,03	0,27
Th	<LD	<LD	0,03	0,05	0,05	0,01	0,12
U	<LD	<LD	0,29	0,32	0,28	0,55	0,19

**Annexe 4.4 : valeurs de référence du CRM NIST-1d
calcaire argileux**



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material[®] 1d

Limestone, Argillaceous

This Standard Reference Material (SRM[®]) is intended primarily for use in evaluating chemical and instrumental methods of analysis of limestone and related materials. SRM 1d is composed of argillaceous limestone quarried in Putnam County, Indiana, USA. A unit of SRM 1d consists of a single bottle containing approximately 70 g of material of which 97 % passes a 75 μm (No. 200) sieve.

The certified values for 12 constituents in SRM 1d are listed in Table 1. Reference values for four constituents and loss on ignition (1000 °C) are listed in Table 2. Information values for 26 constituents and loss on ignition (1200 °C) are listed in Table 3. All values are reported as mass fractions [1] on a dry basis. Value assignment categories are based on the definition of terms and modes used at NIST for chemical reference materials [2], and uncertainties are assessed according to the ISO and NIST Guides [3]. Analytical methods employed in the development of this material are listed in Table 4.

Certified Values: A NIST certified value is a value for which NIST has the highest confidence in its accuracy, in that all known or suspected sources of bias have been investigated or accounted for by NIST. A certified value is the present best estimate of the true value based on the results of analyses performed at NIST and cooperating laboratories. The uncertainty listed with the value is an expanded uncertainty (95 % confidence interval [4]) and is calculated in conformance with the methods in the ISO and NIST Guides [3].

Reference Values: Reference values are non-certified values that are the present best estimates of the true values. However, the values do not meet the NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may not include all components of uncertainty. The uncertainty listed with the value is an expanded uncertainty (95 % confidence interval [4]) and is calculated in conformance with the methods in the ISO and NIST Guides [3].

Information Values: An information value is considered to be a value that will be of interest and use to the SRM user, but insufficient information is available to assess the uncertainty associated with the value.

Constituent Assignment: The constituents listed in this Certificate of Analysis are expressed as the chemical forms given in ASTM C 25-99 [5]. Gravimetric factors used at NIST were calculated from the IUPAC recommended atomic weights [6].

Expiration of Certification: The certification of this SRM is valid until **01 October 2024**, within the uncertainty specified, provided the SRM is handled and stored in accordance with the instructions given in this certificate (see "Instructions for Use"). However, the certification will be nullified if the SRM is damaged or contaminated.

Stability: This material is considered to be stable during the period of certification when stored in its original container in a cool, dry location. NIST will monitor this material and will report any significant changes in certification to the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

The overall direction and coordination of the technical measurements leading to the certification of this SRM were performed by J.R. Sieber of the NIST Analytical Chemistry Division.

Stephen A. Wise, Chief
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899
Certificate Issue Date: 18 February 2005

Robert L. Watters, Jr., Chief
Measurement Services Division

Analytical measurements for certification of this SRM were performed by J.R. Sieber and A.F. Marlow of the NIST Analytical Chemistry Division.

Statistical consultation was provided by S.D. Leigh of the NIST Statistical Engineering Division.

The support aspects involved in the issuance of this SRM were coordinated through the NIST Standard Reference Materials Program by B.S. MacDonald of the NIST Measurement Services Division.

Material Preparation: The material for SRM 1d was obtained from Lone Star Industries, Inc.¹, Indianapolis, Indiana. The raw material was collected under the direction of W.D. Robinson, Lone Star Concrete, Greencastle, IN. Preparation of the SRM and contributing chemical analyses were performed by the U.S. Geological Survey (USGS) under the direction of S.A. Wilson. Homogeneity assessment was done by NIST using measurements performed at USGS.

INSTRUCTIONS FOR USE

To relate analytical determinations to the values on this Certificate of Analysis, a minimum sample quantity of 200 mg should be used. It is recommended to mix the contents of the bottle prior to sampling by turning the bottle end over end for two minutes. The sample should be dried according to the "Instructions for Drying". If particle size reduction is performed, it is the user's responsibility to prevent contamination or loss of material.

Instructions for Drying: The material must be dried at 105 °C to 110 °C in air for 2 h prior to analysis. Typical mass loss on drying is approximately 0.2 %.

Table 1. Certified Values for SRM 1d Limestone, Argillaceous

Constituent	Mass Fraction (%)	Expanded Uncertainty (%)
Na ₂ O	0.0109	0.0016 ^a
MgO	0.301	0.010 ^a
Al ₂ O ₃	0.526	0.013 ^a
SiO ₂	4.080	0.071 ^a
P ₂ O ₅	0.0413	0.0025 ^a
S	0.1028	0.0062 ^a
K ₂ O	0.1358	0.0046 ^a
CaO	52.85	0.16 ^a
Mn	0.0209	0.0005 ^a
Fe ₂ O ₃	0.3191	0.0068 ^a
ZnO	0.0022	0.0003 ^b
SrO	0.0303	0.0010 ^a

^a The assigned value is a weighted mean of the results from two to seven analytical methods. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean, with a coverage factor 2 (approximately 95 % confidence), calculated by combining a between-source variance incorporating inter-method bias with a pooled within-source variance following the ISO and NIST Guides [3,7].

^b The assigned value is an unweighted mean of the results from two to five analytical methods. The uncertainty listed with the value is an expanded uncertainty about the mean, with coverage factor 2, calculated by combining a between-method variance with a pooled, within-method variance following the ISO and NIST Guides [3,8].

¹ Certain commercial equipment, instruments, or materials are identified in this report to adequately specify the experimental procedure. Such identification does not imply recommendation or endorsement by the NIST, nor does it imply that the materials or equipment identified are necessarily the best available for the purpose.

Table 2. Reference Values for SRM 1d Limestone, Argillaceous

Constituent	Mass Fraction (%)	Expanded Uncertainty (%)
C	11.50	0.25 ^b
TiO ₂	0.0306	0.0065 ^b
Cr ₂ O ₃	0.0012	0.0002 ^b
BaO	0.0033	0.0011 ^b
Loss on Ignition (1000 °C)	41.57	0.06 ^a

^a The assigned value is a weighted mean of the results from two to seven analytical methods. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean, with a coverage factor 2 (approximately 95 % confidence), calculated by combining a between-source variance incorporating inter-method bias with a pooled within-source variance following the ISO and NIST Guides [3,7].

^b The assigned value is an unweighted mean of the results from two to five analytical methods. The uncertainty listed with the value is an expanded uncertainty about the mean, with coverage factor 2, calculated by combining a between-method variance with a pooled, within-method variance following the ISO and NIST Guides [3,8].

Table 3. Information Values for SRM 1d Limestone, Argillaceous

Constituent	Mass Fraction (mg/kg)	Constituent	Mass Fraction (mg/kg)
Be	0.1	Nb	0.7
Cd	0.3	Nd	3
Ce	4	Ni	4
Cl	130	Pr	0.6
Cs	0.4	Rb	6
Dy	0.6	Sm	0.5
Er	0.4	Sn	1
Eu	0.1	Tb	0.09
F	160	Th	0.5
Ga	1	U	1
Gd	0.5	V	10
Ho	0.1	Y	5
La	4	Yb	0.3
Loss on Ignition (1200 °C) ^c	41.6 %	Dry Brightness (Y) ^d	80.03

^c Note: Loss on Ignition [5] has units of %, not mg/kg.

^d Dry Brightness (Y) [9] is reported as a unit-less quantity.

Table 4. Analytical Methods Used in Elemental Determinations

Method	Constituents Determined
Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry (WDXRF) at NIST [10,11]	Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Zn, Sr
Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry (WDXRF) at Cooperating Laboratories	Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Zn, Sr, Ba
Inductively-Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) at Cooperating Laboratories	Be, Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Sr, Sn, Ba
Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) at Cooperating Laboratories	Be, V, Ni, Ga, Rb, Y, Nb, Cd, Sn, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb, Th, U
Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (FAAS) at Cooperating Laboratories	Na, K
Combustion with Infrared Detection at Cooperating Laboratories	C, S
Potentiometric Titration at Cooperating Laboratories	F, Cl

Cooperating Laboratories: Analytical determinations for certification of SRM 1d were performed by the following laboratories:

Acme Analytical, Laboratories Ltd.; Vancouver, British Columbia, Canada; R. McCaffrey, W. Szeto
Carmeuse Lime, Inc.; Annville, PA; J. Morrow
Carmeuse Technology Center; Pittsburgh, PA; M. Houghton
Construction Technology Laboratories, Inc.; Skokie, IL; D. Broton, M. Bharucha
Newmont Mining Corp.; Englewood, CO; C. Bucknam
Specialty Minerals, Inc.; Easton, PA; R. Kroc, G. Hevner, T. Rissmiller, G. Tomaino
United States Geological Survey; Denver, CO; S. Wilson, J. Taggart, Z. Brown, A. Meier, M. Adams, P. Briggs

REFERENCES

- [1] Taylor, B.N.; *Guide for the Use of the International System of Units (SI)*; NIST Special Publication 811; U.S. Government Printing Office: Washington, DC (1995).
- [2] May, W.E.; Parris, R.M.; Beck II, C.M.; Fassett, J.D.; Greenberg, R.R.; Guenther, F.R.; Kramer, G.W.; Wise, S.A.; Gills, T.E.; Colbert, J.C.; Gettings, R.J.; MacDonald, B.S.; *Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements*; NIST Special Publication 260-136, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, p. 16 (2000).
- [3] ISO; *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*; ISBN 92-67-10188-9, 1st ed.; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland (1993); see also Taylor, B.N.; Kuyatt, C.E.; *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*; NIST Technical Note 1297; U.S. Government Printing Office: Washington, DC (1994); available at <http://physics.nist.gov/Pubs/>.
- [4] Hahn, G.J., and Meeker, W.Q.; *Statistical Intervals: A Guide for Practitioners*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, NY(1991).
- [5] ASTM C 25-99; *Standard Test Methods for Chemical Analysis of Limestone, Quicklime, and Hydrated Lime*; Annu. Book ASTM Stand., Vol. 04.01 (2003).
- [6] Vocke, R.D; *Atomic Weights of the Elements 1997*; Pure Appl. Chem., Vol. 71(8), pp. 1593-1607 (1999).
- [7] Ruhkin, A.L.; Vangel, M.G.; *Estimation of a Common Mean and Weighted Mean Statistics*; J. Am. Statist. Assoc., Vol. 93, pp. 303-308 (1998).
- [8] Levenson, M.S.; Banks, D.L.; Eberhardt, K.R.; Gill, L.M.; Guthrie, W.F.; Liu, H.K.; Vangel, M.G.; Yen, J.H.; Zang, N.F.; *An Approach to Combining Results from Multiple Methods Motivated by the ISO GUM*; J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol., Vol. 105, pp. 571-579 (2000).
- [9] ASTM C 110-02a; *Standard Test Methods for Chemical Analysis of Limestone, Quicklime, and Hydrated Lime*; Annu. Book ASTM Stand., Vol. 04.01 (2003).
- [10] Sieber, J.R.; *Matrix-Independent XRF Methods for Certification of Standard Reference Materials*; Adv. X-Ray Anal., Vol. 45, pp. 493-504 (2002).
- [11] Sieber, J.R.; Broton, D.; Fales, C.; Leigh, S.; MacDonald, B.; Marlow, A.; Nettles, S.; Yen, J.; *Standard Reference Materials for Cements*; Cem. Concr. Res., Vol. 32, pp. 1899-1906 (2002).

Users of this SRM should ensure that the certificate in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program at: telephone (301) 975-6776; Fax (301) 926-4751; E-mail srminfo@nist.gov; or via the Internet at <http://www.nist.gov/srm>.

Annexe 4.5 : Protocole final d'attaque acide pour analyse des éléments en traces des roches avec HCl 0.15M

- 1/ Peser 50 mg d'échantillon, dans des piluliers
- 2/ Sous la hotte, ajouter 10 mL d'HCl à 0.15M, fermer et mettre parafilm autour des bouchons
- 3/ Table d'agitation pendant 19h à 300 tr/min
- 4/ Filtration à 0.22 μm (filtre PVDF) après rinçage du filtre et de la seringue avec 10 mL d'HCl 0.15M
- 5/ Évaporer l'HCl sur plaque à 70°C le jour, 60°C la nuit, éteindre avant l'évaporation de la dernière micro-goutte
- 6/ Ajouter 15 mL d'HNO₃ 10%, peser
- 7/ Ultrasons 15 min
- 8/ Prendre 1 mL et mettre dans tubes ICP-MS (peser), compléter à 10g d'eau (peser)
- 9/ Passer à l'ICP-MS

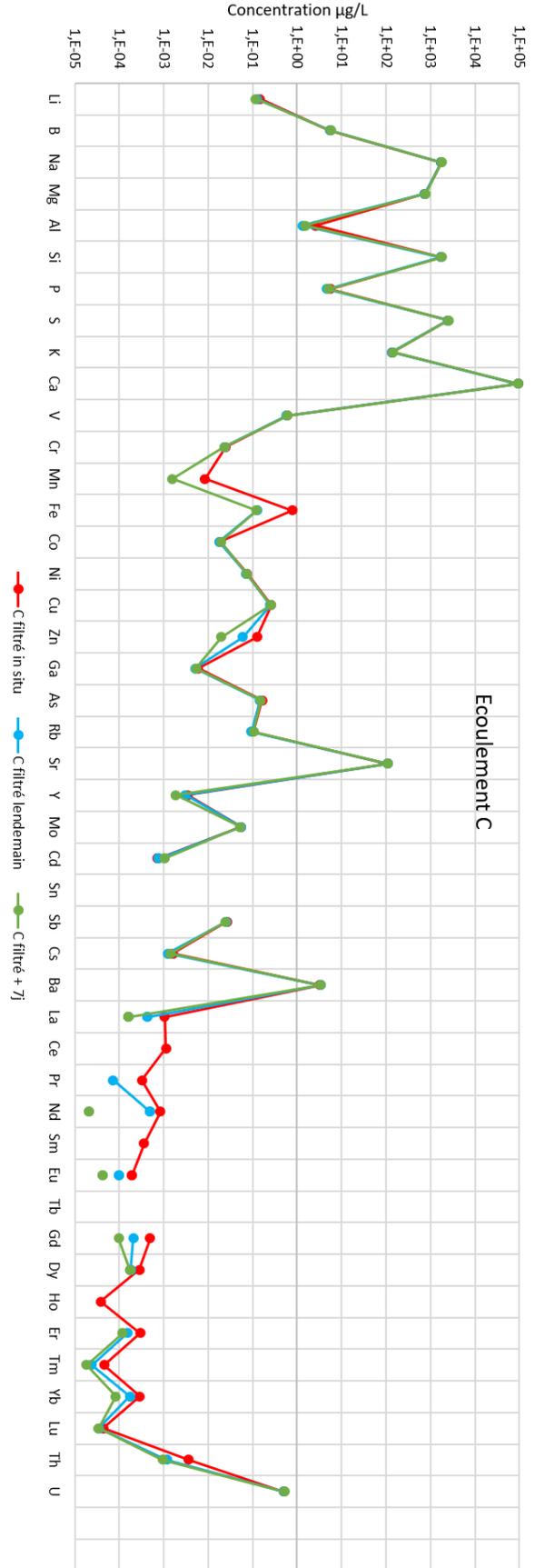
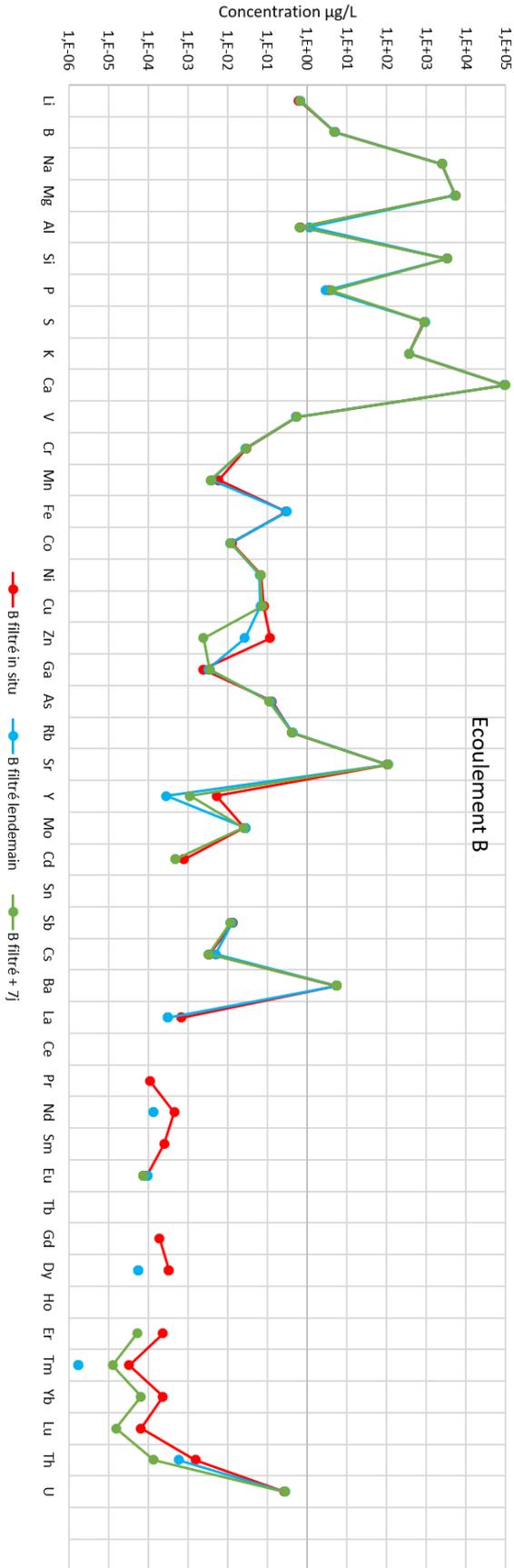
Annexe 4.6 : Protocoles de préparation des flacons d'échantillonnage des éléments en trace et de préparation des échantillons pour analyse ICP-MS

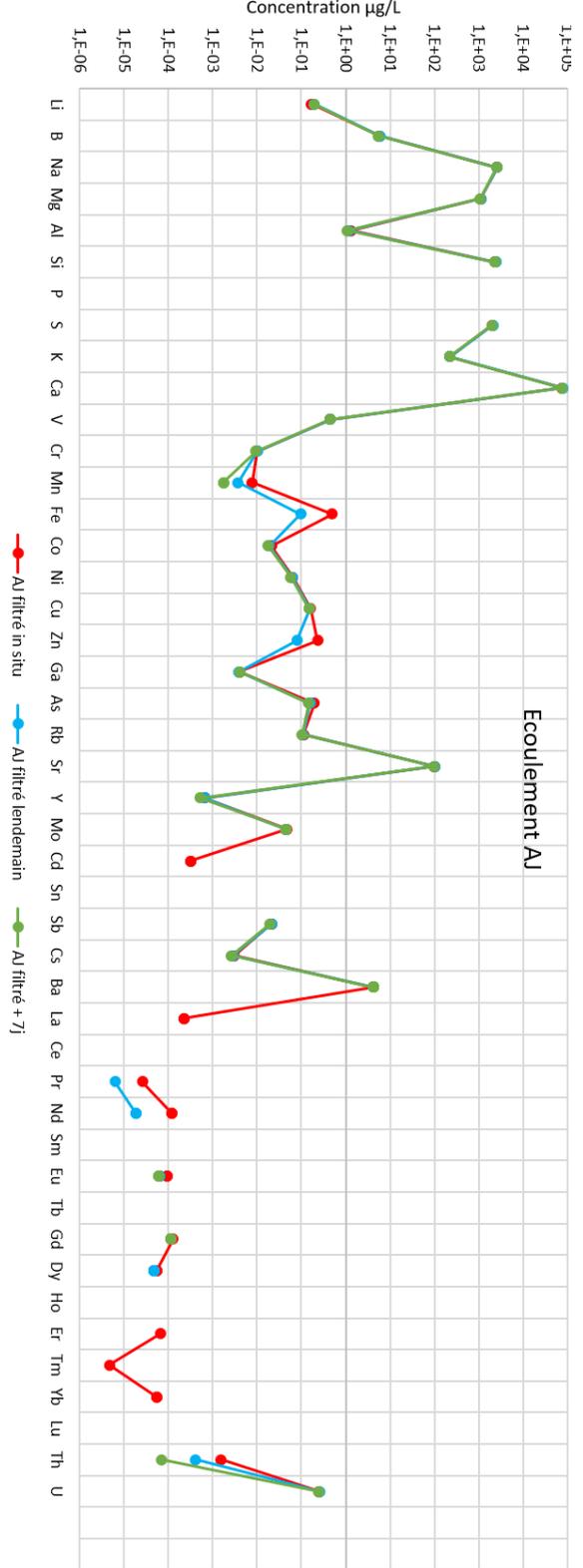
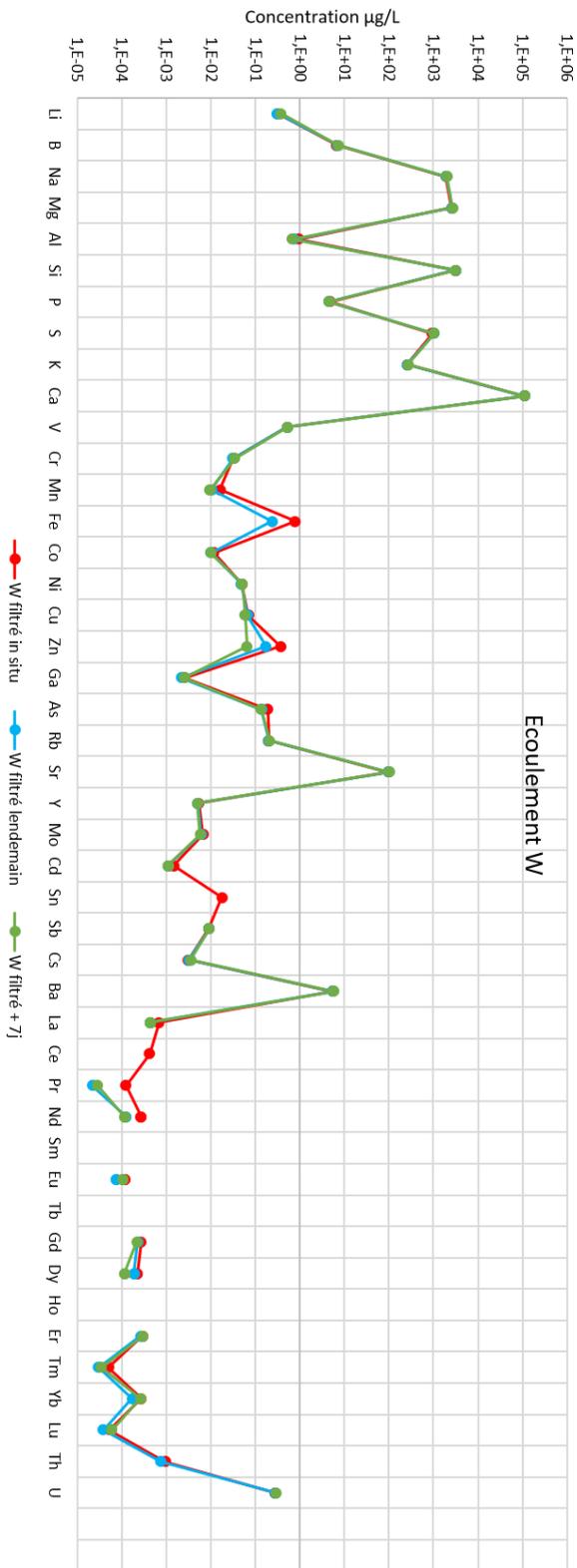
Les éléments en trace étant par définition présents en très faibles concentrations dans l'eau, les prélèvements devant permettre leur analyse nécessitent un certain nombre de précautions. Les flacons doivent être en nalgène, un matériau qui limite le piégeage des éléments, et doivent être nettoyés selon le protocole suivant :

- Rincer trois fois à l'eau déminéralisée ultra-pure,
- Faire tremper pendant au moins 24h dans une solution à 20% d'acide nitrique HNO₃,
- Rincer à nouveau trois fois à l'eau déminéralisée ultra-pure,
- Remplir d'eau milliQ,
- Acidifier à 1‰ d'HNO₃ et agiter.

L'analyse des échantillons ne nécessite pas de dilution si la conductivité électrique est inférieure à 500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (cas de la quasi-totalité des écoulements suivis). Il s'agit ensuite de remplir le tube pour ICP-MS (10 mL) jusqu'au trait de jauge et d'ajouter 4 gouttes d'HNO₃ suprapur (acidification à 1%) avant de passer l'échantillon à l'ICP-MS.

Annexe 4.7 : Comparaison des concentrations en éléments en trace des écoulements B, C, W et AJ prélevés le 13/02/2020 et filtré in situ (en rouge), le lendemain (J+1, en bleu) et une semaine après le prélèvement (J+7, en vert)

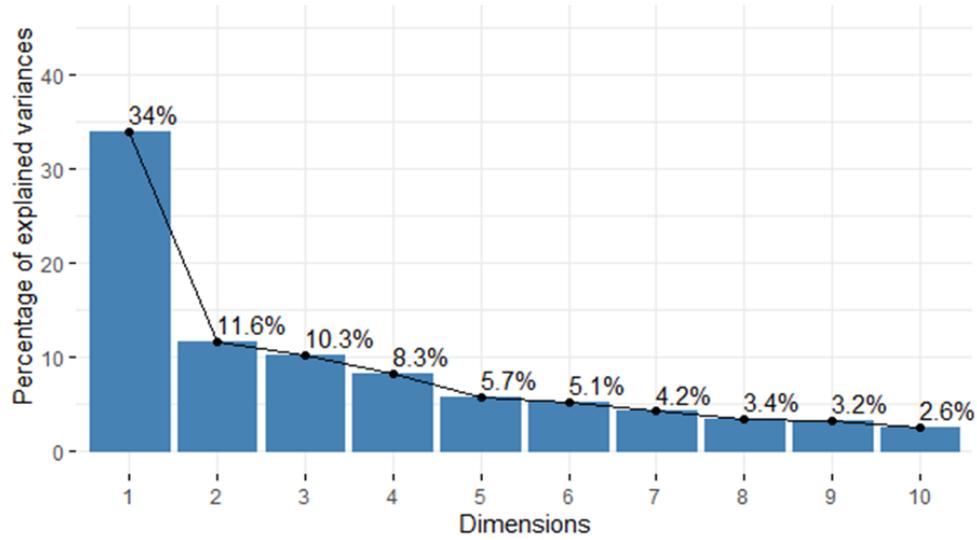


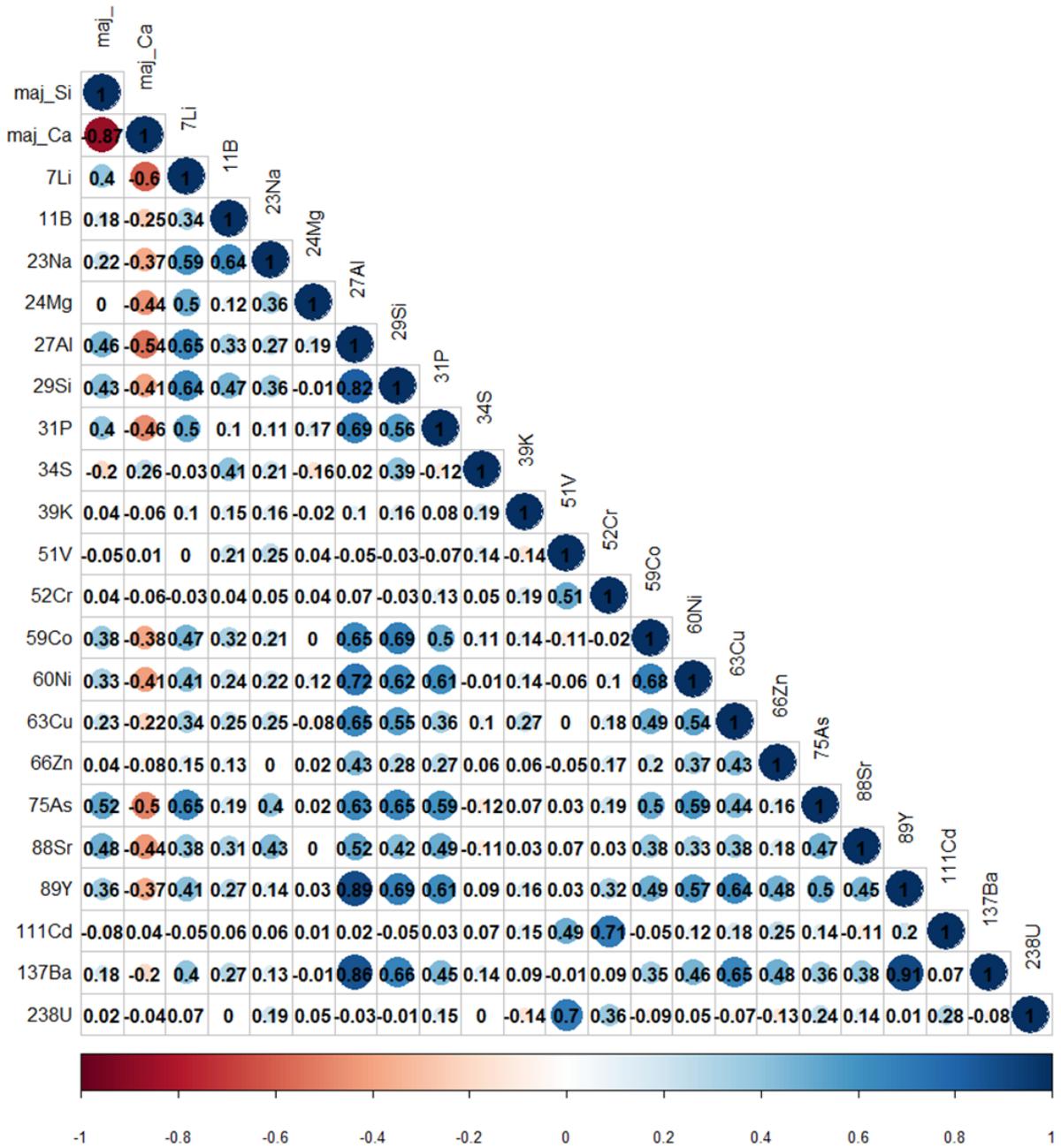


Annexe 4.8 : Protocole de prélèvement pour analyse des éléments en trace dans les eaux

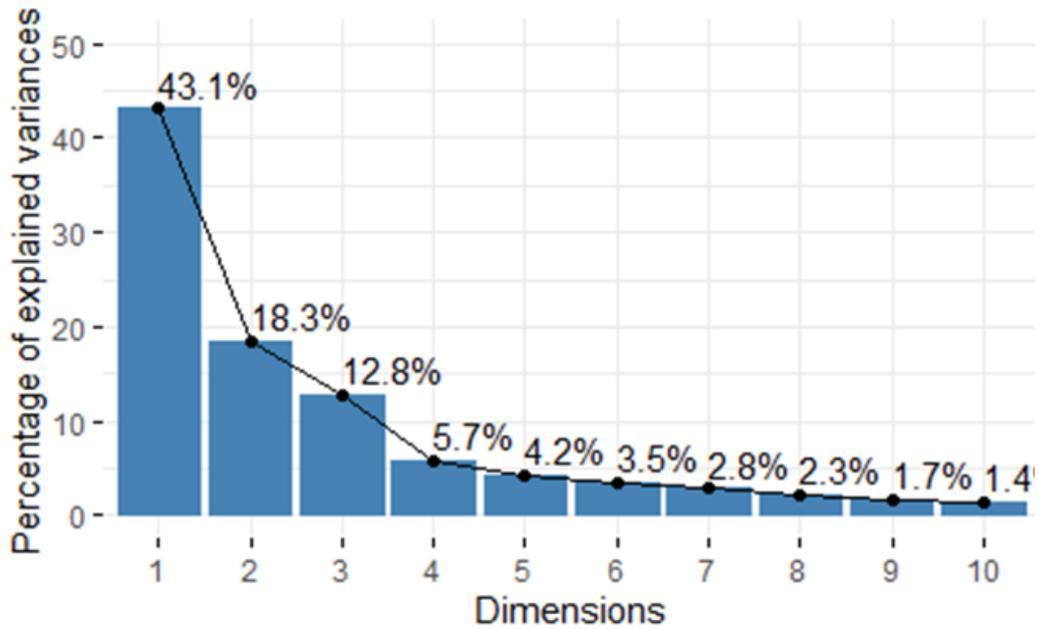
- 1/ Mettre des gants
- 2/ Ecrire sur le sachet du flacon : le nom du point, la date, « non filtré »
- 3/ Vider le contenu du flacon
- 4/ Prélever avec une seringue au plus proche de l'écoulement
- 5/ Rincer 6 fois avec l'eau de l'écoulement
- 6/ Remplir le flacon
- 7/ Remettre le flacon dans le sachet
- 8/ Enlever et jeter les gants
- 9/ Jeter la seringue
- 10/ Le lendemain ou surlendemain : filtration à 0,22 μm (filtre en acétate de cellulose) et acidification à 1% d' HNO_3 en salle blanche.

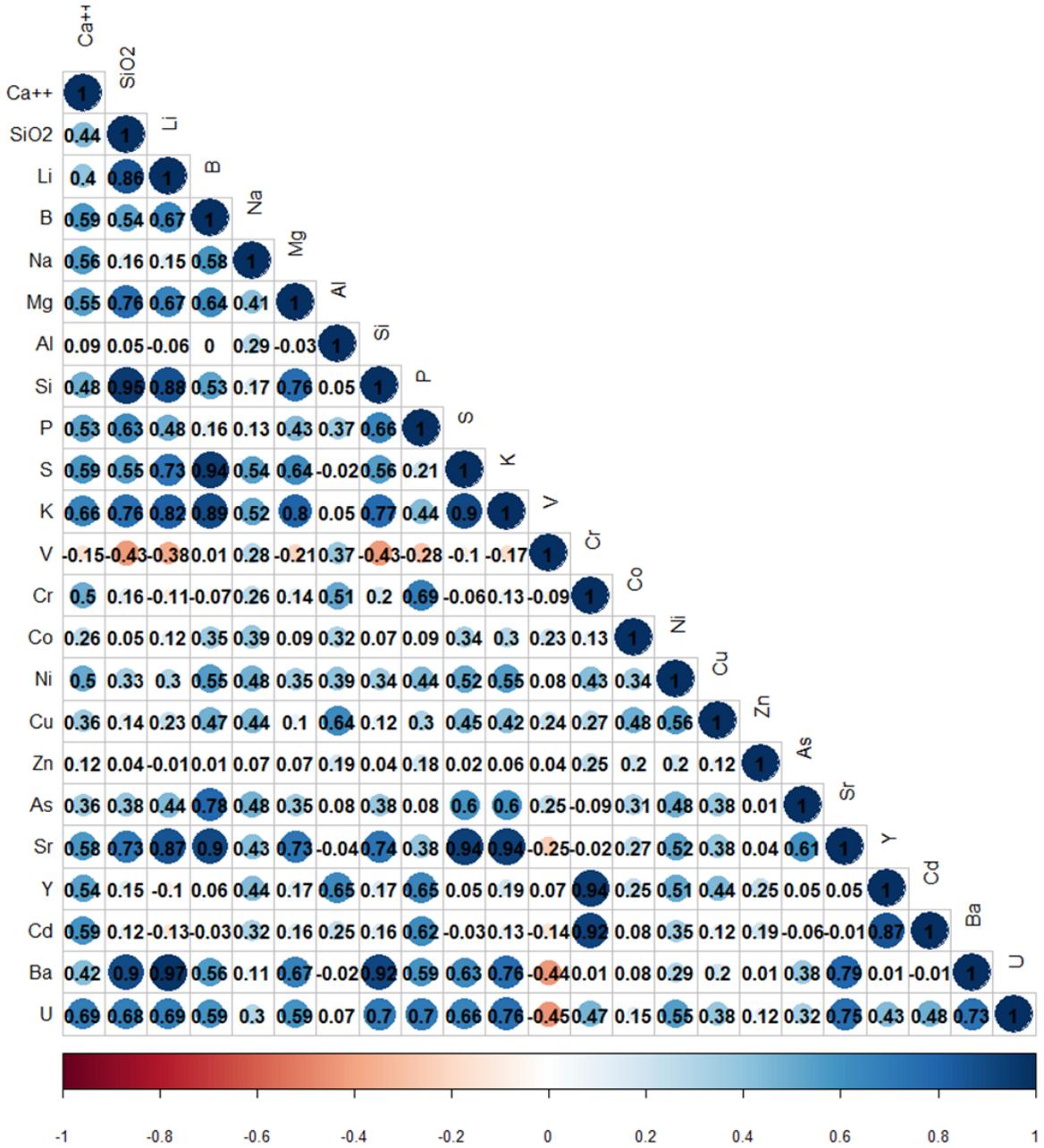
Annexe 4.9 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les roches de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse



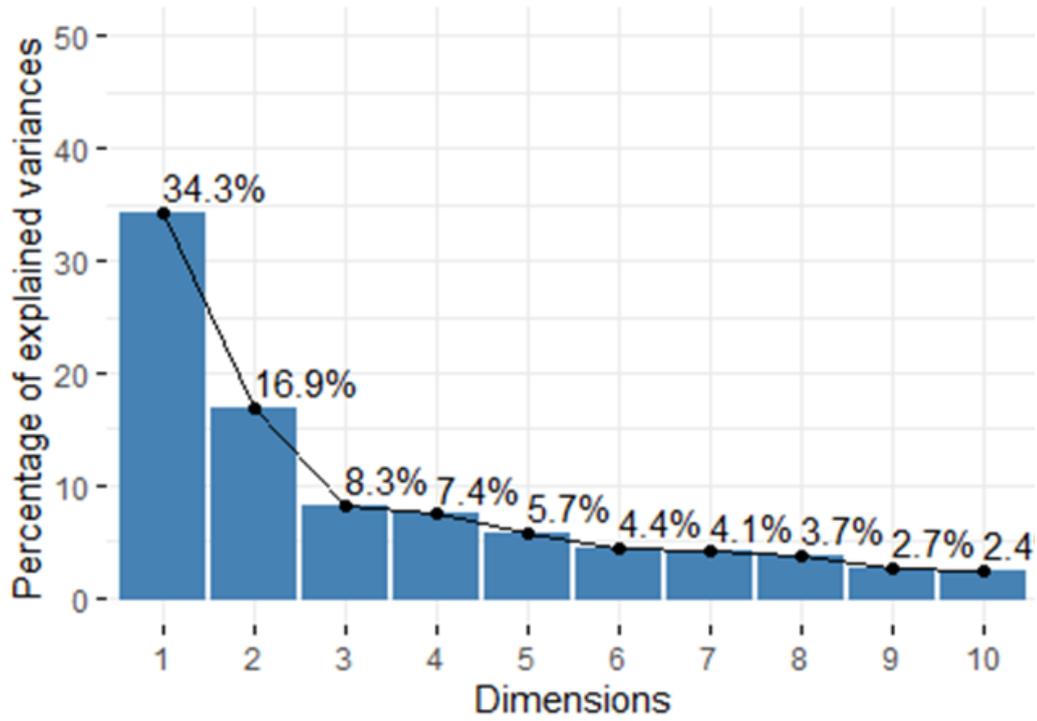


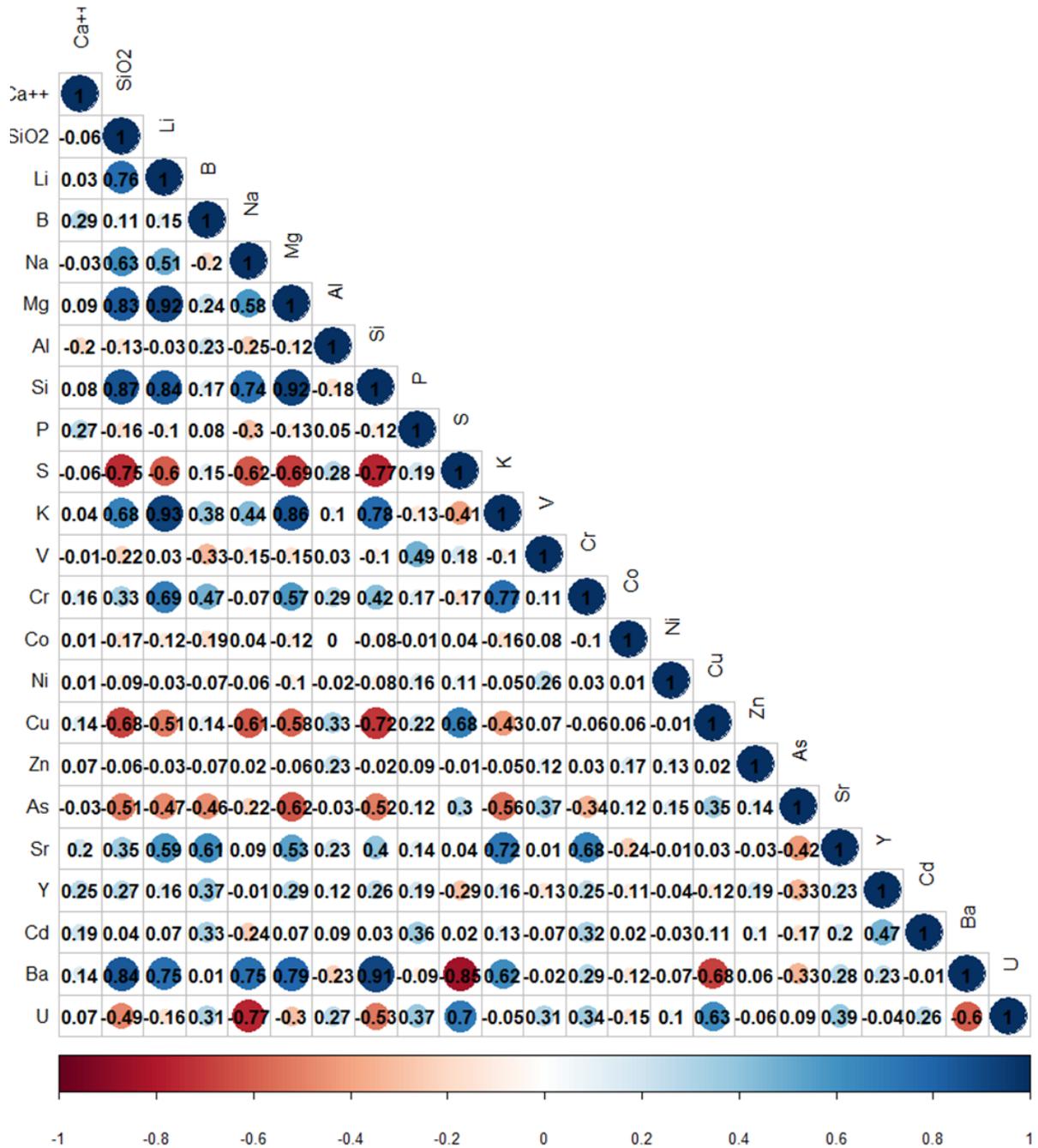
Annexe 4.10 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les eaux de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse



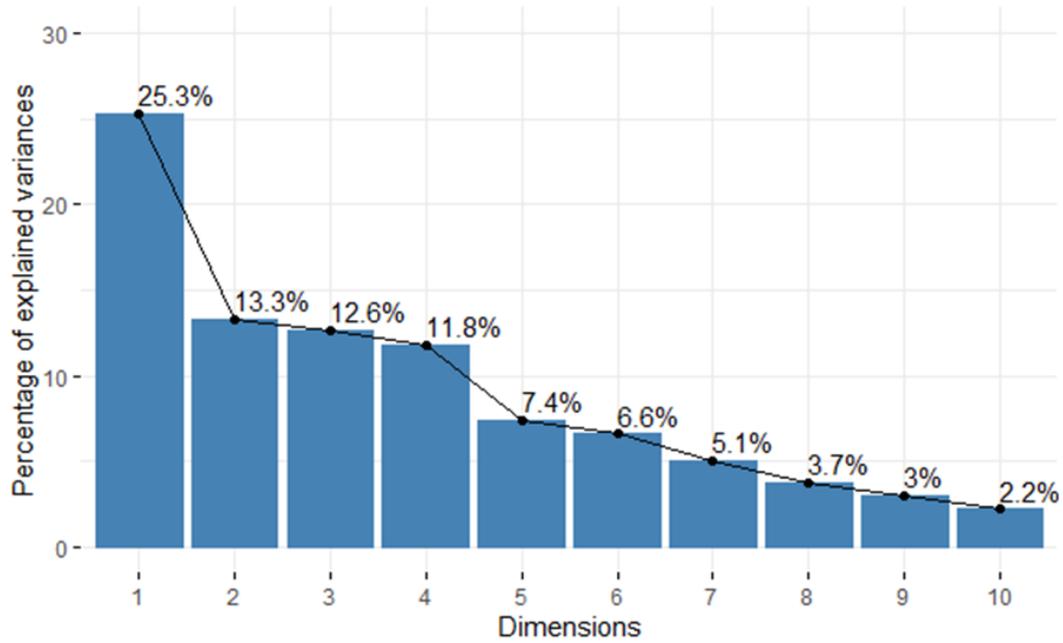


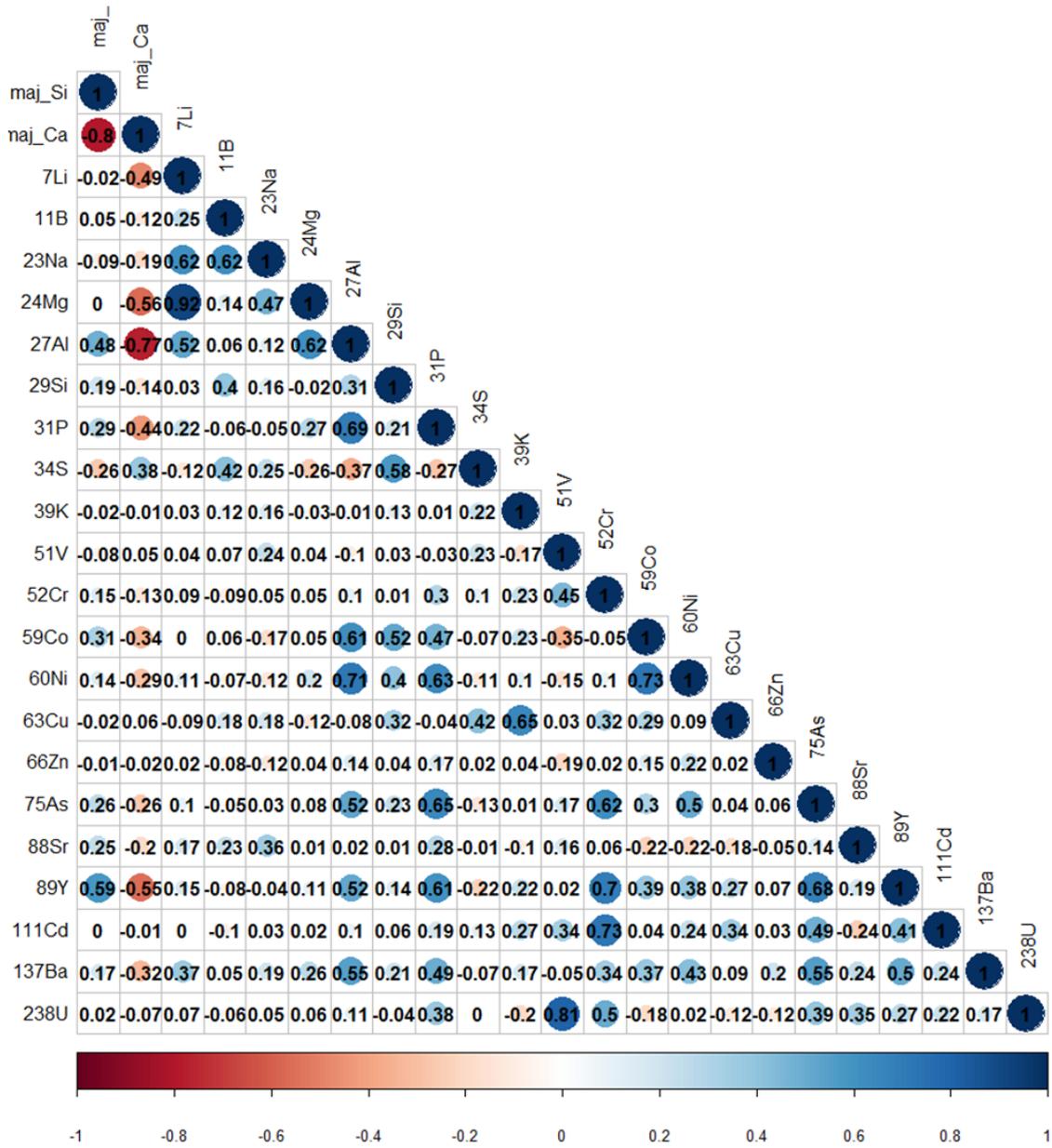
Annexe 4.11 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les eaux du LSBB





Annexe 4.12 : Variances expliquées et matrice de corrélation associée à l'ACP sur les roches du LSBB





Références

- Abesser, C., Smedley, P.L., 2008. Baseline groundwater chemistry: the Carboniferous Limestone aquifer of the Derbyshire Dome (No. OR/08/028). British Geological Survey, Keyworth, Nottingham.
- Amouri, C., 2017. Contribution à l'étude de l'influence des différents ajouts sur les propriétés des matrices cimentaires (PhD). Université Mentouri Constantine.
- Bai, L., Wang, Z.-L., 2014. Anthropogenic influence on rainwater in the Xi'an City, Northwest China: Constraints from sulfur isotope and trace elements analyses. *J. Geochem. Explor.* 137, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.11.011>
- Barbel-Périneau, A., 2013. Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d'Expérimentation et d'Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Bastian, L., Vigier, N., Reynaud, S., Kerros, M.-E., Revel, M., Bayon, G., 2018. Lithium Isotope Composition of Marine Biogenic Carbonates and Related Reference Materials. *Geostand. Geoanalytical Res.* 42, 403–415. <https://doi.org/10.1111/ggr.12218>
- Bendou, S., Amrani, M., 2014. Effect of Hydrochloric Acid on the Structural of Sodic-Bentonite Clay. *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* 02, 404–413. <https://doi.org/10.4236/jmmce.2014.25045>
- Blondel, T., 2008. 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Bodrud-Doza, M., Islam, S.M.D.-U., Hasan, Md.T., Alam, F., Haque, Md.M., Rakib, M.A., Asad, Md.A., Rahman, Md.A., 2019. Groundwater pollution by trace metals and human health risk assessment in central west part of Bangladesh. *Groundw. Sustain. Dev.* 9, 100219. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2019.100219>
- Brindha, K., Paul, R., Walter, J., Tan, M.L., Singh, M.K., 2020. Trace metals contamination in groundwater and implications on human health: comprehensive assessment using hydrogeochemical and geostatistical methods. *Environ. Geochem. Health* 42, 3819–3839. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00637-9>
- Carde, C., 2007. Connaissances fondamentales, la lixiviation. URL www.bétons-lemagazine.fr. (accessed 2.20.19).
- Celle-Jeanton, H., Huneau, F., Travi, Y., Edmunds, W.M., 2009. Twenty years of groundwater evolution in the Triassic sandstone aquifer of Lorraine: Impacts on baseline water quality. *Appl. Geochem.* 24, 1198–1213. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.03.005>
- Cereceda-Balic, F., Gala-Morales, M. de la, Palomo-Marín, R., Fadic, X., Vidal, V., Funes, M., Rueda-Holgado, F., Pinilla-Gil, E., 2020. Spatial distribution, sources, and risk assessment of major ions and trace elements in rainwater at Puchuncaví Valley, Chile: The impact of industrial activities. *Atmospheric Pollut. Res.* 11, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2020.03.003>
- Chamley, H., Deconinck, J.-F., 2011. Bases de sédimentologie. Dunod, Paris.
- Delpomdor, F., Blanpied, C., Virgone, A., Préat, A., 2013. Palaeoenvironments in Meso–Neoproterozoic carbonates of the Mbuji-Mayi Supergroup (Democratic Republic of Congo) – Microfacies analysis combined with C–O–Sr isotopes, major-trace elements and REE+Y distributions. *J. Afr. Earth Sci.* 88, 72–100. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2013.09.002>
- Dematteis, A., 1995. Typologie géochimique des eaux aquifères carbonatés des chaînes alpines d'Europe centrale et méridionale (PhD). Ecole Polytechnique fédérale de Lausanne.
- Ecocem France, 2018. Le béton: quelle est son histoire et quelle est sa définition? [WWW Document]. URL <http://www.ecocem.fr/beton/> (accessed 2.20.19).
- Edet, A., 2014. Baseline Concentration and Sources of Trace Elements in Groundwater of Cross River State, Nigeria. *Int. J. Environ. Monit. Anal.* 2, 1. <https://doi.org/10.11648/j.ijema.20140201.11>

- Edmunds, W.M., Guendouz, A.H., Mamou, A., Moulla, A., Shand, P., Zouari, K., 2002. Groundwater evolution in the Continental Intercalaire aquifer of southern Algeria and Tunisia: trace element and isotopic indicators. *Appl. Geochem.*
- Edmunds, W.M., Shand, P., Hart, P., Ward, R.S., 2003. The natural (baseline) quality of groundwater: a UK pilot study. *Sci. Total Environ.* 310, 25–35. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00620-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00620-4)
- Edmunds, W.M., Smedley, P.L., 2000. Residence time indicators in groundwater: the East Midlands Triassic sandstone aquifer. *Appl. Geochem.* 15, 737–752. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00079-7](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00079-7)
- Fleurance, S., Cuney, M., Malartre, F., Reyx, J., 2013. Origin of the extreme polymetallic enrichment (Cd, Cr, Mo, Ni, U, V, Zn) of the Late Cretaceous–Early Tertiary Belqa Group, central Jordan. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 369, 201–219. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2012.10.020>
- Garry, B., 2007. Etude des processus d'écoulements 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). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Gasser, A.-C., 2014. Concevoir, construire et gérer des structures durables en béton. Approche performantielle et évolutions normatives. Principales agressions et attaques des bétons.
- Gholami Zadeh, P., Adabi, M.H., Sadeghi, A., 2019. Microfacies, geochemistry and sequence stratigraphy of the Sarvak Formation (Mid Cretaceous) in the Kuh-e Siah and Kuh-e Mond, Fars area, southern Iran. *J. Afr. Earth Sci.* 160, 103634. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2019.103634>
- Guo, C., Stetzenbach, K.J., Hodge, V.F., 2005. Determination of 56 Trace Elements in Three Aquifer-Type Rocks by ICP-MS and Approximation of the Relative Solubilities for These Elements in a Carbonate System by Water-Rock Concentration Ratios, in: Johannesson, K.H. (Ed.), *Rare Earth Elements in Groundwater Flow Systems*, Water Science and Technology Library. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp. 39–65. https://doi.org/10.1007/1-4020-3234-X_2
- Hood, A. v.S., Planavsky, N.J., Wallace, M.W., Wang, X., 2018. The effects of diagenesis on geochemical paleoredox proxies in sedimentary carbonates. *Geochim. Cosmochim. Acta* 232, 265–287. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.04.022>
- Kilchmann, S., Waber, H.N., Parriaux, A., Bensimon, M., 2004. Natural tracers in recent groundwaters from different Alpine aquifers. *Hydrogeol. J.* 12, 643–661. <https://doi.org/10.1007/s10040-004-0366-9>
- Langer, M.R., Silk, M.T., Lipps, J.H., 1997. Global ocean carbonate and carbon dioxide production; the role of reef Foraminifera. *J. Foraminifer. Res.* 27, 271–277. <https://doi.org/10.2113/gsjfr.27.4.271>
- Lastennet, R., Mudry, J., 1997. Role of karstification and rainfall in the behavior of a heterogeneous karst system. *Environ. Geol.* 32, 114–123. <https://doi.org/10.1007/s002540050200>
- Leenhardt, F., 1883. Etude géologique de la région du Mont-Ventoux. *Stratigraphie*. (PhD). Université de Montpellier.
- Li, P., Karunanidhi, D., Subramani, T., Srinivasamoorthy, K., 2021. Sources and Consequences of Groundwater Contamination. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00805-z>
- Li, X., Gang, W., Yao, J., Gao, G., Wang, C., Li, J., Liu, Y., Guo, Y., Yang, S., 2020. Major and trace elements as indicators for organic matter enrichment of marine carbonate rocks: A case study of Ordovician subsalt marine formations in the central-eastern Ordos Basin, North China. *Mar. Pet. Geol.* 111, 461–475. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2019.08.028>
- Marini, L., Canepa, M., Cipolli, F., Ottonello, G., Zuccolini, M.V., 2001. Use of stream sediment chemistry to predict trace element chemistry of groundwater. A case study from the Bisagno valley (Genoa, Italy). *J. Hydrol.* 241, 194–220. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(00\)00365-6](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(00)00365-6)
- Milliman, J.D., 1993. Production and accumulation of calcium carbonate in the ocean: Budget of a nonsteady state. *Glob. Biogeochem. Cycles* 7, 927–957. <https://doi.org/10.1029/93GB02524>
- Morgantini, N., Frondini, F., Cardellini, C., 2009. Natural trace elements baselines and dissolved loads

- in groundwater from carbonate aquifers of central Italy. *Phys. Chem. Earth Parts ABC* 34, 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.05.004>
- Pfeifer, H.-R., Derron, M.-H., Rey, D., Schlegel, C., Atteia, O., Piazza, R.D., Dubois, J.-P., Mandia, Y., 2000. Chapter 2 Natural trace element input to the soil-sediment-water-plant system: examples of background and contaminated situations in Switzerland, Eastern France and Northern Italy, in: *Trace Metals in the Environment*. Elsevier, pp. 33–86. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(00\)80005-3](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(00)80005-3)
- Potot, C., Féraud, G., Schärer, U., Barats, A., Durrieu, G., Le Poupon, C., Travi, Y., Simler, R., 2012. Groundwater and river baseline quality using major, trace elements, organic carbon and Sr–Pb–O isotopes in a Mediterranean catchment: The case of the Lower Var Valley (south-eastern France). *J. Hydrol.* 472–473, 126–147. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.09.023>
- Rabiet, M., 2006. Contamination de la ressource en eau par les eaux usées dans un bassin versant Méditerranéen - Apport des éléments majeurs, traces et terres rares (PhD). Université Montpellier II.
- Raja, V., Lakshmi, R.V., Sekar, C.P., Chidambaram, S., Neelakantan, M.A., 2021. Health Risk Assessment of Heavy Metals in Groundwater of Industrial Township Virudhunagar, Tamil Nadu, India. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 144–163. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00795-y>
- Recueil international des méthodes d'analyses, 2021. Estimation de la limite de détection et de quantification d'une méthode d'analyse, in: *RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES VINS ET DES MOUTS*. pp. 680–685. <https://www.oiv.int/public/medias/2750/oiv-ma-as1-10fr.pdf>
- Rimstidt, J.D., Balog, A., Webb, J., 1998. Distribution of trace elements between carbonate minerals and aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62, 1851–1863. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(98\)00125-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(98)00125-2)
- Rollinson, H., Pease, V., 2021. *Using Geochemical Data: To Understand Geological Processes*, 2nd ed. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781108777834>
- Schumann, W., Poirot, J.-P., 2016. *Minéraux et roches: plus de 600 échantillons grandeur nature*. Delachaux et Niestlé, Paris.
- Schürch, M., Edmunds, W.M., Buckley, D., 2004. Three-dimensional flow and trace metal mobility in shallow Chalk groundwater, Dorset, United Kingdom. *J. Hydrol.* 292, 229–248. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2004.01.004>
- Seidell, A., 1958. *Solubility of Inorganic and Metal organic compounds*, 4th ed. ed. Am. Chem. Soc.
- Serene, L., 2019. Caractérisation hydrodynamique et hydrogéochimique multi-échelle de l'hétérogénéité spatio-temporelle des flux au sein d'une ZNS karstique (Rapport de stage de M2). Université de Montpellier, Montpellier.
- Shand, P., Edmunds, W.M., Lawrence, A.R., Smedley, P., Burke, S., 2007. *The natural (baseline) quality of groundwater in England and Wales*. British Geological Survey, Keyworth, Nottingham.
- Shannon, R.D., 1976. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. *Acta Crystallogr. Sect. A* 32, 751–767. <https://doi.org/10.1107/S0567739476001551>
- Sigg, L., Behra, P., Werner, S., 2006. *Chimie des milieux aquatiques: chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement*. Dunod, Paris.
- Veizer, J., 1983. Trace elements and isotopes in sedimentary carbonates. *Mineralogy* 11.

Chapitre 5 : Synthèse du manuscrit, conclusion et perspectives

I. Contexte.....	273
II. Rappel des objectifs de la thèse et moyens mis en oeuvre.....	274
III. Résolution des problématiques de thèse.....	275
III.1 Amélioration des méthodes de calcul des indices de fluorescence.....	275
III.2 Amélioration de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de transit courts.....	276
III.3 Le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des types de calcaires traversés par l'eau.....	278
III.4 Amélioration de la compréhension des écoulements en zone non saturée du système Fontaine de Vaucluse.....	279
III.4.1 Petite échelle : écoulements du LSBB.....	279
III.4.2 Moyenne échelle : systèmes perchés de la zone non saturée du système de Fontaine de Vaucluse.....	280
IV. Perspectives de recherche.....	280
Références.....	283
Résumé de la thèse.....	285

I. Contexte

La ressource en eau est un enjeu majeur du fait de sa grande vulnérabilité face au changement climatique. En France et dans le monde, les aquifères karstiques contribuent significativement à l'alimentation en eau potable (40% en France, 25% dans le monde ; Chen et al., 2017). Cependant, la compréhension du fonctionnement de ces aquifères est limitée du fait de leur forte hétérogénéité. Ces hétérogénéités proviennent majoritairement de la variabilité des calcaires liés à leur environnement de dépôt ainsi qu'aux modifications post-dépôt et à l'hétérogénéité des processus de karstification (Chapitre 1, partie I.1). Ces hétérogénéités influencent la circulation de l'eau, notamment au sein de la zone non saturée. Cette influence est liée à : la dualité des paramètres hydrodynamiques des failles, fractures, drains karstiques et de la matrice carbonatée; la variabilité de ces mêmes paramètres entre les différents calcaires constituant l'aquifère; la présence de niveaux imperméables continus ou discontinus (Chapitre 1, partie I.2). En raison des différents types de calcaires traversés et de

la durée du temps d'interaction eau-roche, l'hydrochimie des écoulements observés en zones saturée et non saturée peut-être très variable.

La compréhension de la dynamique des écoulements au sein des aquifères karstiques est donc un élément important pour la préservation quantitative et qualitative de la ressource en eau. Cette compréhension passe notamment par l'identification de l'origine de l'eau (e.g. en provenance d'un autre aquifère, d'un rejet anthropique), la connaissance du chemin emprunté par l'eau (e.g. passage dans des zones contaminées ou non, roches traversées) et l'estimation du temps nécessaire au trajet souterrain de l'eau, depuis son infiltration dans le sol jusqu'à l'exutoire du système karstique (pour e.g. anticiper les risques de crues, identifier les stocks d'eau disponible). Pour cela, le traçage hydrogéochimique, aussi appelé traçage naturel ou environnemental est fréquemment utilisé. Il consiste à mesurer la présence d'un ou plusieurs traceurs naturellement présents dans les eaux et d'en effectuer un suivi spatial et/ou temporel afin, par exemple, de caractériser les connexions entre les différents points de prélèvement. Il existe une grande diversité de traceurs naturels et plus encore d'applications possibles (Chapitre 1, partie II).

II. Rappel des objectifs de la thèse et moyens mis en oeuvre

L'utilisation de la fluorescence de la matière organique se fait fréquemment par le calcul d'indices de fluorescence visant à caractériser la nature et/ou l'origine des composés organiques, calculés à partir de spectres d'émission (2D, Gabor et al., 2014). Ces spectres ont été développés pour des types d'eaux spécifiques (eau du sol, marine ou douce) mais sont utilisés pour tous les types d'eaux y compris les eaux souterraines (Hu et al., 2023; Jiang et al., 2019; Nelson et al., 2015; Zheng et al., 2020). Ainsi, le **premier objectif** de ces travaux de thèse est de contribuer au développement de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique dans les eaux souterraines en proposant une amélioration des méthodes de calculs des indices de fluorescence. Le **second objectif** est de poursuivre les recherches sur l'une des applications de l'un de ces indices, le HIX, développé par Blondel et al. (2012) pour estimer les temps de transit.

Les éléments majeurs sont souvent utilisés comme traceurs des types de roches, car ils sont impactés par les interactions entre l'eau et des roches de nature différente (e.g. évaporites, Blum et al., 2003). Cependant, ils ne permettent pas de distinguer différents types

de calcaires et sont donc utilisables que dans des systèmes karstiques incluant des types de roches spécifiques (e.g. formation évaporitique). Les éléments en trace varient d'un type de calcaire à l'autre en fonction de leur environnement de dépôt et/ou de la diagenèse subie (Delpomdor et al., 2013; Gholami Zadeh et al., 2019; Hood et al., 2018; Li et al., 2020). Ainsi, le **troisième objectif** de cette thèse est d'étudier le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des types de calcaires traversés par l'eau.

Pour répondre à ces trois premiers objectifs, l'aquifère karstique de Fontaine de Vaucluse a été étudié. Le bassin d'alimentation de l'exutoire principal de l'aquifère atteint 1160 km² (Ollivier, 2020), il est à l'échelle du système sédimentaire correspondant à une plateforme carbonatée dite Urgonienne. Cet aquifère comprend ainsi des calcaires aux environnements de dépôts et influences diagénétiques variés. Sa zone non saturée peut atteindre jusqu'à 800 m d'épaisseur (Puig, 1987), le rendant particulièrement bien adapté à l'étude des écoulements au sein de ce compartiment. De plus, il abrite un site exceptionnel permettant un accès à la zone non saturée via des galeries souterraines creusées à des fins militaires puis reconverties en observatoire scientifique : le LSBB (Chapitre 2, partie I). De façon générale, le **quatrième objectif** de cette thèse est d'améliorer la compréhension des écoulements dans la zone non saturée de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse.

Pour répondre à ces 4 objectifs, un set de données inédit à été acquis quantifiant fluorescence naturelle, chimie des éléments majeurs et en trace, carbone organique total de 4 sources (Fontaine de Vaucluse, Millet, St Trinit et la Nesque), de pertes (pertes de la Nesque) et de 12 écoulements du LSBB. Les prélèvements ont été réalisés à un pas de temps bi-mensuel de juin 2020 à octobre 2021. Ce set de données comprend également des analyses de la chimie (majeurs et traces) de 107 échantillons de roches représentatifs de différents types de calcaires de la plateforme carbonatée Urgonienne (Chapitre 2, partie II).

III. Résolution des problématiques de thèse

III.1 Amélioration des méthodes de calcul des indices de fluorescence

Les trois principaux indices de fluorescence sont l'indice de fluorescence FI, l'indice d'humification HIX, et l'indice biologique BIX. Tous trois ont été développés dans des eaux d'environnements différents, respectivement eau douce (McKnight et al., 2001), eau du sol

(Zsolnay et al., 1999), et eau de mer (Huguet et al., 2009). Cependant, ces indices sont parfois appliqués sur des eaux différentes de celles pour lesquelles ils ont été développés, ce qui peut être une source d'erreur non négligeable dans leur détermination. En effet, l'intensité nécessaire au calcul de ces indices est supposée correspondre au maximum d'intensité de fluorescence de chaque famille de composés. La localisation de cette intensité maximale est fixée à des longueurs d'ondes précises dans la définition de ces indices. Un décalage de la localisation de l'intensité maximale de fluorescence est pourtant possible (diminution de la longueur d'onde d'émission depuis le sol, les eaux de surface et souterraines jusqu'aux eaux marines; Baker and Genty, 1999; Conmy et al., 2009).

Ces travaux de thèse ont mis en évidence une incohérence des longueurs d'ondes utilisées pour le calcul de ces indices avec les échantillons d'eaux souterraines prélevés dans le cadre de cette thèse, signifiant que la transférabilité de ces indices d'un environnement aquatique à l'autre et même d'un site à l'autre peut être compromise. Ces travaux mettent également en évidence le potentiel des matrices d'excitation-émission (3D) pour remédier à ce problème. En effet, elles permettent l'identification de l'ensemble des composés fluorescents, notamment par le biais des modélisations PARAFAC qui permettraient d'adapter les indices à chaque site d'étude.

III.2 Amélioration de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de transit courts

L'un des indices de fluorescence les plus fréquemment utilisés, l'indice d'humification (HIX), a été utilisé comme indicateur des temps de transit en milieu karstique dans une précédente étude de Blondel et al. (2012). Cette étude met en évidence le potentiel de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des courts temps de transit (0 – 6 mois). En plus de l'inadéquation des fenêtres d'excitation-émission définies pour le calcul du HIX dans le sol par Zsolnay et al. (1999) avec les eaux souterraines, ces travaux de thèse ont mis en évidence un certain nombre de biais dans l'approche proposée par Blondel et al. (2012) dans un article publié (Serène et al., 2022). Le principal biais est l'utilisation d'une longueur d'onde d'excitation de 260 nm plutôt que 254 nm préconisée par Zsolnay et al. (1999). A partir des résultats d'une modélisation PARAFAC et conformément aux conclusions de l'objectif 1, un nouvel indice a été élaboré, appelé Transit Time index (TTi). Ce nouvel indice est inspiré de l'indice d'humification (HIX) de Ohno (2002) et il intègre

ainsi la correction de l'inner-filtering effect préconisée par Zsolnay et al. (1999). Le TTi est défini comme le ratio entre le poids des composés humiques obtenu via PARAFAC et la somme des poids de l'ensemble des composés fluorescents.

D'après les fondements de l'approche développée par Blondel et al. (2012), une plus forte proportion de composés de type humique peut-être reliée à des temps de séjour plus longs, du fait d'une dégradation plus rapide des composés de type protein-like. Cela implique une origine allochtone de l'aquifère pour l'ensemble des composés fluorescents. Cependant, sur les écoulements du LSBB, un modèle conceptuel des origines et des processus affectant le devenir des composés fluorescents a pu être développé grâce à des analyses de sols issues de travaux précédents (Blondel, 2008). Ce modèle met en évidence la production autochtone de certains composés (Humic-like M et protein-like) attribués à une origine allochtone aux sources de Millet, St Trinit et de la Nesque, impliquant une interprétation inverse de l'indice : fortes valeurs de TTi associées à des courts temps de transit.

Les variations du TTi ont permis de comparer les temps de transit qualitatifs entre les trois sources considérées et entre les 5 principaux écoulements du LSBB. Les résultats sont cohérents avec les degrés de karstification des sous-systèmes drainés par les sources et avec les travaux précédents sur les écoulements du LSBB (Barbel-Périneau et al., 2019). La fluorescence de la matière organique semble même permettre d'aller plus loin en apportant des informations complémentaires sur les infiltrations rapides à la source de Millet, ainsi qu'en distinguant les écoulements A et B du LSBB. Cependant les variations temporelles des composés fluorescents ainsi que du TTi sont difficiles à interpréter, faute de comparaison avec d'autres traceurs présentant une variabilité aussi forte et considérant le pas de temps d'échantillonnage utilisé dans cette étude (bimensuel). Cela suggère que les composés fluorescents permettent d'atteindre un niveau d'information non accessible par les autres traceurs utilisés sur le site jusqu'à présent. Cela souligne également la nécessité d'effectuer un nouveau suivi à un pas de temps plus fin afin de mieux appréhender la variabilité temporelle de la fluorescence de la matière organique.

De façon plus générale, ces travaux mettent en avant l'importance de caractériser les origines et les processus affectant le devenir des composés fluorescents avant toute interprétation de temps de séjour via le TTi, mais également avant l'interprétation de l'ensemble des indices de fluorescence. De plus, des connaissances sur l'activité microbiologique des hydrosystèmes sont également capitales puisqu'elle est à l'origine de la production et de la plupart des transformations de la matière organique. La poursuite du développement de l'utilisation de la fluorescence de la matière organique comme traceur naturel des temps de séjour en milieux

karstiques nécessite par conséquent une collaboration étroite entre les différentes communautés scientifiques (hydrogéologues, microbiologistes, pédologues, ...), afin de mieux comprendre les variations de cet outil.

III.3 Le potentiel des éléments en trace comme traceurs naturels des types de calcaires traversés par l'eau

Afin d'étudier le potentiel des éléments en trace (Li, B, Na, Mg, Al, Si, P, S, K, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Y, Cd, Ba et U) pour distinguer les lithologies calcaires traversées par l'eau, une méthode d'analyse des roches a été développée permettant d'extraire uniquement le signal de la fraction carbonatée des 107 échantillons de calcaires prélevés sur le système Fontaine de Vaucluse.

L'analyse statistique par clustering de la géochimie des roches distingue les signatures en éléments en trace des environnements de dépôts internes (plateforme) et de celles des environnements externes (pente/bassin). De plus fortes concentrations pour la majorité des éléments en trace constituent la caractéristique principale de la signature géochimique des faciès externes.

Cependant, malgré l'aptitude des éléments en trace à discriminer les différentes eaux étudiées (sources de Fontaine de Vaucluse, Millet, St Trinit, la Nesque, pertes de la Nesque et écoulements du LSBB), ces distinctions ne peuvent pas encore être reliées à la circulation d'eau au sein de différents environnements de dépôts. Néanmoins, à l'échelle de l'ensemble du système de Fontaine de Vaucluse, les variations observées dans les eaux ont pu être liées à l'influence du type de roches traversées (calcaire vs calcaire marneux).

Bien que le temps de transit soit étroitement lié à la lithologie puisqu'il dépend des propriétés structurales et hydrodynamiques des roches traversées (e.g. porosité, perméabilité, karstification, connectivité des réseaux de fracture), ces propriétés étant elles-mêmes liées à l'hétérogénéité des sédiments déposés et aux modifications post-dépôt; il n'en demeure pas moins un biais dans l'étude des liens entre les signatures en éléments en trace des eaux et des roches. En effet, l'augmentation du temps de transit engendre une augmentation des concentrations en éléments en trace, et c'est une augmentation de ces concentrations qui a été identifiée comme discriminantes des deux principales signatures géochimiques des roches du système Fontaine de Vaucluse.

Bien que le traitement de données et leur interprétation nécessitent encore d'être approfondis, le potentiel des éléments en trace semble bien présent, étant donné que des similarités entre les ACP réalisés sur les roches et celles sur les eaux ont pu être observées aux deux échelles (ensemble du système de Fontaine de Vaucluse et LSBB).

III.4 Amélioration de la compréhension des écoulements en zone non saturée du système Fontaine de Vaucluse

III.4.1 Petite échelle : écoulements du LSBB

L'étude des éléments majeurs, COT et paramètres physico-chimiques apporte des résultats comparables à ceux issus de l'étude de Barbel-Périneau et al. (2019) considérant 10 ans de chronique au pas de temps bi-mensuel au LSBB. Ces résultats suggèrent un temps de séjour croissant des écoulements C et AJ, D, aux écoulements A et B, notamment en montrant la similarité des signatures hydrochimiques des écoulements A et B. L'écoulement AJ n'est pas considéré par l'étude de Barbel-Périneau et al. (2019). Ces travaux de thèse ont néanmoins pu mettre en évidence une signature hydrochimique proche de celle de l'écoulement C, attribuée à des écoulements plutôt rapides.

L'étude de la matière organique fluorescence a permis de distinguer les écoulements C et AJ, ainsi que les écoulements A et B associés à des temps de transit comparables par les éléments majeurs, le COT et les paramètres physico-chimiques. D'après l'analyse des composés fluorescents et la comparaison des valeurs moyennes du T_{Ti}, le temps de séjour est croissant de l'écoulement C, AJ, D, A à B.

Les écoulements A et B avaient jusqu'ici été systématiquement regroupés, faute de trouver des paramètres capables de les distinguer (Barbel-Périneau, 2013; Barbel-Périneau et al., 2019; Blondel, 2008; Garry, 2007). Ces travaux de thèse ont permis de mettre en évidence une différence entre ces deux écoulements grâce à la fluorescence de la matière organique et aux éléments en trace et de façon cohérente avec la coupe géologique projetée des galeries du LSBB (écoulement A plus proche d'une faille, écoulement B résultant de l'intersection d'un niveau imperméable avec la galerie du LSBB).

III.4.2 Moyenne échelle : systèmes perchés de la zone non saturée du système de Fontaine de Vaucluse

Aux sources de St Trinit et de la Nesque, l'étude de la fluorescence de la matière organique a conduit à l'identification de contaminations anthropiques, particulièrement à la source de St Trinit dont l'intensité de fluorescence des composés humic-like M est importante. L'origine de cette contamination pourrait être liée à l'apport de matière organique pour l'agriculture (amendement, épandage).

La source de Millet a fait l'objet de plus d'investigations en raison de l'occupation du sol de son bassin d'alimentation très majoritairement naturel. A cette source, le débit augmente rapidement après les événements pluvieux indiquant que le karst est plutôt mature (bien développé). La conductivité électrique est bien corrélée avec les variations du débit avec un délai de 2 à 4 jours. Cette corrélation peut être le résultat d'un changement de délimitation du bassin d'alimentation qui sollicite des eaux anciennes stockées en dehors du bassin d'alimentation habituel (Ravbar et al., 2011), ou un apport d'eau stocké dans la zone non saturée (Emblanch et al., 2006).

Les éléments majeurs, le $\delta^{18}\text{O}$ et le COT varient peu à la source de Millet, suggérant la présence d'une zone de stockage de l'eau au sein de laquelle le mélange est particulièrement efficace. L'hypothèse de cette zone de fort mélange est cohérente avec la structure de la karstification de l'aquifère de Millet (anastomose).

A la source de Millet, le TTI a permis d'identifier des effets pistons de faible ampleur ainsi que des faibles proportions d'eau récemment infiltrées dans des mélanges encore jamais identifiés sur ce site.

La signature en éléments en trace de l'eau de la source de Millet est proche de celles retrouvées aux écoulements du LSBB, ce qui pourrait indiquer que le système karstique de cette source est développé dans des calcaires peu marneux, et/ou aux environnements de dépôt internes (plateforme).

IV. Perspectives de recherche

Les deux traceurs étudiés dans cette thèse (fluorescence de la matière organique et éléments en trace) sont plus sensibles et sont donc particulièrement adaptés à l'étude de la zone non saturée en milieu karstique. Aux sources étudiées comme aux écoulements du LSBB, ces

deux traceurs ont permis d'améliorer la compréhension des écoulements en cohérence avec les hétérogénéités connues du site d'étude (karstification, lithologie).

En raison des diverses contraintes temporelles rencontrées au cours de cette thèse (difficulté d'accès au site d'étude lors du creusement de la galerie MIGA, confinement strict et restrictions de circulation en contexte Covid), l'étude du potentiel des éléments en trace n'a pas pu être finalisée, tout comme le couplage entre éléments en trace et fluorescence de la matière organique. Le LSBB est le site idéal pour coupler ce genre d'informations en raison de :

- L'émergence de différents écoulements (de 4 à plus de 50) en zone non saturée karstique et en contexte naturel (absence de contamination anthropique) ;
- L'importance du jeu de données hydrochimiques disponibles (prélèvement et analyse bi-mensuelle des éléments majeurs, COT et isotopes stables de l'eau depuis 2002);
- La disponibilité d'une coupe géologique comprenant les potentielles barrières aux écoulements, les différentes séquences stratigraphiques et les failles principales ;
- Un grand nombre d'échantillons de roches prélevés sur place (68 dans la base de données de cette thèse) ;
- L'existence d'un modèle conceptuel des sources et processus affectant les différents types de matière organique fluorescente élaboré au cours de cette thèse ;
- La présence d'un site expérimental constitué de 3 forages (dont 1 carotté de 60 m, BFE) à Buissonnière, au-niveau de la sortie de secours du LSBB, près du point d'écoulement D;
- La disponibilité de travaux précédents et les travaux en cours sur des données géophysiques par l'Université de Grenoble et les partenaires du LSBB.

A l'issue de cette thèse, l'amélioration de la compréhension des écoulements du LSBB pourrait ainsi passer par:

- La caractérisation fine des signatures géochimiques des roches en replaçant sur la coupe géologique les échantillons de roches prélevés au LSBB; ainsi qu'en ajoutant aux éléments en trace de l'ACP des roches du LSBB des paramètres spécifiques des roches (e.g. $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, séquence stratigraphique). Cela permettrait de mieux caractériser l'origine des différentes signatures en éléments en traces observées et de les relier à des réservoirs et/ou des chemins spécifiques empruntés par l'eau en les couplant avec la coupe géologique → **compréhension "statique"** ;

- L'analyse des variations temporelles du débit, de la fluorescence de la matière organique, des signatures en éléments en trace, des éléments majeurs, du COT, et des isotopes stables de l'eau afin de caractériser les réponses des différents écoulements face aux événements pluvieux ainsi que le temps de transit → **compréhension “dynamique”**;
- Le croisement des informations issues du traçage naturel avec des données géophysiques (partenariat avec l'université de Grenoble, l'équipe du LSBB, et travaux précédents Carrière et al., 2016, 2013).

L'ensemble de ces recherches pourrait conduire à l'élaboration d'un modèle conceptuel du fonctionnement des écoulements du LSBB et en parallèle à la validation de l'utilisation des traceurs naturels développés dans cette thèse (majoritairement les éléments en trace). L'étude pourrait ensuite être transposée à différents autres sous-systèmes du système karstique de Fontaine de Vaucluse telles que les sources de Millet, St Trinit et de la Nesque en étudiant des façons d'adapter l'utilisation de la fluorescence de la matière organique et des éléments en trace dans des systèmes aux différents sols, occupation du sols (anthropisé ou non), aux différentes lithologies, afin notamment de mieux appréhender l'influence anthropique sur les traceurs naturels développés. L'étude des écoulements à ces différentes sources pourraient ensuite être transposée à d'autres sources du système. Cela permettrait de mieux appréhender le fonctionnement général du système karstique de Fontaine de Vaucluse afin notamment de mieux caractériser les différents compartiments qui contribuent à l'écoulement à l'exutoire, et ainsi mieux préserver la ressource en eau de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse d'un point de vu quantitatif et qualitatif.

Enfin, cette étude et l'application de ces deux traceurs naturels pourrait être transposée à d'autres systèmes karstiques (e.g. systèmes du réseau [SNO KARST](#)) afin d'améliorer de façon plus globale la compréhension des écoulements en zone non saturée, mieux caractériser la recharge et ainsi préserver la ressource en eau karstique.

Références

- Baker, A., Genty, D., 1999. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *J. Hydrol.* 217, 19–34. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(99\)00010-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(99)00010-4)
- Barbel-Périneau, A., 2013. Caractérisation du fonctionnement de la zone non saturée des aquifères karstiques: Approche directe par études hydrodynamiques et hydrochimiques sur le Bassin de Recherche, d'Expérimentation et d'Observation de Fontaine de Vaucluse – Laboratoire Souterrain à Bas Bruit de Rustrel – Pays d'Apt (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Barbel-Périneau, A., Barbiero, L., Danquigny, C., Emblanch, C., Mazzilli, N., Simler, L., Valles, V., 2019. Karst flow processes explored through analysis of long-term unsaturated-zone discharge hydrochemistry: a 10-year study in Rustrel, France. *Hydrogeol. J.* 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10040-019-01965-6>
- Blondel, T., 2008. 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 (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Blondel, T., Emblanch, C., Batiot-Guilhe, C., Dudal, Y., Boyer, D., 2012. Punctual and continuous estimation of transit time from dissolved organic matter fluorescence properties in karst aquifers, application to groundwaters of 'Fontaine de Vaucluse' experimental basin (SE France). *Environ. Earth Sci.* 65, 2299–2309. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1562-x>
- Blum, A., Chery, L., Barbier, J., Baudry, D., Petelet-giraud, E., 2003. Le fonds géochimique naturel des eaux souterraines. État des connaissances et méthodologie. *Houille Blanche* 120–124. <https://doi.org/10.1051/lhb/2003039>
- Carrière, S.D., Chalikakis, K., Danquigny, C., Davi, H., Mazzilli, N., Ollivier, C., Emblanch, C., 2016. The role of porous matrix in water flow regulation within a karst unsaturated zone: an integrated hydrogeophysical approach. *Hydrogeol. J.* 24, 1905–1918. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1425-8>
- Carrière, S.D., Chalikakis, K., Sénéchal, G., Danquigny, C., Emblanch, C., 2013. Combining Electrical Resistivity Tomography and Ground Penetrating Radar to study geological structuring of karst Unsaturated Zone. *J. Appl. Geophys.* 94, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.jappgeo.2013.03.014>
- Chen, Z., Auler, A.S., Bakalowicz, M., Drew, D., Griger, F., Hartmann, J., Jiang, G., Moosdorf, N., Richts, A., Stevanovic, Z., Veni, G., Goldscheider, N., 2017. The World Karst Aquifer Mapping project: concept, mapping procedure and map of Europe. *Hydrogeol. J.* 25, 771–785. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1519-3>
- Conmy, R.N., Coble, P.G., Cannizzaro, J.P., Heil, C.A., 2009. Influence of extreme storm events on West Florida Shelf CDOM distributions. *J. Geophys. Res.* 114, G00F04. <https://doi.org/10.1029/2009JG000981>
- Delpomdor, F., Blanpied, C., Virgone, A., Prétat, A., 2013. Paléoenvironnements in Meso–Neoproterozoic carbonates of the Mbujji-Mayi Supergroup (Democratic Republic of Congo) – Microfacies analysis combined with C–O–Sr isotopes, major-trace elements and REE+Y distributions. *J. Afr. Earth Sci.* 88, 72–100. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2013.09.002>
- Gabor, R.S., Baker, A., McKnight, D.M., Miller, M.P., 2014. Fluorescence indices and their interpretation, in: *Aquatic Organic Matter Fluorescence*.
- Garry, B., 2007. Etude des processus d'écoulements 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). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Gholami Zadeh, P., Adabi, M.H., Sadeghi, A., 2019. Microfacies, geochemistry and sequence stratigraphy of the Sarvak Formation (Mid Cretaceous) in the Kuh-e Siah and Kuh-e Mond, Fars area, southern Iran. *J. Afr. Earth Sci.* 160, 103634. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2019.103634>

- Hood, A. v.S., Planavsky, N.J., Wallace, M.W., Wang, X., 2018. The effects of diagenesis on geochemical paleoredox proxies in sedimentary carbonates. *Geochim. Cosmochim. Acta* 232, 265–287. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.04.022>
- Hu, D., Indika, S., Zhong, H., Weragoda, S.K., Jinadasa, K.B.S.N., Weerasooriya, R., Wei, Y., 2023. Fluorescence characteristics and source analysis of DOM in groundwater during the wet season in the CKDu zone of North Central Province, Sri Lanka. *J. Environ. Manage.* 327, 116877. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116877>
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002>
- Jiang, Y., Li, R., Yang, Y., Yu, M., Xi, B., Li, M., Xu, Z., Gao, S., Yang, C., 2019. Migration and evolution of dissolved organic matter in landfill leachate-contaminated groundwater plume. *Resour. Conserv. Recycl.* 151, 104463. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104463>
- Li, X., Gang, W., Yao, J., Gao, G., Wang, C., Li, J., Liu, Y., Guo, Y., Yang, S., 2020. Major and trace elements as indicators for organic matter enrichment of marine carbonate rocks: A case study of Ordovician subsalt marine formations in the central-eastern Ordos Basin, North China. *Mar. Pet. Geol.* 111, 461–475. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2019.08.028>
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* 46, 38–48. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038>
- Nelson, C.E., Donahue, M.J., Dulaiova, H., Goldberg, S.J., La Valle, F.F., Lubarsky, K., Miyano, J., Richardson, C., Silbiger, N.J., Thomas, F.I.M., 2015. Fluorescent dissolved organic matter as a multivariate biogeochemical tracer of submarine groundwater discharge in coral reef ecosystems. *Mar. Chem.* 177, 232–243. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.06.026>
- Ohno, T., 2002. Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 36, 742–746. <https://doi.org/10.1021/es0155276>
- Ollivier, C., 2020. Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrosystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France (PhD). Université d'Avignon.
- Puig, J.M., 1987. Le système karstique de la Fontaine de Vaucluse (PhD). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Serène, L., Batiot-Guilhe, C., Mazzilli, N., Emblanch, C., Babic, M., Dupont, J., Simler, R., Blanc, M., Massonnat, G., 2022. Transit Time index (TTi) as an adaptation of the humification index to illustrate transit time differences in karst hydrosystems: application to the karst springs of the Fontaine de Vaucluse system (southeastern France). *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 26, 5035–5049. <https://doi.org/10.5194/hess-26-5035-2022>
- Zheng, Y., He, W., Li, B., Hur, J., Guo, H., Li, X., 2020. Refractory Humic-like Substances: Tracking Environmental Impacts of Anthropogenic Groundwater Recharge. *Environ. Sci. Technol.* 54, 15778–15788. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04561>
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0)

Résumé de la thèse

La ressource en eau est un enjeu majeur du fait de sa grande vulnérabilité face aux changements globaux (changement climatique, augmentation démographique, évolution des modes de vie). Les eaux souterraines des aquifères karstiques constituent une ressource importante représentant 25% de l'alimentation en eau potable dans le monde et 40% en France (Chen et al., 2017). Cependant, la compréhension du fonctionnement de ces aquifères est limitée du fait de leur forte hétérogénéité. L'étude de ces aquifères repose ainsi largement sur des approches de traçage hydrogéochimique permettant de lisser ces hétérogénéités à l'échelle du système étudié.

Ces travaux de thèse visent à améliorer l'utilisation d'un traceur spécifique, la fluorescence de la matière organique naturelle, et développer les éléments en trace comme des indicateurs des chemins empruntés par l'eau au sein de différentes formations carbonatées. Les prélèvements et analyses réalisés à un pas de temps bi-mensuel de juin 2020 à octobre 2021 constituent un jeu de données conséquent et inédit quantifiant fluorescence naturelle, géochimie des éléments majeurs et en trace, carbone organique total, de 16 sources et écoulements souterrains de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, ainsi que la géochimie de 107 échantillons de roches représentatifs des différents types de formations carbonatées de ce système karstique.

Ces résultats ont permis (i) d'établir une critique méthodologique de l'usage actuel des indices de fluorescence et de proposer des pistes d'évolution techniques et conceptuelles, (ii) de reconstruire la relation qualitative entre temps de transit et fluorescence naturelle, (iii) de mettre en évidence le potentiel des éléments en trace comme traceur naturel des types de calcaires traversés par l'eau.

Water resources are a major issue due to their great vulnerability to global change (climate change, population growth, changing lifestyles). Groundwater in karst aquifers is an important resource, accounting for 25% of the world's drinking water supply and 40% in France (Chen et al., 2017). However, the understanding of the functioning of these aquifers is limited due to their high heterogeneity. The study of these aquifers thus relies heavily on natural tracing approaches to smooth out these heterogeneities at the scale of the system under study.

The aim of this thesis is to improve a specific tracer, the fluorescence of organic matter, and to develop a natural tracer of the types of limestone through which the water flows. Sampling and analysis performed at a bi-monthly time scale from June 2020 to October 2021 have led to the constitution of a new data set quantifying natural fluorescence, trace and major chemistry, total organic carbon of 16 springs and underground flows of the Fontaine de Vaucluse aquifer, as well as the chemistry of 107 rock samples representative of different types of limestone.

These results allowed (i) to establish a methodological review of the current use of fluorescence indices and to propose technical and conceptual evolution paths, (ii) to reconstruct the qualitative relationship between transit time and natural fluorescence, (iii) to highlight the potential of trace elements as a natural tracer of the types of limestones crossed by the water.