

Louise Dernaucourt
L3 STE, Université d'Avignon



Rapport de stage

Stage Laboratoire d'Hydrogéologie – UMR EMMAH – Université d'Avignon

Dates : Du 24/04/2023 au 09/06/2023

Tuteur de stage : Dupont Julien, Technicien chimiste

Sujet : *Optimisation d'une méthode d'analyse de la fluorescence naturelle de l'eau pour la caractérisation de la matière organique.*



Année universitaire : 2022-2023

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Table des illustrations | 3 |
| Remerciements | 4 |
| Résumé..... | 5 |
| Introduction..... | 6 |
| I. Fluorescence de la matière organique..... | 6 |
| 1) La fluorescence de la matière organique | 6 |
| 2) Types de matières organiques fluorescentes | 8 |
| 3) Estimation du temps transit avec le TTi (Time Transit index)..... | 10 |
| II) L'aquifère karstique de Fontaine de Vaucluse | 10 |
| III) La Fontaine de Vaucluse..... | 10 |
| 1) Présentation | 10 |
| 2) Fonctionnement hydrodynamique..... | 11 |
| IV) Le Laboratoire souterrain à bas bruit de Rustrel | 11 |
| 1) Histoire | 11 |
| 2) Le laboratoire souterrain à bas bruit | 11 |
| V) Méthode | 12 |
| 1) Suivi de la fluorescence..... | 12 |
| 2) Suivi de la chimie | 13 |
| 3) Analyse spectrophotométrique de la fluorescence..... | 14 |
| 4) Traitements des données | 15 |
| VI) Résultats | 17 |
| 1) Matrices d'excitation/émission 3D..... | 17 |
| 2) Variation temporelle des composés..... | 18 |
| Conclusion | 22 |
| Annexe, bibliographie..... | 23 |

Table des illustrations

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Le processus de fluorescence : passage d'un état excité à un état fondamentale avec émission d'une longueur d'onde. Source : [https://theory.labster.com/fluorescence-fr/] | 7 |
| Figure 2 : Exemple d'un spectre 3D : Ecxitation en fonction de l'émission avec l'intensité lumineuse proportionnelle à l'intensité de fluorescence. (Échelle : max : 400 000, min : 0) .. | 8 |
| Figure 3 : Rayonnements d'interférences : Rayleigh, Raman et Harmoniques sur les matrices 3D. (Échelle : max : 400 000, min : 0) | 8 |
| Figure 4 : Comportement des molécules organiques rigides et flexibles suite à l'incidence d'un photon..... | 9 |
| Figure 5 : Modèle d'indentification des composés fluorescents (Leila serène, 2023)..... | 9 |
| Figure 6 : Position des galeries du LSBB au sein de la Grande Montagne..... | 12 |
| Figure 7 : Localisation des points d'écoulement dans les galeries du LSBB (Barbel, Perineau, 2014) | 12 |
| Figure 8 : Chronologie des prélèvement effectués lors de ce stage | 13 |
| Figure 9 : 5 points de Prélèvement du LSBB..... | 13 |
| Figure 10 : Point de prélèvement Fontaine de Vaucluse. Source : [Google Earth] | 13 |
| Figure 11 : Spectrofluorimètre Shimazu RF-6000 de l'Université d'Avignon..... | 14 |
| Figure 12 : Découpage des rayonnements d'interférences | 15 |
| Figure 13 : Extraction des maximums d'intensité des fenêtres des composés organiques.. | 16 |
| Figure 14 : Résultats obtenus avec le modèle Peak-picking pour les humic-like C (appelés ici H1 et H2). | 16 |
| Figure 15 : Matrices 3D des points d'écoulement du LSBB et de Fontaine de Vaucluse du 14/04/2023 (échelle : max : 400 000 et min : 0)..... | 18 |
| Figure 16 : Suivi de la fluorescence point A | 19 |
| Figure 17 : Suivi de la fluorescence point B | 19 |
| Figure 18 : Suivi de la fluorescence point C | 20 |
| Figure 19 : Suivi de la fluorescence point D | 20 |
| Figure 20 : Suivi de la fluorescence point AJ..... | 21 |
| Figure 21 : Suivi de la fluorescence de Fontaine de Vaucluse | 21 |

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon tuteur, Julien Dupont pour son accompagnement et pour le temps qu'il a consacré à ce stage.

Je remercie également, Leïla Serène pour son écoute et sa bienveillance.

Résumé

La matière organique retrouvée dans les eaux souterraines provient principalement de la végétation en surface et du sol. Grâce à la mesure de la fluorescence de la matière organique, il est possible d'identifier les types de matière organique présents, de type protéique : tryptophane et tyrosine ou humique : humic-like M et humic-like C. Cette méthode consiste à irradier la matière organique avec une longueur d'onde et de mesurer l'intensité de fluorescence émise suite à cette excitation. Cette mesure est réalisée en laboratoire avec un appareil appelé spectrofluorimètre. Elle nécessite d'être optimisé car elle a été réalisée sur un pas de temps long de quinze jours avec un ancien spectrofluorimètre. Pour répondre à ces objectifs, la fluorescence de la matière organique a été mesurée avec un nouveau spectrofluorimètre à un pas de temps de 2 à 7 jours sur les eaux de Fontaine de Vaucluse et sur les écoulements en zone non saturée du LSBB (système karstique de Fontaine de Vaucluse, sud-est France). En plus de l'élaboration d'un protocole d'analyse adapté au nouvel appareil, les résultats ont montré que le pas de temps semble bien adapté au humic-like C qui ne varient presque pas dans le temps. Il reste en revanche encore trop court pour la tyrosine, le tryptophane et l'humic-like M. Pour remédier à ce problème, il faudrait alors considérer un suivi continu via par exemple des spectrofluorimètres de terrain (GGUN).

Introduction

La matière organique retrouvée dans les eaux souterraines provient principalement de la végétation en surface. Une fois dans le sol, la matière organique est partiellement transformée par les microorganismes. Elle est ensuite mobilisée au moment de l'infiltration de l'eau de pluie et transportée jusque dans l'aquifère. Une partie de la matière organique est capable d'émettre un photon (signal de fluorescence) en réponse à une interaction avec un photon incident. La différence de longueur d'onde entre le photon incident et le photon émis varie en fonction des types de matière organique et permet de distinguer notamment la matière organique de type humique (humic-like) et de type protéique (protein-like). Le suivi de ces composés fluorescents a été réalisé au niveau de l'aquifère de Fontaine de Vaucluse sur un pas de temps de quinze jours avec un ancien appareil de mesure. Les résultats ont montré que ce pas de temps n'est pas adapté en raison de la variabilité haute fréquence de la fluorescence de la matière organique. De plus, un nouvel appareil de mesure a pu être acquis. L'objectif de mon stage est donc d'adapter le protocole d'analyse sur le nouvel appareil de mesure, ainsi que de réaliser un suivi sur un pas de temps plus fin afin de déterminer le pas de temps adapté à l'interprétation des données de fluorescence de la matière organique.

Dans la première partie de ce rapport de stage, nous aborderons les bases de la fluorescence de la matière organique et nous présenterons le système karstique de Fontaine de Vaucluse. La seconde partie sera consacrée à l'élaboration du protocole d'analyse de la fluorescence de la matière organique ainsi qu'à la discussion des résultats obtenus au cours du suivi réalisé.

I. Fluorescence de la matière organique

La matière organique est une substance issue de la dégradation de la matière végétale et animale. Elle correspond à un ensemble de molécules complexes composés principalement d'atomes de carbones. Ces molécules sont capables de se lier à l'eau et de transiter jusque dans l'aquifère.

1) La fluorescence de la matière organique

La fluorescence apparaît lorsque les molécules organiques entrent en contact avec un photon incident. Elle peut être résumée en deux étapes (*figure 1*) :

1. **L'excitation** : L'énergie du photon excite la molécule en la faisant passer d'un état fondamental à un état énergétique supérieur.
2. **L'émission** : La molécules organique retrouve son état initial en émettant un autre photon de longueur d'onde généralement plus longue ([Batiot, 2002](#)). C'est cette émission de photon ou encore cette relaxation qui va être à l'origine de la libération d'énergie lumineuse caractéristique de la fluorescence.

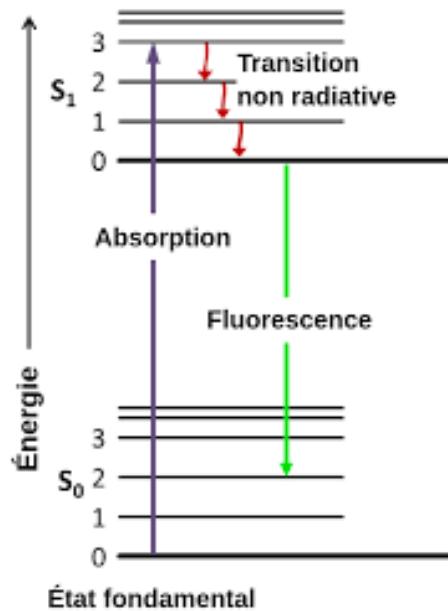


Figure 1 : Le processus de fluorescence : passage d'un état excité à un état fondamentale avec émission d'une longueur d'onde. Source : [\[https://theory.labster.com/fluorescence-fr/\]](https://theory.labster.com/fluorescence-fr/)

Chaque molécule organique fluorescente possède un spectre d'absorption et d'émission unique associé à une intensité de fluorescence. Toutes ces valeurs peuvent être mesurées en laboratoire avec un spectrofluorimètre, en envoyant une longueur d'onde d'excitation sur le contenu organique d'un échantillon et mesurant la longueur d'ondes émise lors de sa fluorescence. Cet appareil balaie ainsi une série de longueurs d'ondes d'excitation consécutives et mesure l'intensité de fluorescence de chacune d'entre elles. Il en résulte une matrice d'excitation/émission 3D ou EEM composée de 3 axes : L'excitation (ordonnée), l'émission (abscisse) et l'intensité (signal lumineux) (figure 2).

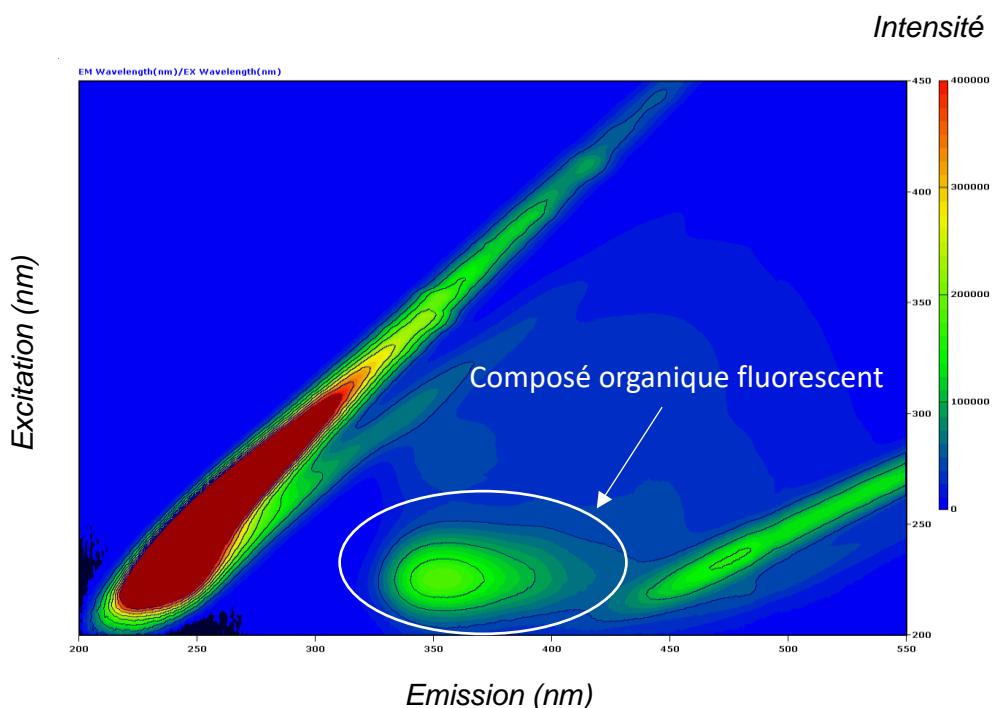


Figure 2 : Exemple d'un spectre 3D : Ecxitation en fonction de l'émission avec l'intensité lumineuse proportionnelle à l'intensité de fluorescence. (Échelle : max : 400 000, min : 0)

Certains rayonnements vont interférer avec les molécules d'eau et perturber les matrices et spectres obtenus. En effet, lorsqu'une onde électromagnétique (ici, la lumière) entre en contact avec les molécules d'eau, elle peut être diffusé ou absorbé plus ou moins intensément. Les ondes réémises peuvent parfois « cacher » le signal émis par la matière organique. Dans le cas d'une étude de fluorescence, quatre rayonnements sont susceptibles d'altérer la lisibilité des matrices d'émission/excitation : La diffusion de Raman, Rayleigh, Tyndall et les harmoniques (figure 3).

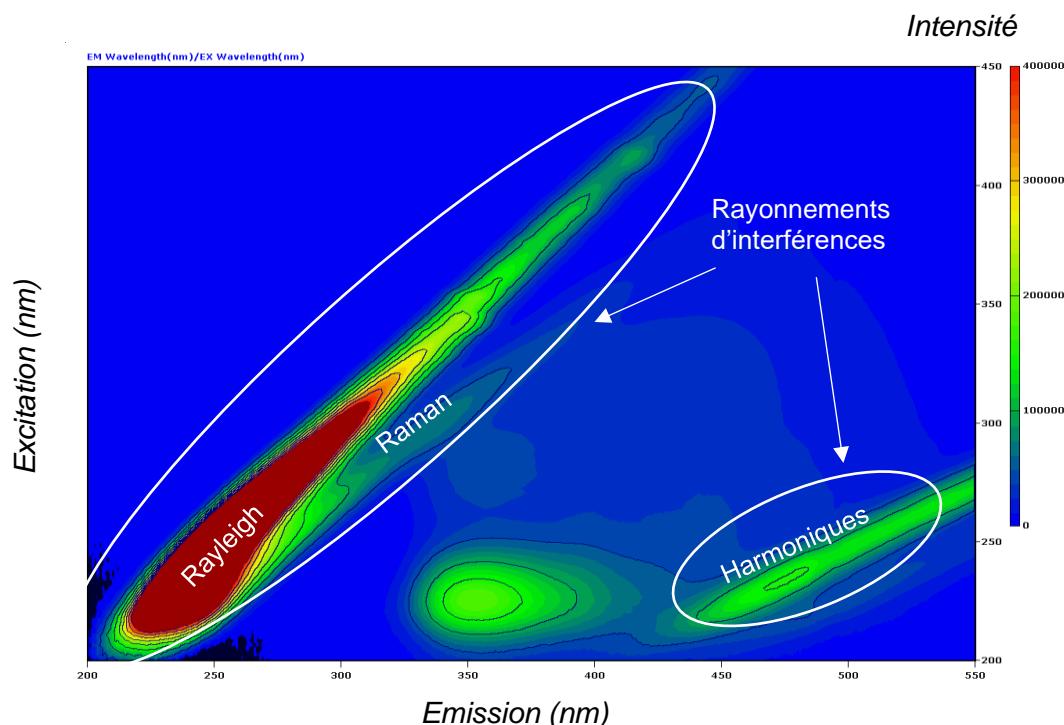


Figure 3 : Rayonnements d'interférences : Rayleigh, Raman et Harmoniques sur les matrices 3D. (Échelle : max : 400 000, min : 0)

2) Types de matières organiques fluorescentes

Toutes les molécules organiques ne sont pas sensibles à la fluorescence. Plus une molécule est rigide (noyaux aromatiques, doubles liaisons...) et plus elle sera capable d'emmène de la fluorescence (figure 4). Les groupes qui leur confèrent cette rigidité sont appelés « fluorophores », il en existe plusieurs types : protéiques, humiques (...). Les molécules qui n'émettent pas de fluorescence sont généralement plus souples (liaisons simples) et vont préférentiellement vibrer sous l'influence d'une onde électromagnétique (Serène, 2023).



Figure 4 : Comportement des molécules organiques rigides et flexibles suite à l'incidence d'un photon.

Dans l'eau, deux grandes familles de molécules organiques fluorescentes existent : Les composés protéiques ou "protein-like" et les composés humiques ou "humic-like". Les composés humiques ont généralement une structure plus complexe et des longueurs d'onde d'émission plus grandes et que celle des composés protéiques (Serène, 2023). Dans le cas de l'étude de l'aquifère karstique de Fontaine de Vaucluse, seules certains composés protéiques et humiques sont étudiés : La tyrosine et le tryptophane pour les composés protéiques (protein-like) et l'humic-like C et l'humic-like M pour les composés humiques (humic-like). Les processus conduisant à la formation de ces composés sont complexes. Les humic-like C sont généralement issus de la matière organique fraîche (lignine), riche en composés aromatiques et les humic-like M de la complexation des résidus d'activités biologiques. Les protein-like semblent quant à eux provenir de l'activité biologique. (Serène, 2023)

Chacun de ces composés possède un couple excitation/émission caractéristique associé à un pic d'intensité. On peut de cette manière les localiser sur les matrices 3D. Sur le modèle de reconnaissance de Leila Serène, les composés humiques apparaissent sur des plages plus ou moins larges (grands rectangles bleus) et les composés protéiques à des endroits plus localisés (croix ou rectangles bleus) (figure 5).

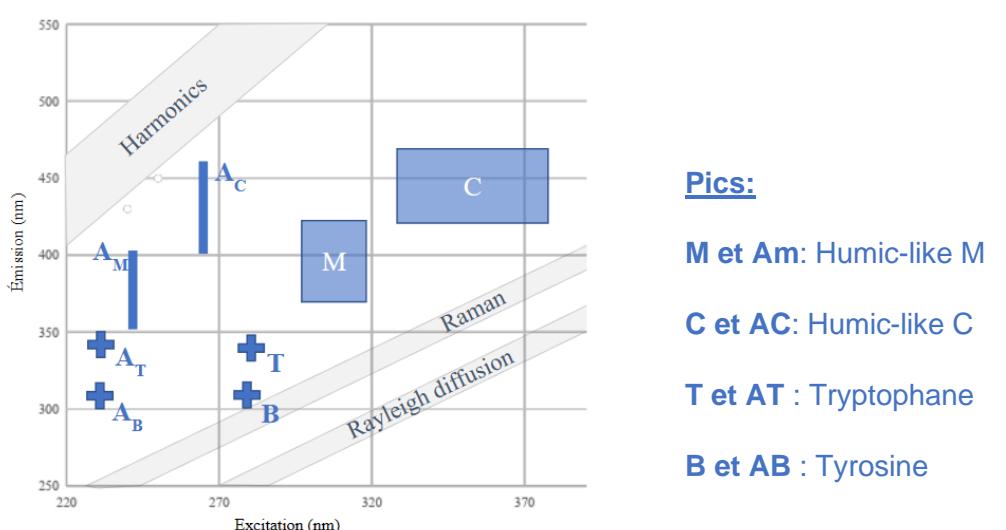


Figure 5 : Modèle d'indentification des composés fluorescents (Leila serène, 2023).

3) Estimation du temps transit avec le TTi (Time Transit index)

Au cours de sa thèse, Leïla Serène a proposé d'estimer le temps de séjour avec un indice appelé le TTi (Time Transit index). Il permet de rendre compte de la variation temporelle de l'ensemble des composés de l'aquifère par rapport à un composé stable, l'humic-like C. En effet, la proportion des composés humiques et protéiques varie en fonction du temps de séjour de l'eau au sein d'un aquifère. Au niveau des sources principales de l'aquifère, le TTi diminue lorsque le temps de séjour augmente car les protein-like sont dégradées avec le temps. En revanche, au niveau du LSBB la proportion de protein-like augmente avec le temps car les ces molécules sont produites au sein de l'aquifère.

$$TTi = \frac{Humic - like C}{protein - like + Humic - like} \quad (Serène, 2023)$$

II) L'aquifère karstique de Fontaine de Vaucluse

Un aquifère karstique est un réservoir complexe et hétérogène qui résulte de la dissolution chimique et de l'érosion mécanique des roches carbonatées. (Ollivier, 2020) Il possède une structure particulière, composée de vides de grande envergure et de matrices rocheuses, qui lui permet de se distinguer des autres aquifère. Le système de Fontaine de Vaucluse situé au Sud-Est de la France, fait partie de ces aquifères karstiques. Son impluvium s'étend entre la chaîne du Mont-Ventoux-Lure au Nord et la plaine d'Apt au Sud sur une superficie de 1160 km² (Ollivier, 2020). Le sol de l'impluvium est peu anthropisé et dominé par des forêts de chênesverts et de pins sylvestres (85% du bassin). (Blondel, 2008) La particularité de ce système provient de l'épaisseur de la zone non saturée puisque celle-ci peut atteindre jusqu'à 800 mètres à certains endroits de l'aquifère. (Serène, 2023)

III) La Fontaine de Vaucluse

1) Présentation

La fontaine de Vaucluse est le principal exutoire du réservoir aquifère de Fontaine de Vaucluse (95% des sorties de l'aquifère) (C.Emblanch, J. M Puig, B Blavoux, C Gevaudan, 2003) et une des exsurgences les plus productives d'Europe. Elle correspond à une vasque verticale situé au pied d'une falaise de deux cent mètre de hauteur depuis laquelle l'eau souterraine émerge et donne naissance à la rivière de la Sorgue. Cette rivière aménagée dès l'Antiquité pour l'irrigation et l'énergie hydraulique, est à l'origine du réseau des rivières des Sorgues qui serpentent la région et rejoignent l'Ouvèze, un affluent du Rhône.

2) Fonctionnement hydrodynamique

Les débits et hauteurs d'eau sont mesurées depuis 1869 par les échelles graduées du Sorgomètre. Le débit moyen mensuel calculé sur la période 1996-2023 est de 17,3 m³/s avec des débits journaliers compris entre 4 m³/s et 85 m³/s ([Hydroportail](#)). La vasque déborde généralement au cours de l'automne ou du printemps lorsque le débit excède 20 m³/s. Ces deux dernières années, la vasque a débordé une fois au cours du mois de décembre 2022 avec un débit de 60 m³/s. Les mois suivants ont été ensuite particulièrement secs, ce qui a entraîné la diminution progressive du débit vers des valeurs proche de 6 m³/s. ([Hydroportail](#))

IV) Le Laboratoire souterrain à bas bruit de Rustrel

1) Histoire

Le LSBB était durant la Guerre froide un poste de tire militaire (PCT1) où siégeait la force de dissuasion nucléaire Française. Il faisait partie d'un vaste réseau militaire étendu dans toute la région. Il correspond à 2 galeries souterraines enfouies à 500 m sous le plateau d'Albion spécialement conçue pour résister à une attaque nucléaire. Ces galeries ont été creusées dans le massif calcaire de la Grande montagne au Nord du village de Rustrel et sont accessibles via l'entrée principale située au sud de la Grande Combe.

2) Le laboratoire souterrain à bas bruit

Après son démantèlement en 1996, le site est reconvertis en plateforme pluridisciplinaire de recherche scientifiques. Il regroupe aujourd'hui de multiples champs disciplinaires de recherches allant de l'hydrogéologie à l'astronomie. Le laboratoire a l'avantage d'être isolé du "buit" extérieur, c'est-à-dire isolé des perturbations anthropiques, des ondes électromagnétiques et d'une partie des ondes gravitationnelles.

Les galeries ont également été creusées au sein même de la zone non de l'aquifère, faisant de Rustrel un site d'observation unique pour l'étude hydrogéologique. Les galeries sont parcourues par plusieurs points d'écoulement d'eau qui ont pu être dégagés en perçant la paroi de béton qui isolait l'intérieur de la galerie. Les galeries comportent 3 points d'écoulements permanents : Le point A (442 mètres de profondeur) ; le point B (421 mètres) et le point D (33 mètres) et deux points d'écoulement temporaires : Le point AJ (359 mètres) et le point C (256 mètres). ([Barbel-Perineau, 2013 et Serène, 2023](#)) Certains points disposent d'un fluorimètre de terrain de type GGUN-FL30 mesurant de manière automatique le couple "d'excitation-émission" de la matière organique.

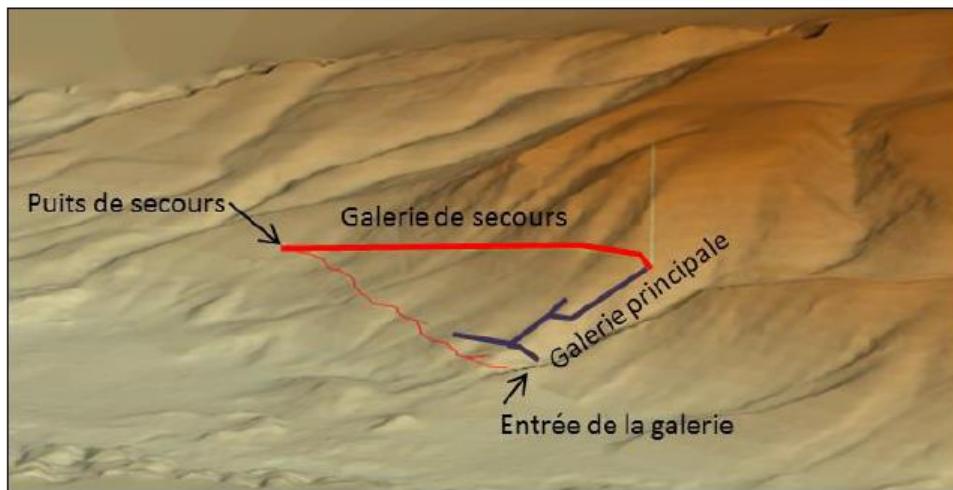


Figure 6 : Position des galeries du LSBB au sein de la Grande Montagne.

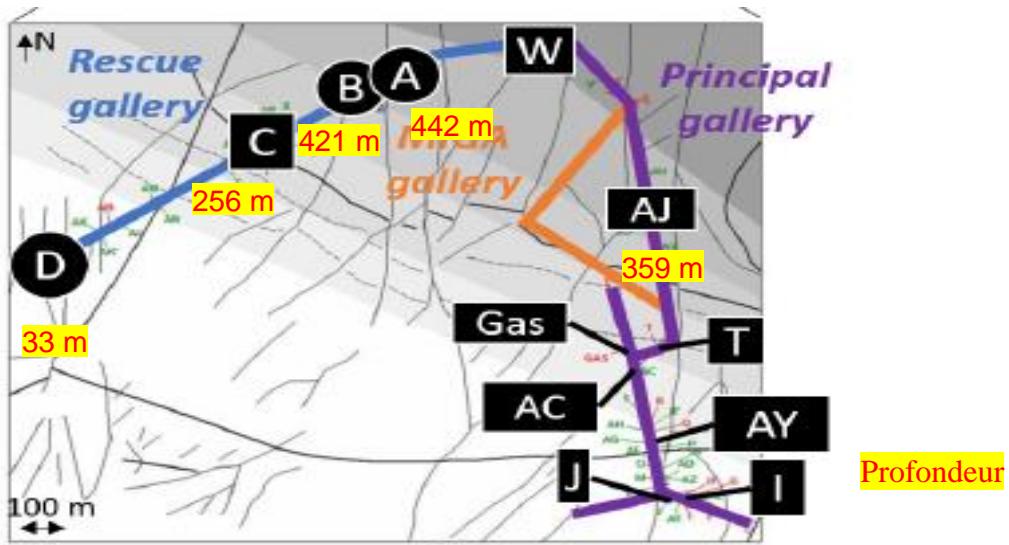


Figure 7 : Localisation des points d'écoulement dans les galeries du LSBB (Barbel, Perineau, 2014)

V) Méthode

1) Suivi de la fluorescence

Pour le suivi de la fluorescence, l'eau est prélevée dans des flacons en verre ambré de 40 ml préalablement décontaminés lors de leur fabrication et rincés 6 fois avec de l'eau de l'échantillonnage. En rinçant plusieurs fois le flacon, on évacue les éventuels résidus qui n'auraient pas été éliminés lors de la décontamination. L'eau brute doit être ensuite analysée dans les 48h suivant le prélèvement pour éviter que la matière organique ne soit dégradée par l'activité biologique.

Dans notre étude, les prélèvements de la matière organique ont été réalisés 1 à 2 fois par semaines, en fonction des jours ouvrés disponibles. Cela permet de suivre l'évolution de la matière organique sur un pas de temps très court (Figure 8). L'eau de Fontaine de Vaucluse

a été prélevée directement dans la Sorgue au niveau d'une arrivée d'eau pérenne et celle du LSBB au niveau des points d'écoulement souterrains habituels. On totalise 6 points de prélèvements : 1 à Fontaine de Vaucluse (FV) et 5 au LSBB (A, B, C, D et AJ) (Figure 9 et 10).



Figure 8 : Chronologie des prélèvements effectués lors de ce stage

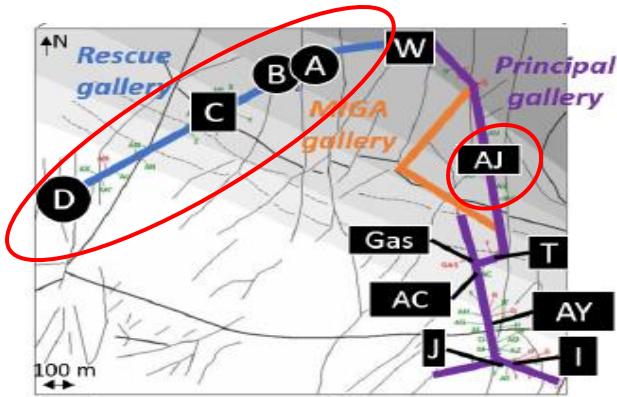


Figure 9 : 5 points de Prélèvement du LSBB

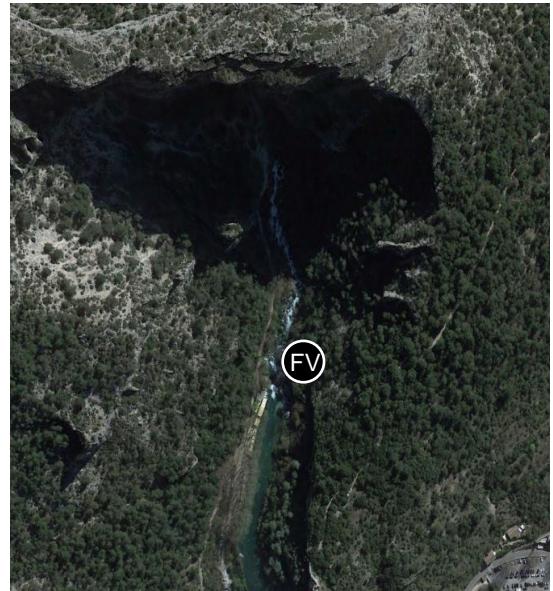


Figure 10 : Point de prélèvement Fontaine de Vaucluse.
Source : [Google Earth]

2) Suivi de la chimie

Un suivi hydrochimique a été réalisé sur chaque point de prélèvement de la fluorescence. Ainsi, avant chaque prélèvement les paramètres physico-chimiques (*température, conductivité, oxygène dissous et pH*) ont été mesurés avec un multi paramètre et mémorisés dans l'application KoboCollect. Plusieurs prélèvements ont ensuite été effectués pour suivre la concentration de certains éléments : Cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ et K^+) ; anions (HCO_3^{2-} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) ; oxygène 18, deutérium ; carbone organique total et éléments traces (métaux). Chacun de ces éléments font l'objet d'un prélèvement spécifique.

En parallèle, un suivi dynamique a été effectué au LSBB en relevant les débits des points d'écoulements. A la Fontaine de Vaucluse, ce suivi est réalisé automatiquement par la station d'enregistrement installée à proximité du point de prélèvement.

3) Analyse spectrophotométrique de la fluorescence

La mesure de la fluorescence a été effectuée au laboratoire d'Avignon avec le spectrofluorimètre Shimazu RF-6000 (*figure 11*). Il balaie des longueurs d'onde d'émission comprises entre 200 à 900 nm à une vitesse de seulement 60 nm/min. Lors de l'analyse de la fluorescence de Fontaine de Vaucluse, les paramétrages choisis pour l'analyse sont : $\lambda_{excitation} = 200$ nm à 450 nm pour un intervalle de 2 nm et $\lambda_{emmission} = 200$ à 550 nm pour un intervalle de 1 nm.



Figure 11 : Spectrofluorimètre Shimazu RF-6000 de l'Université d'Avignon

L'appareil doit être conditionné et vérifié avant chaque analyse avec de l'eau ultra pure milliQ en suivant 3 étapes :

- 1) Mesure du bruit de fond de l'appareil (Rapport signal sur bruit : S/N)
- 2) Mesure du Raman 348 et 350 avec des spectres 2D
 $\lambda_{excitation} = 348$ ou 350; $\lambda_{emmission} = \text{mesurée}$
- 3) Mesure du blanc de l'appareil
 $\lambda_{excitation} = 500$; $\lambda_{emmission} = 350$

On réalise ensuite un blanc 3D de l'eau ultra pure pour tous les échantillons analysés le même jour. Ce blanc sera soustrait aux spectres des échantillons dans le but d'éliminer les diffusions naturelles de la molécule d'eau (rayonnements de Raman, Rayleigh, Tyndall ainsi que leurs harmoniques). Cela permet d'obtenir le spectre le plus exploitable possible. Lorsque les différents conditionnements de l'appareil ont été réalisés, les échantillons peuvent être analysés à leur tour. Il est nécessaire de veiller à bien rincer la cuve avec de l'eau milliQ et de l'éthanol entre chaque échantillon.

Les données des matrices 3D de ces échantillons sont ensuite extraites pour le retraitement.

4) Traitements des données

Les données extraites des matrices 3D sont traitées à l'aide d'un script R développé par Leila Serène au cours de sa thèse. Ce script a été créé sur le logiciel R studio et fait appel au package *staRdom* permettant la correction des artefacts. Il aura notamment pour rôle de corriger l'effet Raman par soustraction des échantillons d'eau ultrapure ; de corriger les effets de dispersions de Rayleigh, Tyndall et les harmoniques par le découpage des bandes et des harmoniques (*figure 12*) ; d'interpoler les parties découpées et de lisser les données. ([Serène, 2023](#))

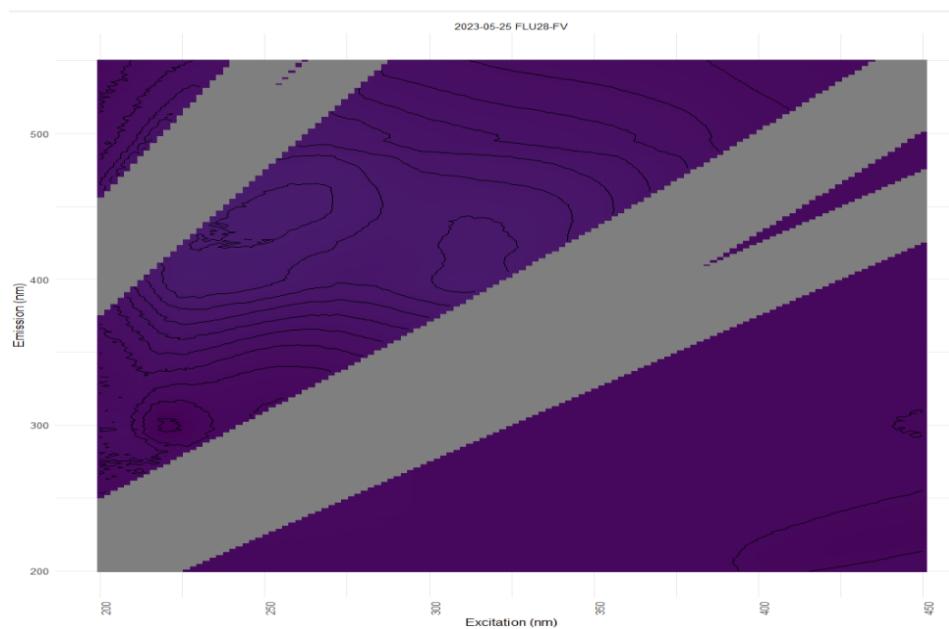


Figure 12 : Découpage des rayonnements d'interférences

Les composés organiques des échantillons ont ensuite été caractérisés avec un modèle nommé Peack picking. Il permet d'identifier et d'extraire le maximum de fluorescence à partir de fenêtres à plages prédéfinies sur les matrices 3D (*figure 13*). ([Serène, 2023](#)) Au cours du stage, ces fenêtres ont été redimensionnées et déplacées sur la matrice pour pouvoir être utilisées sur le nouveau spectrofluorimètre.

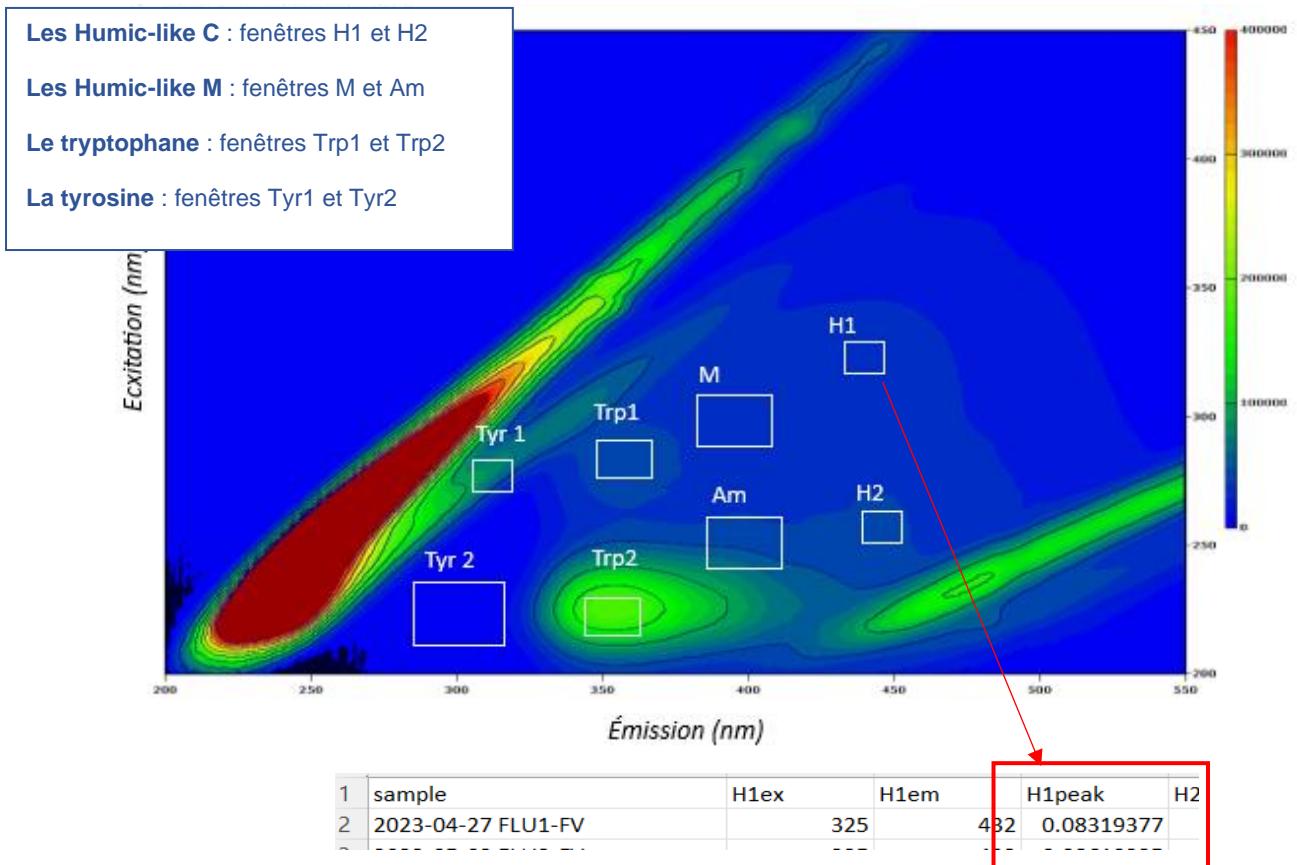


Figure 13 : Extraction des maximums d'intensité des fenêtres des composés organiques.

Après extraction de l'intensités des fenêtres de l'ensembles des échantillons, on obtient un tableau contenant le nom des échantillons et les pics d'intensité associés. Dans les résultats obtenus ci-dessous pour les humic-like C (H1 et H2), les colonnes H1peak et H2peak correspondent au pic d'intensité extrait des matrices. La somme des pics H1 et H2 correspond à la colonne H. Cette somme permettra de construire des graphiques et d'observer la variation temporelle des composés.

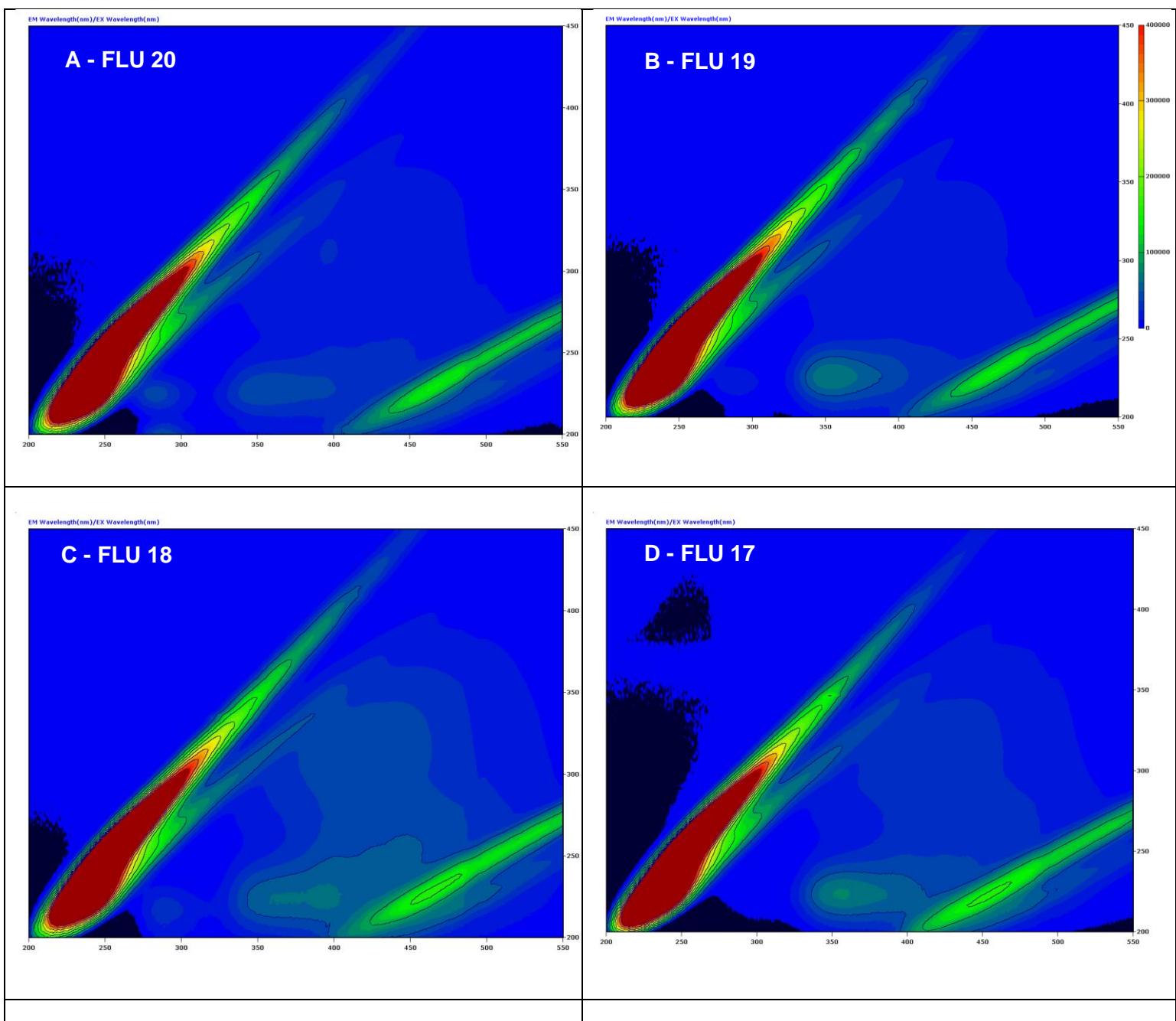
| A | B | C | D | E | F | G | H |
|---------------------|------|------|------------|------|------|------------|------------|
| sample | H1ex | H1em | H1peak | H2ex | H2em | H2peak | H |
| 2023-04-27 FLU1-FV | 325 | 432 | 0.08319377 | 250 | 440 | 0.11172675 | 0.19492052 |
| 2023-05-02 FLU2-FV | 325 | 432 | 0.08610325 | 250 | 440 | 0.13301058 | 0.21911383 |
| 2023-05-05 FLU3-FV | 325 | 432 | 0.08070059 | 250 | 440 | 0.11329118 | 0.19399177 |
| 2023-05-09 FLU4 -FV | 325 | 432 | 0.08000618 | 250 | 440 | 0.1224233 | 0.20242948 |
| 2023-05-09 FLU5-D | 325 | 432 | 0.07562094 | 250 | 440 | 0.10143666 | 0.17705759 |
| 2023-05-09 FLU6-C | 325 | 432 | 0.1221167 | 250 | 440 | 0.16600411 | 0.28812081 |
| 2023-05-09 FLU7-A | 325 | 432 | 0.05376562 | 250 | 440 | 0.06683256 | 0.12059818 |
| 2023-05-09 FLU8-B | 325 | 432 | 0.04398147 | 250 | 440 | 0.05414719 | 0.09812866 |
| 2023-05-09 FLU9-AJ | 325 | 432 | 0.07240347 | 250 | 440 | 0.08401214 | 0.1564156 |
| 2023-05-11 FLU10-D | 325 | 432 | 0.07154677 | 250 | 440 | 0.08761989 | 0.15916665 |
| 2023-05-11 FLU11-C | 325 | 432 | 0.11459521 | 250 | 440 | 0.14576029 | 0.2603555 |

Figure 14 : Résultats obtenus avec le modèle Peak-picking pour les humic-like C (appelés ici H1 et H2).

VI) Résultats

1) Matrices d'excitation/émission 3D

Les matrices 3D sont obtenues sur le logiciel LabSolution RF couplé au spectrofluorimètre. Pour avoir un aperçu des résultats obtenus avec cet appareil, les résultats du 14/05/2023 ont été exposés ci-dessous (figure 15) :



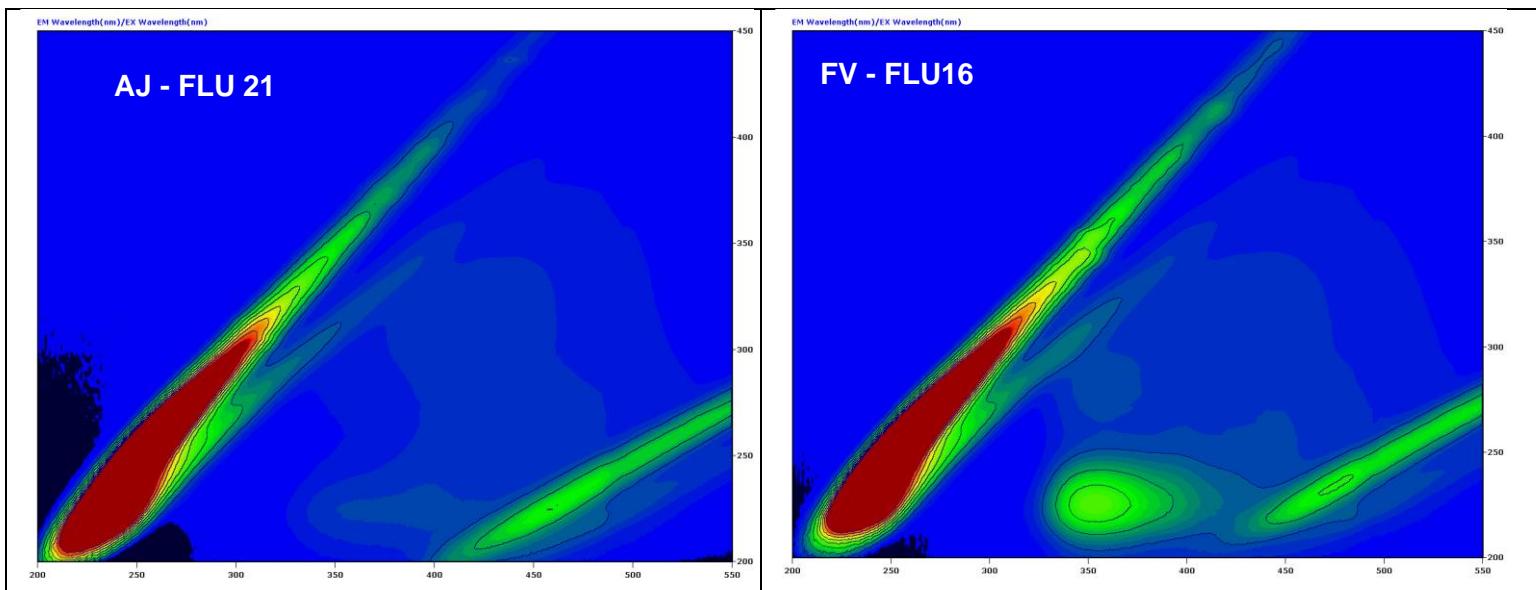


Figure 15 : Matrices 3D des points d'écoulement du LSBB et de Fontaine de Vaucluse du 14/04/2023
(échelle : max : 400 000 et min : 0)

2) Variation temporelle des composés

Les résultats obtenus sur toute la durée du stage ont permis d'observer la variation temporelle des composés organique dans l'aquifère. Le TTI (Serène, 2023) a également été calculé à partir des intensités de fluorescences. La fluorescence de chaque type de composé organique est présentée pour chaque source et écoulement suivi (figure 16 à 21) sous forme d'histogramme et comparé au débit et au TTI.

Les résultats montrent que la proportion de composés organiques semble globalement diminuer pendant toute la période de stage. On associe dans la majorité des cas cette diminution à une augmentation conjointe du débit, ce qui pourrait être dû à un effet de dilution par des eaux plus récemment infiltrées. Sur le pas de temps testé (2 à 7 jours), les composés les plus variables dans le temps sont la tyrosine, le tryptophane et l'humic-like M. A l'inverse, le composé le plus stable est l'humic-like C.

Aux écoulements du LSBB, le composé le plus abondant est le tryptophane. Sa proportion augmente des points les plus profonds : AJ, et B (intensités comprises entre 0,1 et 0,4) aux points les moins profonds : C et D (intensités comprises entre 0,1 et 1,7). L'autre composé de type protein-like, la tyrosine est présente en plus faible quantité et semble varier à plus haute fréquence. De son côté, l'eau de fontaine de Vaucluse est caractérisée par une forte proportion en tyrosine (intensité entre 0,4 et 2), un composé dont la proportion varie également à haute fréquence. Cette variabilité peut s'expliquer par le fait que les composés simples comme la tyrosine se décomposent plus rapidement dans le temps que les composés complexes comme l'humic-like C (Coble, 2014)

Le TTI semble bien lisser les variations très hautes fréquences des protein-like. Le pas de temps de suivi de cet indice ne semble pas encore assez suffisant pour les protein-like. Des dispositifs de mesures automatique comme les GGUN pourraient permettre de réaliser un suivi encore plus fin.

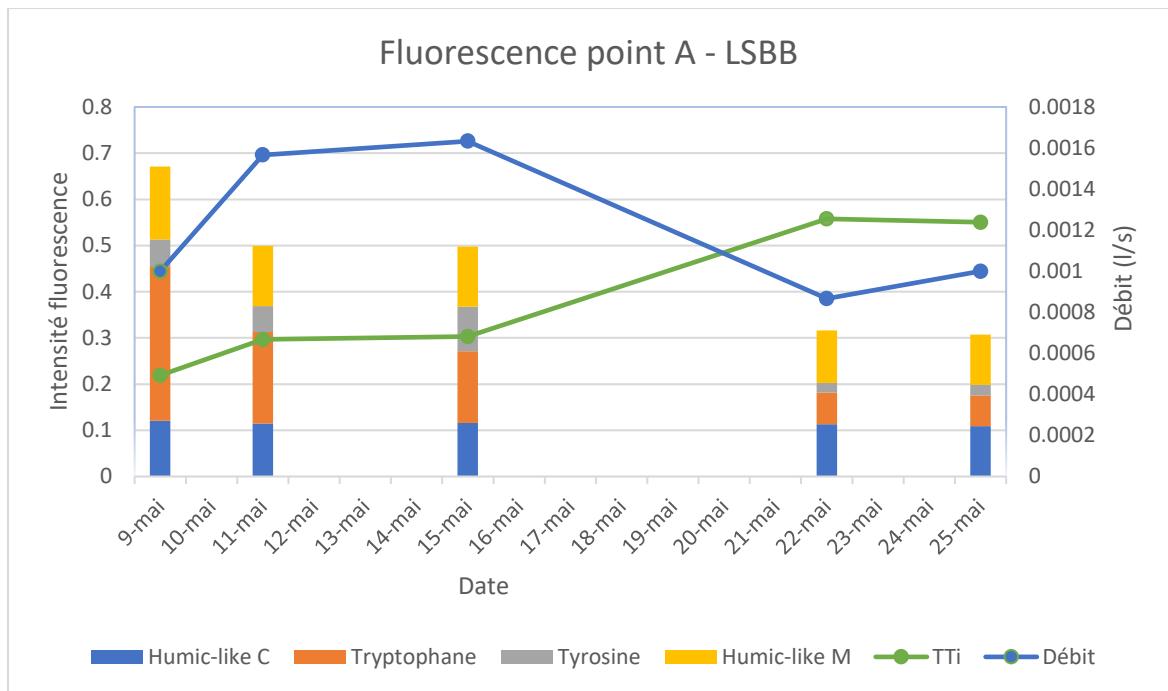


Figure 16 : Suivi de la fluorescence point A

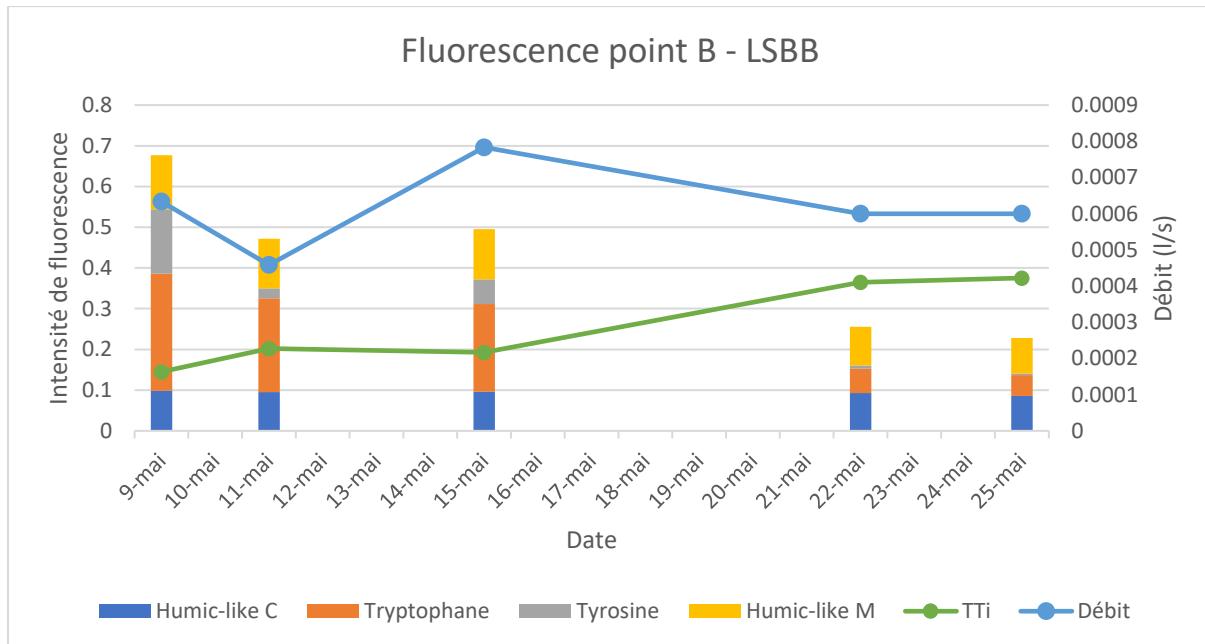


Figure 17 : Suivi de la fluorescence point B

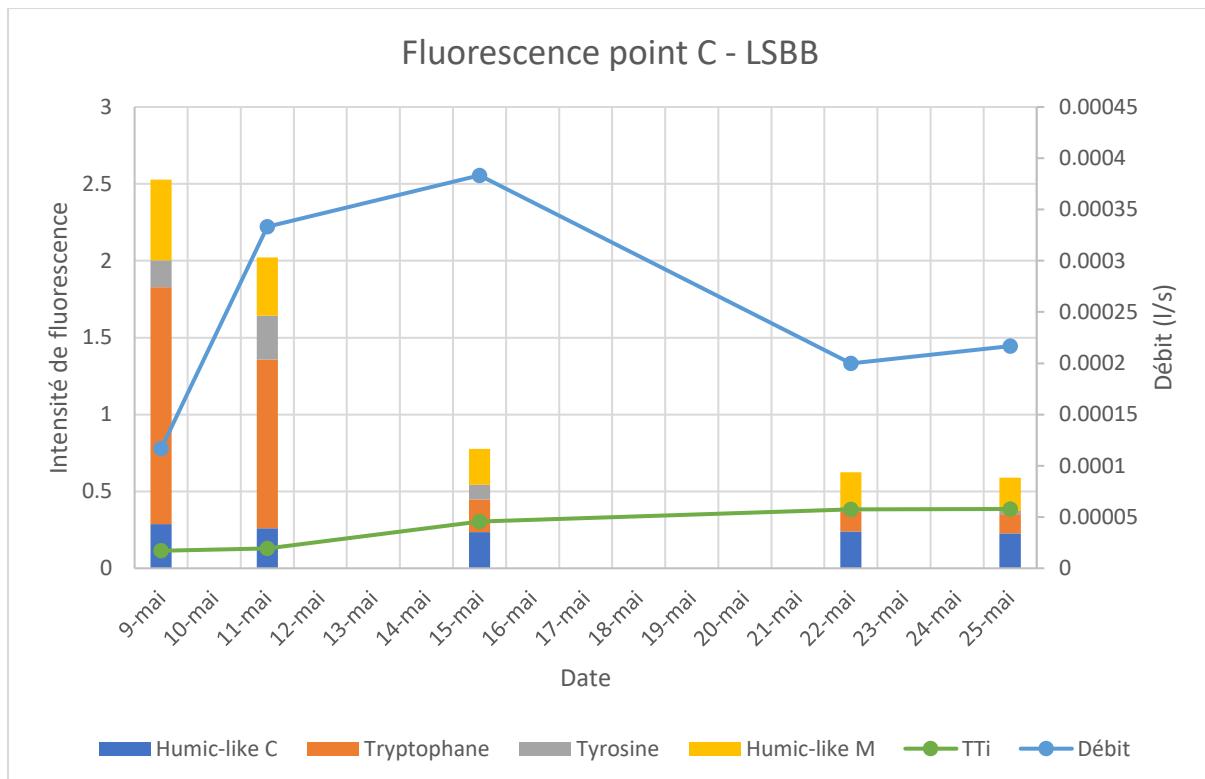


Figure 18 : Suivi de la fluorescence point C

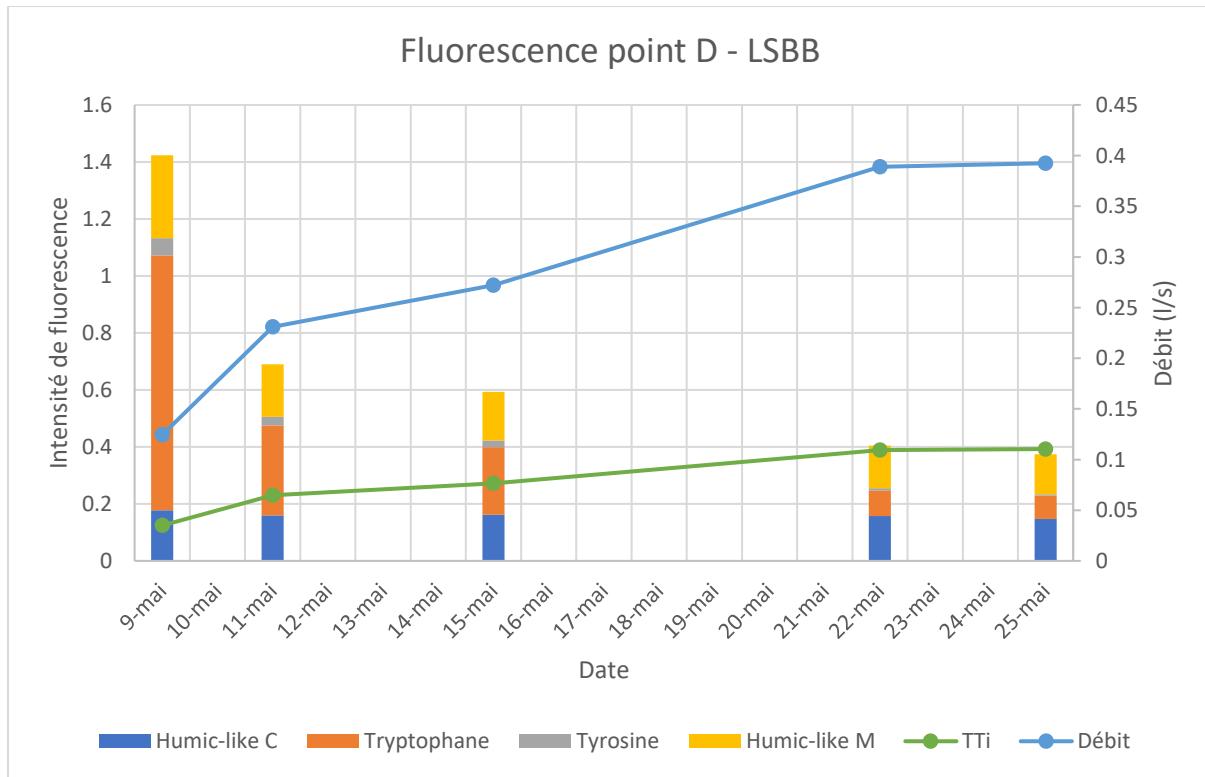


Figure 19 : Suivi de la fluorescence point D

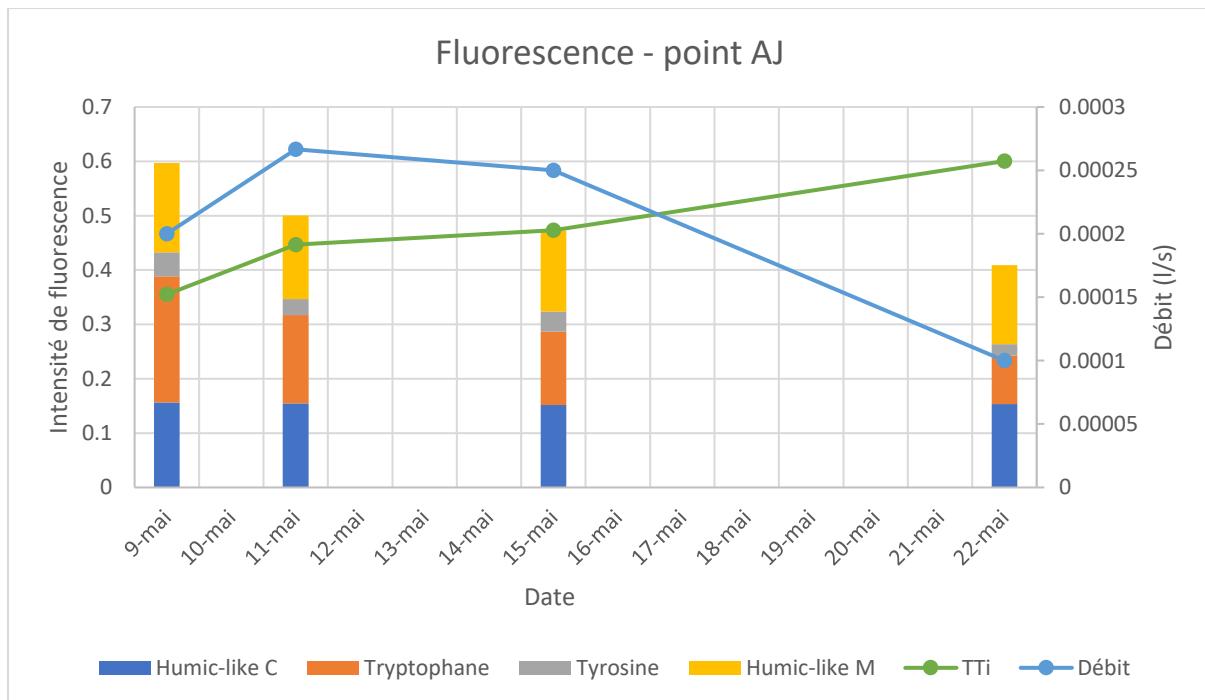


Figure 20 : Suivi de la fluorescence point AJ

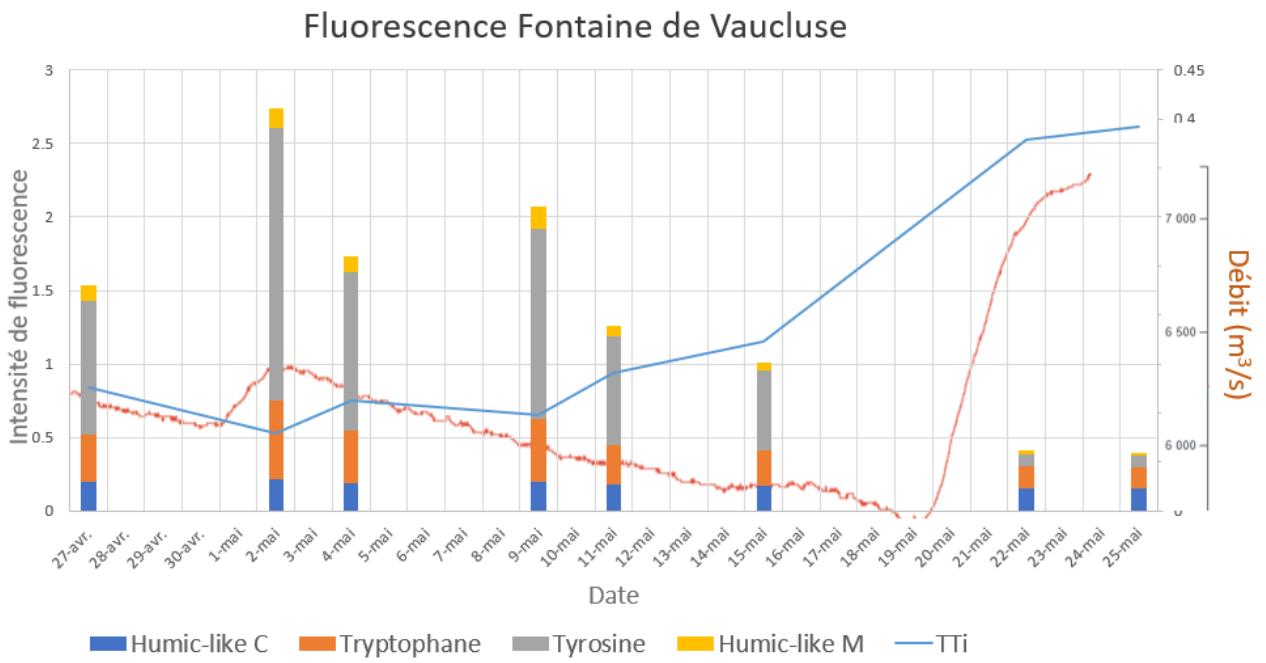


Figure 21 : Suivi de la fluorescence de Fontaine de Vaucluse

Débit Fontaine de Vaucluse : <https://www.hydro.eaufrance.fr/sitehydro/V6155020/series>

Conclusion

L'objectif de ce stage était de réaliser un suivi sur un pas de temps plus fin que lors des suivis antérieurs et d'améliorer le protocole d'analyse. Pour ce faire, des prélèvements de matière organique ont été réalisés sur un pas de temps de 2 à 7 jours puis analysés en laboratoire avec un spectrofluorimètres. En extrayant l'intensité de fluorescence de tous les prélèvements, il a été possible d'observer la variation temporelle des composés organiques humiques et protéiques. La fréquence d'échantillonnage semble intéressante pour les composés stables dans le temps comme l'humic-like C. En revanche, pour les composé protéiques (tryptophane et tyrosine) et l'humique-like M cette fréquence ne semble pas encore suffisante puisque ces composés varient encore beaucoup avec le temps. C'est notamment le cas de la tyrosine, qui est composé simple et facilement décomposable. L'objectif serait de réaliser un suivi plus fin pour les protein-like et l'humic-like M à l'aide par exemple de dispositifs de mesure automatique de terrain.

Annexe, bibliographie

Serène, 2023 : 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>

Batiot, 2002 : 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.

Blondel, 2008 : Blondel, T., 2008. Traçage spatial et temporel des eaux souterraines dans les hydrossystèmes 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.

Barbel-Perineau, 2013 : 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.

Coble, 2014 Coble, P.G., 2014. Aquatic organic matter fluorescence. Cambridge University Press, New York.

Ollivier, 2020 : Ollivier, C., 2020. Caractérisation et spatialisation de la recharge des hydrossystèmes karstiques: Application à l'aquifère de Fontaine de Vaucluse, France (PhD). Université d'Avignon.

C.Emblanch, J. M Puig, B Blavoux, C Gevaudan, 2003 : Etude Vauclusiennes, Origine et histoire de l'eau dans les hydrossystèmes en Vaucluse et en région Méditerranéenne. Laboratoire d'Hydrogéologie de l'Université d'Avignon.