



HAL
open science

Optimisation du suivi de la fluorescence naturelle de la MOD dans les aquifères karstiques - Application à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.

Xavier Durepaire

► To cite this version:

Xavier Durepaire. Optimisation du suivi de la fluorescence naturelle de la MOD dans les aquifères karstiques - Application à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.: Département des Sciences de la Terre, de l'eau et de l'environnement de Montpellier - Master 2ème année spécialité Eau Ressource: parcours Hydrogéologie qualitative et quantitative - Environnement. [Stage] HydroSciences Montpellier; BRGM (Bureau de recherches géologiques et minières) (Bureau de recherches géologiques et minières). 2021. hal-03137073

HAL Id: hal-03137073

<https://brgm.hal.science/hal-03137073>

Submitted on 10 Feb 2021

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.

Département des Sciences de la Terre, de l'eau et de l'environnement de Montpellier
Master 2ème année spécialité Eau Ressource : parcours Hydrogéologie qualitativE et quantitativE -
Environnement
2014

***Optimisation du suivi de la fluorescence naturelle de la MOD
dans les aquifères karstiques.***

Application à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.



Xavier Durepaire

Encadré par

Christelle Batiot-Guilhe (HydroSciences Montpellier)

Vincent Bailly-Comte (BRGM Montpellier)

Stage de 19 semaines à compter du 03/02/2014
Année Universitaire 2013/2014

Résumé

Le suivi de la fluorescence naturelle de la MOD se fait communément par spectrofluorimétrie 3D. Utilisés pour mesurer la restitution de traceur anthropique, les fluorimètres de terrain de type GGUN (Albillia SARL) permettent de mesurer in situ la fluorescence d'une eau en continu. Ils sont aujourd'hui très largement utilisés pour instrumenter des exutoires karstiques. D'après des études récentes, ils permettraient de suivre les variations de Matière Organique Dissoute (MOD) de type humique, traceur naturel des eaux d'infiltration rapide. Une nouvelle optique a été conçue pour mesurer la MOD protéique. Elle a été déployée pour la première fois à l'émergence d'une source karstique. Dans le but de mieux comprendre le fonctionnement du GGUN et d'optimiser le suivi de la fluorescence naturelle aux émergences karstiques, des fluorimètres ont été installés au niveau de deux exutoires karstiques appartenant au SO karst (<http://www.sokarst.org/>) à la source du Lez depuis avril 2010 et à la Fontaine de Nîmes depuis juin 2012. Parallèlement à ce suivi in situ, un suivi régulier (bimensuel à journalier en crue) de la fluorescence naturelle par spectrofluorimétrie 3D a été réalisé pour le suivi de la MOD fluorescente à la source du Lez, complété par quelques prélèvements ponctuels à la Fontaine de Nîmes. La comparaison de ces deux types de suivis confirme la possibilité de suivre en continu les variations de la MOD humique. Le suivi en continu de la MOD protéique, plus délicat, reste dans l'attente d'une confirmation. La mise en place, le traitement et l'analyse de ces suivis permet l'identification précise des différents composés de la MOD sur les sites d'étude et permet d'étudier leur dynamique. Dans le cadre de traçages artificiels, la compréhension de la dynamique des signaux d'origine naturelle (MOD fluorescente et turbidité) mesurés par les optiques du GGUN ouvre des perspectives de correction des courbes de restitution des traceurs anthropiques fluorescents. Ces courbes de restitution peuvent être perturbées par un bruit de fond dû aux variations de turbidité et/ou de MOD fluorescente.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier tout particulièrement mes deux encadrants, Christelle Batiot-Guilhe et Vincent Bailly-Comte. Leur disponibilité, l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail, le temps qu'ils m'ont consacré et le savoir qu'ils m'ont transmis ont été indispensables à la réalisation de ce stage.

Je remercie Eric Servat pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire d'HydroSciences Montpellier.

Je voudrais remercier Pascal Brunet, pour son aide, sa disponibilité, les bons moments passés sur le terrain, et pour son aide.

Un grand merci à Sandra Van Exter pour ses conseils, sa disponibilité et son expérience. Un merci particulier pour avoir su m'expliquer avec énormément de patience et de pédagogie les différents protocoles d'analyse d'une eau en laboratoire.

Je voudrais aussi remercier Roger Saraiva, Kristine Gudja, Nadine Peres et Catherine Marchand pour leur gentillesse et leur efficacité.

Je tiens à remercier Simon, mon collègue de bureau pour tous les moments passés à discuter et rigoler. Mais surtout pour l'aide qu'il m'aura apporté durant mon stage, de bons conseils et ayant toujours des réponses pertinentes aux différentes questions que j'ai pu lui poser.

Enfin je tiens à remercier tous les stagiaires de la MSE avec qui j'ai pu passer des bons moments pendant le déjeuner ou la pause-café, merci en particulier à Chloé, Marie, Albin et Jonas.

Sommaire

Liste des Figures.....	v
Liste des Tableaux.....	vii
Liste des Annexes	viii
Introduction.....	1
I. Utilisation et mesures de la fluorescence naturelle de la matière organique dissoute pour caractériser les flux karstiques	2
I.1. Principe de la fluorescence et fluorescence naturelle de la matière organique dissoute	2
I.2. Phénomènes de diffusion interférant sur la mesure de fluorescence de la MOD.....	3
I.3. La fluorescence des traceurs artificiels	4
I.4. Spécificités du milieu karstique	5
I.5. Matière organique naturelle dans les aquifères karstiques : un traceur naturel des écoulements.....	6
I.5.1. La MOD retrouvée dans les aquifères karstiques	6
I.5.2. Apport du suivi de la MOD humique aux émergences karstiques	8
I.5.3. Apport du suivi de la MOD protéique aux émergences karstiques	9
II. Présentation de nos deux sites d'études : l'hydrosystème du Lez et l'aquifère de la Fontaine de Nîmes.....	9
II.1. Fonctionnement de l'hydrosystème du Lez.....	9
II.2. Fonctionnement de l'aquifère karstique de la Fontaine de Nîmes	12
III. Suivi et analyse de la MOD par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire	14
III.1. Matériels et méthodes	14
III.1.1. Prélèvements et obtention des données	14
III.1.2. Mesure de la fluorescence naturelle de la MOD par spectrofluorimétrie 3D	14
III.2. Traitement des matrices MEE	15
III.3. Identification des différents pics de MOD présents à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes	16
III.3.1. Identification des différentes sources de MOD protéiques dans les eaux du Lez	16
III.3.2. Identification des différentes sources de MOD dans les eaux karstiques de la Fontaine de Nîmes	18
III.4. Détermination de l'intensité de fluorescence de chaque composante de la MOD	19

IV. Suivi en continu de la fluorescence naturelle in situ à l'aide d'un fluorimètre de terrain (GGUN-FL).....	20
IV.1. Matériel, méthodes, période de mesures.....	20
IV.1.1. Présentation et fonctionnement du fluorimètre de terrain GGUN.....	20
IV.1.2. Caractéristiques des différentes optiques.....	21
IV.1.3. Période des mesures en continu de fluorescence à la source du Lez.....	23
IV.1.4. Elimination des valeurs aberrantes des chroniques de suivi en continu.....	23
IV.2. Suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD humique.....	24
IV.2.1. Etat de l'art concernant le suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD humique à l'aide des fluorimètres de terrain.....	24
IV.2.2. Suivi en continu de la MOD Humique par les optiques Naphtionate et Fluoresceine du GGUN	24
IV.3. Suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD Protéique.....	26
IV.3.1. Etat de l'art concernant le suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD protéique à l'aide des fluorimètres de terrain.....	26
IV.3.2. Premier test de suivi en continu de l'optique protéique à la source du Lez.....	26
IV.3.2.1. Comparaison suivi bimensuel en laboratoire (spectrofluorimétrie 3D) et chronique en continu du GGUN.....	26
IV.3.2.2. Calibration de l'optique Protéique dédiée au suivi de la MOD protéique.....	27
IV.3.3. Une nouvelle LED plus puissante pour la mesure en continu de la MOD protéique.....	30
IV.3.3.1. Caractéristiques de la nouvelle LED.....	30
IV.3.3.2. Calibration de la nouvelle optique protéique.....	31
IV.3.3.3. Premier suivi de la fluorescence naturelle dans la nouvelle optique.....	34
IV.4. Optimisation de l'utilisation du GGUN.....	36
IV.4.1. Mesure des variations naturelles du signal dans les différentes optiques du GGUN.....	36
IV.4.2. Elimination du bruit de fond dû aux variations de matière organique dans le cadre de suivi en continu de traçages artificiels.....	38
IV.4.2.1. Interprétation des traçages artificiels.....	38
IV.4.2.2. Simulation du bruit de fond généré par les optiques du GGUN.....	39
IV.4.2.3. Exemple de correction de traçage artificiel en milieu karstique : traçage du Brestalou de Claret (hydrosystème du Lez).....	41
IV.4.3. Proposition de méthodes de calibration des optiques du GGUN sur la MOD.....	43
IV.4.3.1. Calibration sur l'intensité de fluorescence de la MOD obtenu par spectrofluorimétrie.....	43
IV.4.3.2. Calibration à partir d'une matière fluorescente.....	44
IV.4.3.3. Calibration de la MOD humique en fonction du carbone organique total (COT).....	44
Conclusion.....	45
Références Bibliographiques.....	46
Annexes.....	51

Liste des Figures

Figure 1 : Représentation 2D (excitation/émission) du positionnement des phénomènes de diffusion.	3
Figure 2 : Structure générale d'un aquifère karstique (Blondel, 2008).	5
Figure 3 : Schéma général du fonctionnement d'un système karstique (Mangin, 1975).....	6
Figure 4 : Exemple de matrice (MEE) obtenue sur un échantillons du Lez (09/05/2008) en l'absence de fluorescence artificielle (Batiot-Guilhe et al., 2008).....	7
Figure 5 : Carte hydrogéologique du système karstique du Lez (Bicalho et al., 2012).....	10
Figure 6 : Caractéristiques chimiques générales de l'eau à la source du Lez (Marjolet et Salado, 1976).	10
Figure 7 : Modèle conceptuel du fonctionnement du karst du Lez (Bicalho et al., 2012).....	12
Figure 8 : Carte géologique avec bassin d'alimentation proposé pour la Fontaine de Nîmes en rouge ; les limites en jaunes correspondent aux limites des bassins versants des cadereaux. (Maréchal et al., 2005).	12
Figure 9 : Modèle conceptuel du fonctionnement du karst de Nîmes (Marechal et Ladouche, 2006).	13
Figure 10 : Evolution d'une Matrice MEE suite aux différentes étapes de traitement, matrice du Lez prélevé le 18/02/2014.	15
Figure 11 : Matrice MEE avec présence des deux composés de type tryptophane-like (Trp), prélèvement du Lez du 15/05/2013.....	16
Figure 12 : Matrice MEE avec présence des deux composés de type tyrosine-like (Tyr), prélèvement du Lez du 18/12/2012.....	16
Figure 13 : Matrice MEE avec présence des composés P1 et Trp2 en proportion équivalente, prélèvement du Lez du 22 /03/2010.....	17
Figure 14 : Fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'émission, prélèvement du Lez du 05/11/2013.	17
Figure 15 : Fluorescence du pic H1 en fonction du pic H2 pour les 193 échantillons prélevés à la source du Lez et analysés par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire.	20
Figure 16 : Schéma d'un étage du fluorimètre de terrain GGUN (notice individuelle du fluorimètre GGUN-FL).....	21
Figure 17 : Schéma de mesure de fluorescence du fluorimètre de terrain GGUN.	21
Figure 18 : Fenêtres de mesure des différentes optiques du GGUN.....	22
Figure 19 : Fenêtres de mesure des différentes optiques du GGUN sur matrice MEE de la source du Lez du 17/06/2013.	22
Figure 20 : Signal mesuré dans l'optique Naphtionate en fonction de l'intensité de fluorescence du pic H1. Résultats obtenus sur le fluorimètre GGUN #298 à la source du Lez du 14/02/2011 au 19/03/2013 pour 52 points de mesure.	25
Figure 21 : Comparaison entre la moyenne journalière des signaux mesurée dans la nouvelle optique du fluorimètre (en bleu) et les mesures de fluorescence de la matière organique protéique effectuées en laboratoire (en rouge).....	27
Figure 22 : Matrice MEE du L-Tryptophane (0,36mg/L) avec positionnement de la fenêtre de mesures de l'optique Protéique du GGUN.	27
Figure 23 : Réponse en émission de 300nm à 400nm de la fluorescence du L-Tryptophane pour la longueur d'onde d'excitation 245nm.	28
Figure 24 : Droite d'étalonnages du L-Tryptophane obtenu au spectrofluorimètre.	28
Figure 25 : Droite de calibration de l'optique protéique du GGUN pour les différentes solutions étalons de L-Tryptophane préparées.	29

Figure 26 : Réponse en émission de la fluorescence du L-Tryptophane à 0,1mg/L et de l'eau du Lez du 12/03/2014 pour la longueur d'onde d'excitation 245nm ($\lambda_{ex}=245nm$) par spectrofluorimétrie 2D.....	30
Figure 27 : Fenêtres de mesure de l'ancienne optique protéique et de la nouvelle optique protéique sur la matrice MEE du Lez du 15/05/2013.	31
Figure 28 : Nouvelle droite d'étalonnage du L-Tryptophane obtenu au spectrofluorimètre.	32
Figure 29 : Droite de calibration de la nouvelle optique protéique du GGUN pour les différentes solutions étalons de L-Tryptophane préparées.....	33
Figure 30 : Résultat brut obtenu par la nouvelle optique protéique (rouge) et après correction de la turbidité (bleu) à la source du Lez du 17/04/2014 au 16/05/2014.	34
Figure 31 : Graphique d'évolution de la fluorescence (en ua) de la MOD de type H1 (vert) et P1 (jaune) et de la nouvelle optique protéique après correction de la turbidité (bleu) à la source du Lez du 17/04/2014 au 16/05/2014.	35
Figure 32 : Variations naturelles de signaux mesurés dans les quatre optiques du fluorimètre GGUN (Optique Naphtionate (vert), Fluoresceine (bleu), Rhodamine (rouge) et Turbidité (violet)) observées à la Fontaine de Nîmes du 20/12/2012 au 09/01/2012.....	37
Figure 33 : Exemple de courbe de restitution et définition des principaux temps caractéristiques...38	
Figure 34 : Variations naturelles de signaux mesurés dans les trois optiques du fluorimètre GGUN mesurant l'arrivée d'un traceur fluorescent et simulation de ces variations (jaune) observées à la Fontaine de Nîmes du 20/12/2012 au 29/01/2013.	40
Figure 35 : Mesures brutes de la restitution du traceur dans l'optique Rhodamine du GGUN (bleu) et modélisation des variations naturelles dans l'optique Rhodamine (rouge) à la source du Lez.	41
Figure 36 : Mesures brutes de la restitution du traceur dans l'optique Rhodamine du GGUN (bleu) et écart entre mesures brutes et simulation des mesures (rouge) à la source du Lez.	42

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques spectrales des principaux traceurs fluorescent (Lepiller, 2003).	4
Tableau 2 : Domaines d'excitations/émission de la MODf aux émergences karstiques suivant les auteurs et leurs classifications dans la littérature (Quiers et al., 2013).	7
Tableau 3 : Domaines d'excitations/émission de la MODf de type Tryptophane-Like et Tyrosine-Like (Cobble, 1998 ; Baker et al. 2004 ; Mudarra et al. 2011).	8
Tableau 4 : Différents types d'eau à la source du Lez (Bicalho et al., 2009).	11
Tableau 5 : Valeurs de calibration du spectrofluorimètre pour les MEE de fluorescence naturelle (Quiers, 2010).	14
Tableau 6 : Longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et intensité de fluorescence des échantillons prélevés à la Fontaine de Nîmes.	18
Tableau 7 : Longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et intensité de fluorescence des échantillons prélevés à la source du Lez du 18/02/2014 au 29/04/2014.	18
Tableau 8 : Informations sur les différents composés de la MOD à la source du Lez.	19
Tableau 9 : Périodes de mesures des différents fluorimètres de terrain à la source du Lez.	23
Tableau 10 : Coefficient de détermination de la linéarité entre les mesures en continu dans les optiques Naphtionate et Fluoresceine et les deux composés de la MOD Humique (H1) et (H2).	25
Tableau 11 : Résultats de calibration de l'optique protéique au fluorimètre de terrain GGUN pour les différentes solutions étalons préparées.	29
Tableau 12 : Résultats de calibration de la nouvelle optique protéique par le fluorimètre de terrain GGUN pour les différentes solutions étalons préparées.	32
Tableau 13 : Fluorescence mesurée par spectrofluorimétrie 3D (en ua) de la MOD de type H1, H2 et P1 à la source du Lez durant la période de suivi en continu de la nouvelle optique protéique.	35

Liste des Annexes

Annexe n°1 : Jardins de la Fontaine de Nîmes, vu de la vasque de la Fontaine de Nîmes et position de l'aven Mazauric.....	51
Annexe n°2 : Script (MATLAB®) de soustraction de la matrice MEE de la moyenne de l'eau ultra pure (Eau MiliQ) en traitement préliminaire de nos matrices MEE obtenu à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes et représentation 2D de la moyenne de l'eau ultra pure.....	52
Annexe n°3 : Script (MATLAB®) d'élimination des différents phénomènes de diffusion de nos matrices MEE obtenu à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.....	53
Annexe n°4 : Script (MATLAB®) permettant d'obtenir la longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), la longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et l'intensité de fluorescence de chacun des pics de fluorescence de la MOD identifiée à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.....	61
Annexe n°5 : Tableaux de mesure de longueur d'onde d'excitation, d'émission et d'intensité de fluorescence de la MOD sur les échantillons prélevés à la source du Lez depuis mai 2007.....	65
Annexe n°6 : Matrices MEE calculées des fenêtres de mesures des optiques du GGUN.....	69

Introduction

Les aquifères karstiques sont des milieux hétérogènes et complexes. Leur étude nécessite le couplage d'outils hydrochimiques et hydrodynamiques afin de caractériser au mieux leur fonctionnement. De récents travaux ont montré la pertinence du suivi de la Matière Organique Dissoute (MOD) comme outil complémentaire renseignant sur ce type d'aquifère. Utilisée en tant que traceur d'infiltration naturelle, la MOD offre de nouvelles perspectives sur la compréhension des aquifères de type karstique.

La mesure de la fluorescence naturelle d'une eau est un moyen efficace de caractériser la MOD qui la constitue. Cette mesure s'effectue généralement en laboratoire, par spectrofluorimétrie. Le suivi de la MOD en continu par fluorimètre de terrain en est à ses débuts. Il n'y a, à ce jour, aucun appareil parfaitement adapté à ce type de suivi. À cet effet, un nouveau fluorimètre a été acquis. Celui-ci possède deux optiques adaptées à la mesure de fluorescence naturelle. La première, initialement conçue pour mesurer « classiquement » la fluorescence de traceurs incolores tels que le Naphtionate et l'Amino-G acide permet de mesurer une partie de la MOD humique. La seconde optique a été spécialement conçue pour mesurer la MOD protéique. N'ayant jamais été utilisée, cette optique va être déployée pour la première fois à l'émergence d'une source.

Deux sites karstiques aux caractéristiques et fonctionnements différents seront concernés par notre étude. Le premier est celui de l'aquifère du Lez. Depuis 2007, un suivi de la fluorescence analysée en laboratoire par spectrofluorimétrie 3D a été mis en place sur la source pérenne du Lez. En parallèle, depuis le printemps 2010, un suivi en continu de la fluorescence basé sur des fluorimètres de terrain a été mis en place à la source du Lez dans le cadre du projet de recherche Lez Multi-usages (2009-2013). Le deuxième est la Fontaine de Nîmes. Un suivi en continu de la fluorescence naturelle par fluorimètre de terrain GGUN y est réalisé depuis Juin 2012. Aucun suivi de la MOD par spectrofluorimétrie n'y a été effectué au préalable.

Dans la première partie de ce mémoire, un point sera fait sur les connaissances existantes et les méthodes de mesures de fluorescence naturelle de la MOD aux émergences karstiques suivi d'une synthèse descriptive du fonctionnement des deux sites d'études. Dans un second temps, le suivi et l'analyse de la MOD par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire sera détaillé. Ce suivi nous permet d'identifier les différents types de MOD observés sur les sites d'études, de déterminer leurs propriétés optiques de fluorescence et de suivre leur évolution au cours du temps. La confrontation des mesures de MOD en laboratoire aux mesures en continu permettra de valider la possibilité du suivi de la MOD par fluorimètre de terrain par l'optique Naphtionate et par la nouvelle optique déployée. Lors du suivi en continu de la restitution d'un traceur artificiel, la courbe de restitution peut être perturbée par un bruit de fond dû à des variations de turbidité et/ou de MOD fluorescente. La compréhension de la dynamique des signaux d'origine naturelle mesurés par les optiques des fluorimètres ouvre des perspectives de correction de ce bruit fond permettant un suivi plus précis de la restitution d'un traceur anthropique fluorescent, nécessaire à la bonne interprétation du traçage artificiel réalisé.

I. Utilisation et mesures de la fluorescence naturelle de la matière organique dissoute pour caractériser les flux karstiques

Cette première partie va permettre de définir l'ensemble des concepts importants qui vont permettre le suivi de la Matière Organique Dissoute (MOD) par fluorescence et de définir l'intérêt suscité par l'étude de la MOD aux émergences karstiques.

I.1. Principe de la fluorescence et fluorescence naturelle de la matière organique dissoute

La fluorescence est une émission lumineuse provoquée par l'excitation d'une molécule, généralement par absorption d'un photon, immédiatement suivie d'une émission spontanée due au retour de la molécule à son état fondamental (Valeur, 2004). La fluorescence apparaît lorsqu'un électron dans un atome ou une molécule se retrouve excité à un niveau d'énergie supérieur par l'absorption de l'énergie d'une source externe. La fluorescence se manifeste lorsque l'électron retourne à son état fondamental et libère l'énergie reçue sous forme de lumière. On nomme fluorophores les substances chimiques capables d'émettre de la fluorescence. La MOD est la source la plus commune de fluorescence dans les eaux (Borup, 2008).

La matière organique fait référence aux substances complexes physiques et chimiques qui résultent de l'activité photosynthétique des plantes (Ranville et Macalady, 1996). La MOD se divise en substances humiques et en substances non humiques (Stevenson, 1982). Les substances humiques représentent 60 à 70% du carbone organique total (Griffith et Schnitzer, 1975 ; Senesi, 1993). Dans les eaux, les substances humiques représentent entre 40 et 60% du carbone organique total (Senesi, 1993); ce sont des dérivés de la décomposition de la matière végétale (Hudson et al., 2008). Les substances non humiques quant à elles, sont des molécules issues de l'activité biologique algale, bactérienne ou fongique (Parlanti et al., 2000).

Une des propriétés de la fluorescence est qu'elle provoque un décalage en longueur d'onde entre le photon absorbé par la molécule et le photon émis, suite à cette absorption. Ce décalage appelé décalage de Stokes dépend de la taille et de la structure du fluorophore (Valeur, 2004). Nous pouvons mesurer et caractériser la MOD fluorescente (MOD_f) au sein des aquifères en se basant sur cette propriété. Cette dernière correspond à un mélange de différents fluorophores en solution. Afin de caractériser au mieux ces substances, les spectres MEE (Matrices d'Excitation-Emission) sont généralement utilisés (Coble, 1996). Cette technique permet en effet de scanner simultanément des domaines de longueurs d'onde d'excitation et d'émission, de façon à obtenir un spectre 3D permettant d'identifier l'ensemble des composés fluorescents présents.

I.2. Phénomènes de diffusion interférant sur la mesure de fluorescence de la MOD

Par définition, la diffusion est le phénomène par lequel un rayonnement, comme la lumière, est dévié dans de multiples directions par une interaction avec d'autres objets.

Les pics d'intensité lumineuse dus à des phénomènes de diffusion de l'eau peuvent générer des difficultés dans l'analyse des mesures de fluorescence de la MOD. Trois types de diffusion peuvent nuire à ces analyses : Rayleigh, Tyndall et Raman (Zepp et al., 2004).

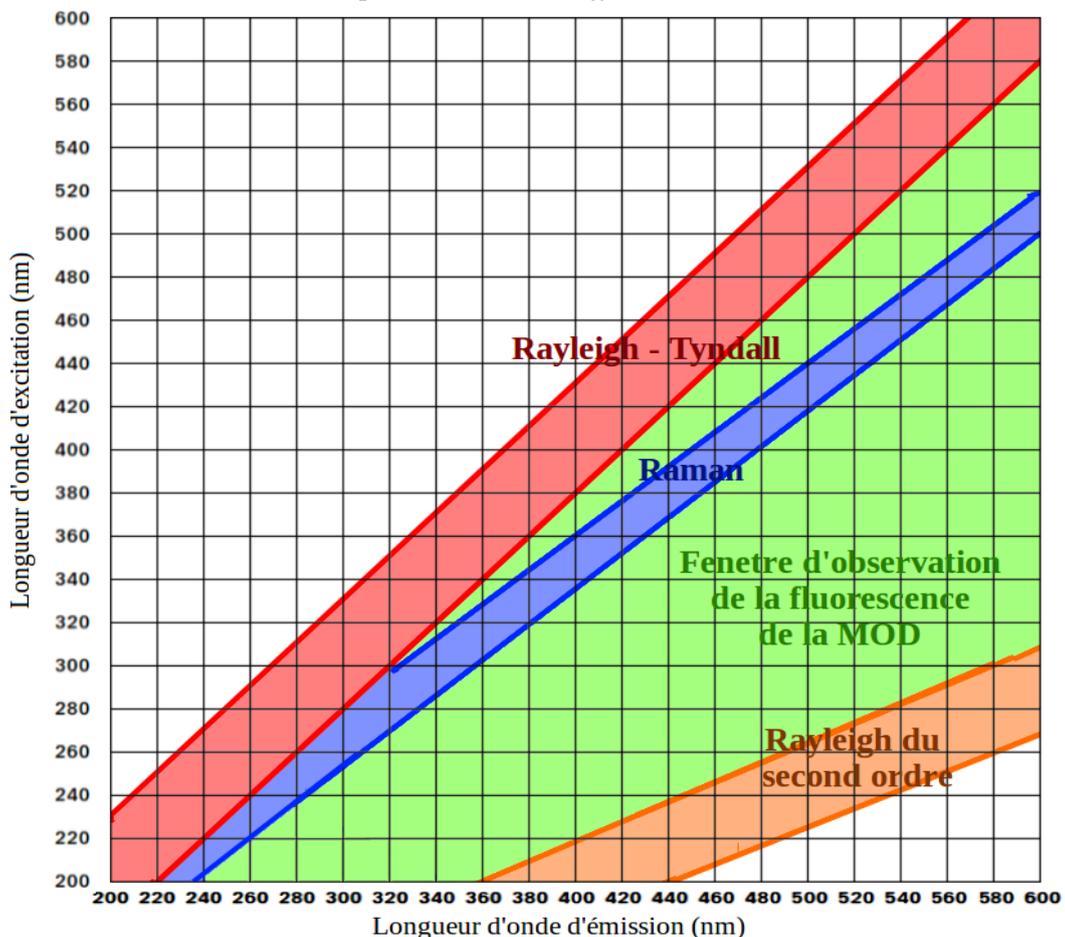
La diffusion de Tyndall provient de la diffusion par la matière particulaire présente dans l'eau. La diffusion de Rayleigh et la diffusion de Raman proviennent d'une interaction entre la lumière d'excitation et les molécules d'eau (Zepp et al., 2004).

Les pics d'émission de Rayleigh et Tyndall se produisent aux mêmes longueurs d'onde que la lumière d'excitation. Les pics d'émission de Rayleigh du second ordre se produisent au double de la longueur d'onde de la lumière d'excitation (Fig. n°1) (Zepp et al., 2004).

Comme la fluorescence, la diffusion de Raman provoque un décalage entre la lumière d'excitation et la lumière émise. Les pics dus à la diffusion de Raman se situent sur la droite d'équation (Fig. n°1) (Lawaetz et Stedmon, 2009) :

$$\lambda_{em}(nm) = 10^7 \left(\frac{10^7}{\lambda_{ex}} - 3400 \right)^{-1}$$

Figure 1 : Représentation 2D (excitation/émission) du positionnement des phénomènes de diffusion.



I.3. La fluorescence des traceurs artificiels

Le traçage artificiel par traceur fluorescent est une méthode d'investigation et de contrôle fondamentale pour la gestion et la préservation de la ressource en eau. Elle consiste à injecter dans le milieu hydrogéologique des marqueurs dont les propriétés de fluorescence vont permettre de tracer les circulations et les trajets des eaux, de leur charge dissoute et des polluants, leurs temps de séjour et de transit, etc...

Différents types de traceurs artificiels fluorescents (Tab. n°3) sont utilisés en hydrogéologie. Leur restitution peut se mesurer par prélèvement d'échantillon pour une analyse de fluorescence en laboratoire et/ou en continu in situ à l'aide de fluorimètres de terrain. Dans le cadre du suivi de la MOD par fluorescence en continu par fluorimètre de terrain, la connaissance de ces différents traceurs fluorescents artificiels est importante. Les fluorimètres de terrain GGUN-FL (Albillia SARL) (Schnegg et Costa, 2003) sont conçus initialement pour mesurer ces différents traceurs fluorescents. Lors de la restitution de l'un de ces traceurs, la mesure de la fluorescence naturelle peut être perturbée. Le Naphthionate, l'Amino-G-Acide et le Tinopal ont des propriétés de fluorescence (Tab. n°3) qui sont proches de la MOD que l'on observe aux émergences karstiques.

Tableau 1 : Caractéristiques spectrales des principaux traceurs fluorescent (Lepiller, 2003).

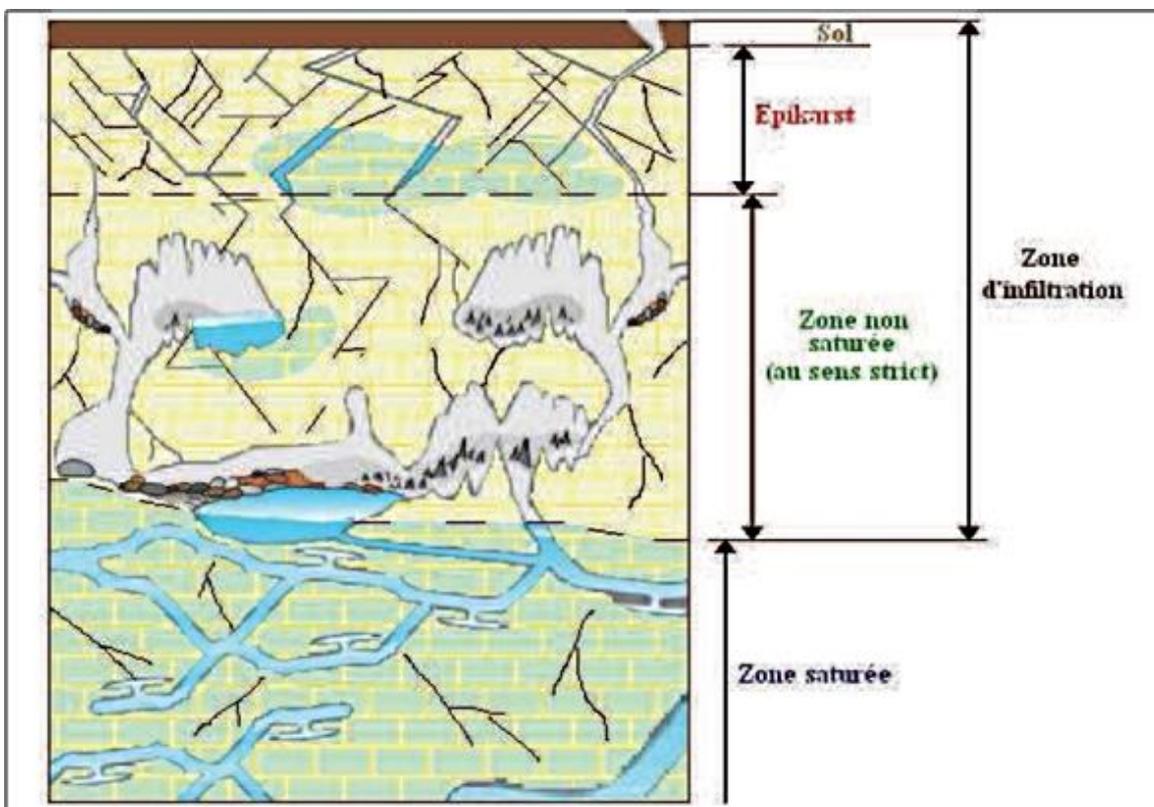
Traceur	Longueur d'onde maximale d'excitation (λ_{ex}) (en nm)	Longueur d'onde maximale d'émission (λ_{em}) (en nm)	Ecart ($\lambda_{em}-\lambda_{ex}$) (en nm)	Domaine de longueur d'onde à explorer lors de la réalisation des spectres d'excitation et d'émission (en nm)
Naphthionate	322	420	98	300-500
Amino-G-Acide	345	452	107	300-500
Tinopal CBS-X	350	430	80	300-500
Lissamine	422	520	98	370-570
Pyranine	452	513	61	400-600
Fluoresceine	490 (485)	515	25	450-650
Eosine gamma	513(508* ou 518**)	537	24	450-650
Rhodamine WT	557 (547)	575	18	450-650
Rhodamine B	554 (544)	574	20	450-650
Sulforhodamine G	532	558	26	450-650
Sulforhodamine B	562	585	23	450-650

*en absence de fluoresceine ; **en présence de fluoresceine (interférence minimisée)

I.4. Spécificités du milieu karstique

Un système karstique représente l'association d'un paysage géomorphologique, de surface et souterrain, et d'une circulation d'eau au sein de ce paysage (Bakalowicz, 1999). Le premier est en constance évolution du fait de l'action du second. Ce processus s'appelle la karstification, et correspond à l'ensemble des processus de genèse et d'évolution des formes superficielles et souterraines d'une région karstique » (Géze, 1973). Il est principalement lié à la dissolution des carbonates et à une érosion mécanique. Par ailleurs, la karstification est majoritairement influencée par deux paramètres, à savoir le potentiel de karstification et la structure interne du massif (Garry, 2007 ; Blondel, 2008). Ce processus est complémentaire de la particularité des roches des systèmes karstiques, qui possèdent des paramètres physico-chimique spécifiques : une forte solubilité, un comportement cassant (Garry, 2007) et deux types de porosités (primaires et secondaires) (Kiraly, 1975 ; Mangin, 1998).

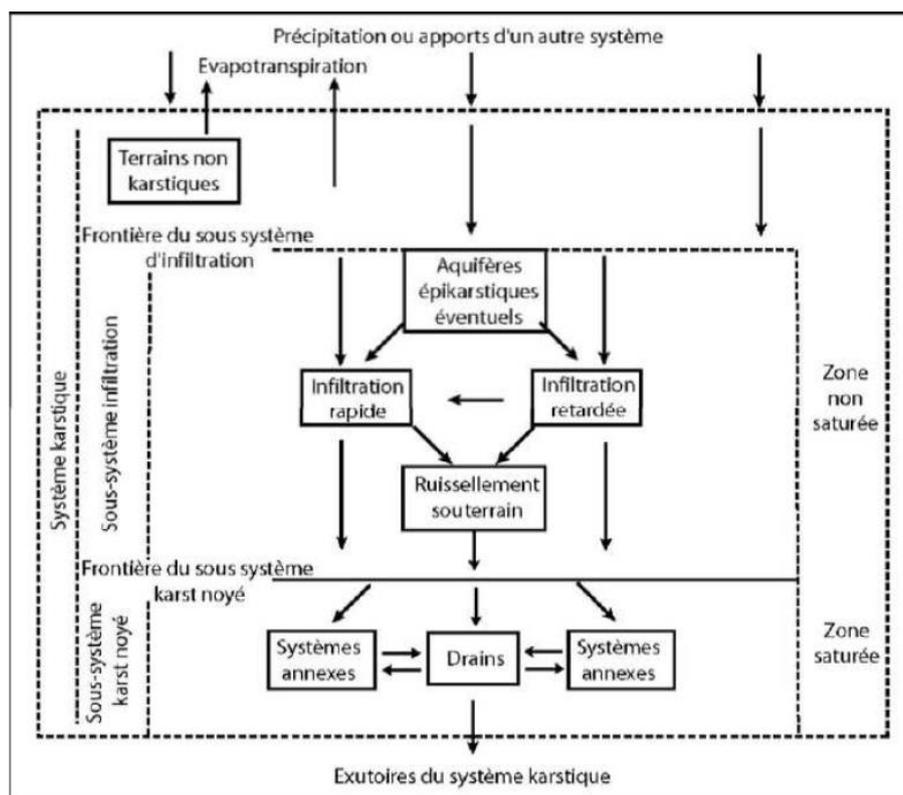
Figure 2 : Structure générale d'un aquifère karstique (Blondel, 2008).



Le processus de formation et d'évolution des aquifères karstiques leur confère une structure particulière, schématisée dans la figure n°2. Cette structure présente une forte variabilité selon les systèmes en fonction de la nature de l'impluvium et du degré de karstification du massif (Marsaud, 1996). Elle est également à l'origine de la forte vulnérabilité des systèmes karstiques aux pollutions de surface qui rejoignent directement le système après des événements pluvieux (Mahler et Massei, 2007 ; Vesper et al., 2001) et transitent rapidement jusqu'à l'aquifère (Mahler et al., 2008).

Le fonctionnement hydrodynamique des systèmes karstiques est régi principalement par la structure du système et par le régime hydrique auquel il est soumis. Le fonctionnement général est décrit dans la figure n°3.

Figure 3 : Schéma général du fonctionnement d'un système karstique (Mangin, 1975).



Les aquifères karstiques sont donc caractérisés par une hétérogénéité complexe, créée et développée par les circulations d'eaux souterraines (Bakalowicz, 2005), qui déterminent en retour une forte variabilité dynamique dans l'espace et le temps. La résultante est un fonctionnement des systèmes karstiques relativement complexe (Fleury et al., 2007). Les traceurs artificiels et naturels sont des outils chimiques se déplaçant du point d'injection ou d'infiltration à un point de décharge. Ils peuvent ainsi fournir diverses informations sur le fonctionnement du système (Mahler et Massei, 2007).

I.5. Matière organique naturelle dans les aquifères karstiques : un traceur naturel des écoulements

I.5.1. La MOD retrouvée dans les aquifères karstiques

En l'absence de contamination anthropique ou de matière organique présente au sein de la lithologie, la matière organique naturelle présente dans les aquifères provient du sol. Elle se retrouve entraînée dans les aquifères par les eaux d'infiltration suite aux précipitations. Les lixiviatés du sol contiennent quatre différents types de fluorophores (Blondel et al., 2012). Cependant dans les eaux souterraines seulement trois composants fluorescents sont généralement observés (Batiot-Guilhe et al., 2008 ; Blondel et al., 2010). Ces trois principaux groupes de MOD fluorescentes se retrouvent à différentes émergences karstiques (Batiot-Guilhe et al., 2008 ; Blondel et al., 2010). Les deux premiers groupes sont des MOD de type humique ou fulvique. Le troisième groupe est dû à des composés protéiques. Nous nommerons par la suite les deux premiers groupes de MOD de type humique ou fulvique H1 et H2 ; le groupe de MOD de type protéique sera nommé P1. Une des particularités de ces trois groupes est qu'ils possèdent un domaine d'excitation/émission différents les uns des autres. Ces informations sont récapitulées dans le tableau suivant (Tab. n°2) :

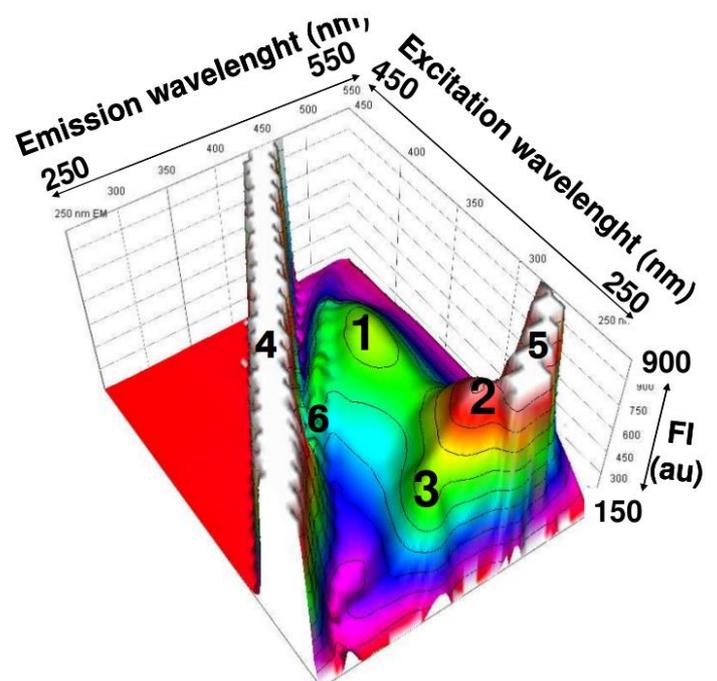
Tableau 2 : Domaines d'excitations/émission de la MODf aux émergences karstiques suivant les auteurs et leurs classifications dans la littérature (Quiers et al., 2013).

		Origine Pédogénique		Matière organique Fraiche/ origine anthropique
		Matière organique humidifiée		Matière organique labile
		H1	H2	P1
Domaine $\lambda_{exc} / \lambda_{em}$	<i>Blondel 2008</i>	320-365/390-460	230-260/390-445	275-305/345-400
	<i>Hartland et al. 2010</i>	290-340/395-430	265-280/300-370	-
	<i>Mudarra et al. 2012</i>	300-335/400-440	230-250/405-445	270-290/345-390
	<i>Quiers et al. 2013</i>	320-360/420-460	230-260/420-460	230-260/340-390
Nomenclature	<i>Coble 1996</i>	C	A	T
	<i>Parlanti et al. 2000</i>	α	α'	δ

Les domaines de fluorescence naturelle mesurés par Quiers et al. (2013) sont ceux observés à la source du Lez, l'un des sites d'étude. Par analogie, ces valeurs sont utilisables sur les différents aquifères karstiques méditerranéens présentant le même type de végétation et le même type de sol sur leurs bassins d'alimentations.

La MOD en solution est composée de plusieurs fluorophores. Trois groupes de fluorophores sont ainsi mis en évidence sur la Figure n°4 : H1, H2 et P1, chacun caractéristique d'un type de MOD. Chacun est caractérisé par un couple de longueur d'onde excitation/émission (cf. Tab. n°1 et Tab. n°2). L'intensité de fluorescence est quant à elle proportionnelle à la concentration de cette substance.

Figure 4 : Exemple de matrice (MEE) obtenue sur un échantillons du Lez (09/05/2008) en l'absence de fluorescence artificielle (Batiot-Guilhe et al., 2008).



Légende :

- 1 : Pic H1
- 2 : Pic H2
- 3 : Pic P1
- 4 : Droite de diffusion de Rayleigh-Tyndall
- 5 : Droite de diffusion de Rayleigh du second ordre
- 6 : Droite de diffusion de Raman

D'autres composés protéiques ont déjà été mesurés dans des eaux de type karstique. Des composés protéiques, deux de type Tryptophane-Like (Birdwell et Engel, 2009, 2010 ; Mudarra et al., 2011) que l'on nommera Trp1 et Trp2 et deux de type Tyrosine-Like (Mudarra et al., 2011) que l'on nommera Tyr1 et Tyr2. Les domaines d'excitations-émission de ces composés sont résumés dans le tableau n°3.

Tableau 3 : Domaines d'excitations/émission de la MODf de type Tryptophane-Like et Tyrosine-Like (Cobble, 1998 ; Baker et al. 2004 ; Mudarra et al. 2011).

	<i>Tryptophane-Like</i>		<i>Tyrosine-Like</i>	
	Trp1	Trp2	Tyr1	Tyr2
λ_{ex} (nm)	280	220	275	220
λ_{em} (nm)	350	350	310	310

Il convient de ne pas faire l'amalgame entre les composés de type Trp2 et les composés de type P1. Ces deux pics protéiques possèdent des pics d'excitation-émission très proches. Même s'il est souvent difficile de les dissocier sur une matrice MEE, nous verrons par la suite qu'il s'agit bien de deux pics bien distincts.

L'analyse de la fluorescence de la MOD possède un fort potentiel de traceur naturel au sein des aquifères karstiques.

I.5.2. Apport du suivi de la MOD humique aux émergences karstiques

La fluorescence émise par des composés humiques est plus adaptée au traçage des flux d'infiltration rapide (Batiot-Guilhe et al., 2008 ; Quiers et al., 2011 ; Blondel et al., 2010). Ils sont dus à des molécules complexes provenant de la décomposition de la matière végétale (Patel-Sorrentino et al., 2002). Un épisode de crue survenant après une période sèche génère une importante variation des paramètres physico-chimiques, entraînant une diminution de Mg^{2+} , marqueur d'une eau à long temps de transit et une augmentation du Carbone Organique Total (COT) marqueur d'une eau d'infiltration rapide (Batiot et al., 2003 ; Batiot-Guilhe et al., 2008). Au sein des aquifères karstiques, la MOD humique évolue de la même manière que le COT (Quiers, 2010). Il existe même des relations linéaires qui lient la concentration en COT et la concentration en MOD humique. Ces relations linéaires dépendent de la saison (Tissier et al., 2013) et de la concentration en MOD protéique (Mudarra et al., 2011). Par analogie avec le COT, la MOD humique est donc un marqueur des eaux d'infiltrations rapides. La mesure de la fluorescence de la matière humique a déjà permis de retracer une arrivée d'eau tandis que les traceurs hydrochimiques classiques ne le permettaient pas (Blondel et al., 2010). Elle a également permis de combler une lacune dans le calcul des temps de transit dans les systèmes karstiques méditerranéens (Blondel et al., 2011 ; Blondel et al., 2012). Elle a également permis de différencier l'arrivée d'eau provenant de la zone saturée ou non saturée (Batiot et al., 2002) et de montrer l'importance du rôle de l'épikarst comme un important réservoir d'eau du système karstique des Grottes de Choranche dans le Vercors (Blondel et al., 2011).

I.5.3. Apport du suivi de la MOD protéique aux émergences karstiques

La fluorescence émise par des composés protéiques est mieux corrélée aux flux de bactéries dans le système. (Batiot-Guilhe et al., 2008 ; Quiers et al., 2013). La présence de ces composés est due à de la matière organique fraîche, à de la production bactérienne (Determann et al., 1996, Parlenti et al., 2000 ; Baker et Spencer, 2004 ; Hudson et al., 2008), ou une contamination anthropique (Baker et al., 2003). En plus du pic de MOD protéique de type P1 mis en évidence à la source du Lez, trois amino-acides fluorescents, de type protéique aromatique, ont été retrouvés et étudiés dans des eaux de surfaces : le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine (Borup, 2008 ; Teymouri 2007). Deux d'entre eux, le tryptophane et la tyrosine ont déjà été observés dans des eaux karstiques (Birdwell et Engel, 2009, 2010 ; Mudarra et al., 2011). Des études menées en laboratoire sur des échantillons d'eaux de rivière soumises à l'urbanisation ont montré que l'intensité de fluorescence des pics Tryptophan-Like (Trp1 et Trp2) augmente directement avec le nombre de colonies microbiennes (Elliott et al., 2006). Par conséquent, certains auteurs ont eu recours au suivi de ces fluorophores en tant qu'indicateurs de la qualité chimique et biologique des eaux de rivière (Baker et Inverarity, 2004 ; Hudson et al, 2008). Dans des eaux karstiques thermiques et sulfurées, une présence importante de MOD de type protéique (pics Trp et Tyr) associé à l'activité microbiologique in situ a été détectée (Birdwell et Engel, 2009, 2010). Aux sources karstiques, une augmentation de la concentration en *Escherichia coli* (*E. coli*) coïncide généralement avec une augmentation de l'intensité de fluorescence des composés protéiques (pic P1) (Quiers et al., 2013). Inversement, l'augmentation de cette intensité n'est pas toujours corrélée avec une augmentation du nombre de bactéries fécales. Ceci est dû aux différentes sources de cette matière protéique. Une partie de cette matière provient directement du sol, sa source est alors différente des *E. coli* d'origine anthropique (Quiers et al., 2013). Elle fournit des informations supplémentaires sur les flux d'infiltration directe et leur contribution spécifique de la matière organique. Une contamination fécale peut être une source majeure de fluorescence. La MOD protéique se retrouve liée à de la production microbienne, une activité microbiologique, à une contamination anthropique ou fécale.

L'analyse de la fluorescence de la MOD aux émergences karstiques nous donne des informations à la fois sur la caractérisation des flux d'infiltration rapide et sur la vulnérabilité des systèmes karstiques. L'analyse de la MOD aux émergences karstiques se révèle être un outil complémentaire parmi ceux déjà connus, permettant de mieux comprendre le fonctionnement de ces aquifères complexes.

II. Présentation de nos deux sites d'études : l'hydrosystème du Lez et l'aquifère de la Fontaine de Nîmes.

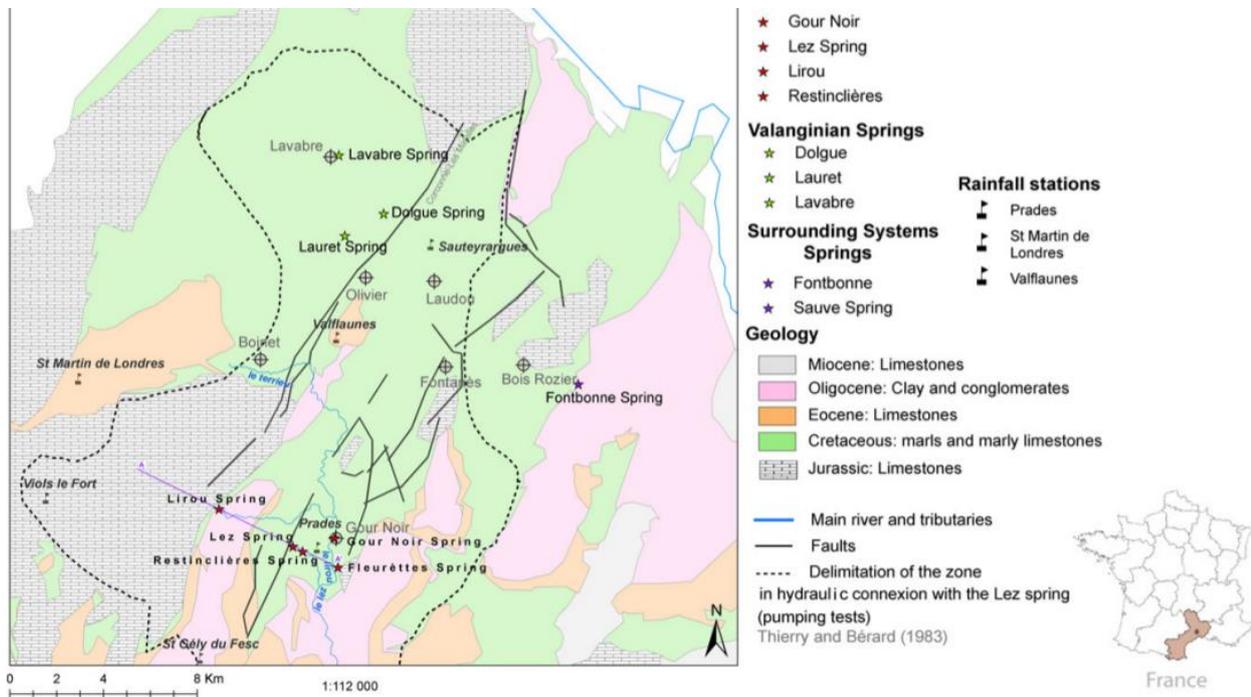
Cette deuxième partie a pour but de décrire le fonctionnement de nos deux sites d'étude : la source du Lez et la Fontaine de Nîmes. La description des formations géologiques traversées par leurs eaux et la structure de ces aquifères nous donneront des indications sur l'origine des eaux, leur parcours et temps de séjour au sein de ces systèmes aquifères au fonctionnement différent. Il s'agit d'un préambule indispensable dans la compréhension de l'origine et la dynamique de la MOD de ces eaux.

II.1. Fonctionnement de l'hydrosystème du Lez

D'après les travaux de Marjolet et Salado (1976), l'eau circule dans trois grands groupes de roches principaux. Des calcaires massifs (Jurassique supérieur et Berriasien), formation karstique principale où siègent les écoulements souterrains alimentant la source du Lez. Cette formation communique avec deux autres entités aquifères, des marnes et calcaires marneux (Lias et

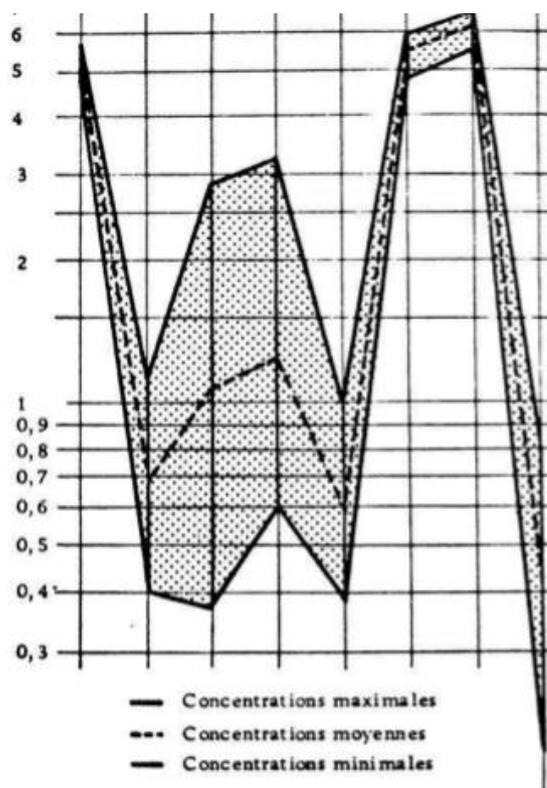
Valanginien inférieur) et des dolomies (Jurassique moyen). La géologie du bassin d'alimentation du Lez est représentée sur la figure n°5.

Figure 5 : Carte hydrogéologique du système karstique du Lez (Bicalho et al., 2012).



Cette lithologie influence le faciès chimique bicarbonaté-calciqque à la source (Fig. n°6). Il est cependant possible de retrouver de fortes teneurs en d'autres éléments, notamment en Na^+ et en Cl^- —signature d'une contribution de flux profonds d'eaux ayant été en contact avec les roches évaporitique du Trias, voir même dans le substratum hercynien. (Bicalho et al., 2012).

Figure 6 : Caractéristiques chimiques générales de l'eau à la source du Lez (Marjolet et Salado, 1976).



L'étude de l'évolution de la chimie en fonction du régime hydrologique du système a apporté des informations quant à son fonctionnement. Les principales variations ont lieu à la suite d'un événement pluvieux et la réponse du système a pu être mise en évidence. La première réaction du système après un événement pluvieux correspond à un phénomène d'infiltration très rapide. Des eaux moins minéralisées à court temps de séjour rejoignent la source, mettant en évidence un phénomène de dilution avec des eaux à long temps de séjour. Par la suite, des eaux fortement minéralisées et plus chaudes arrivent à l'exutoire, avec une participation de la zone profonde de l'aquifère caractérisées par un temps de séjour plus important et une signature hydrochimique singulière (Bicalho et al., 2010 (a)). Cette arrivée d'eau est caractéristique de l'effet « piston » du système. Celui-ci correspond à un drainage des eaux de la zone saturée, non mobilisées sous des conditions d'écoulement normales, vers la source, sous l'effet d'une intense recharge du système (Emblanch et al., 1999 ; Lopez-Chicano et al., 2001 ; Desmarais et Rojstaczer, 2002 ; Perrin et al., 2007). Enfin, une diminution de la minéralisation témoigne d'une arrivée d'eaux d'infiltration plus retardée, qui traversent le système jusqu'à la source, court-circuitant le drainage de la zone profonde.

Une analyse factorielle discriminante suivant une analyse de distribution des fréquences de la conductivité a permis de mettre en évidence plusieurs types d'eau différents à la source du Lez (Bicalho et al., 2009).

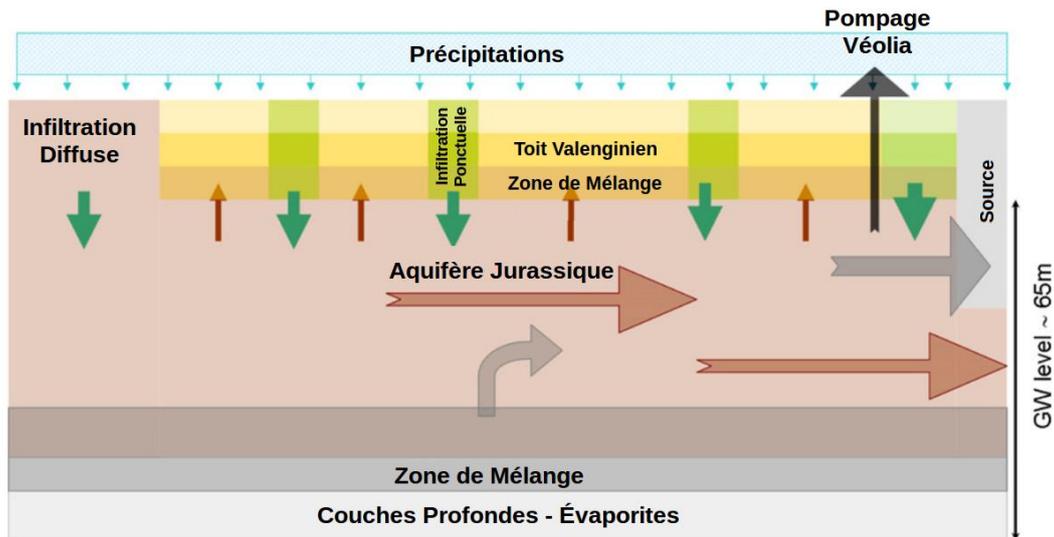
Tableau 4 : Différents types d'eau à la source du Lez (Bicalho et al., 2009).

Types d'eau	Période hydrologique	Niveau piézométrique	Conductivité
<i>Hautes eaux</i>	Crue	Haut	Faible
<i>Basses eaux</i>	Etiage	Bas	stable, intermédiaire
<i>Eaux de décrue</i>	Transition étiage-crue	Variable	en augmentation
<i>Eaux chassées</i>	crue	Haut	très forte (>780µS/cm)
<i>Eaux de dilution</i>	crue	Haut	très faible (<600µS/cm)

L'eau rejoignant la source du Lez est donc composée d'un mélange de plusieurs eaux souterraines issues des différents compartiments de l'aquifère : superficiel (sol et épikarst), peu profond (marno-calcaires Berriasien et Valanginien), profond (dolomies et évaporites) et principal (calcaires Jurassique). En fonction des conditions hydrologiques du système, la proportion de la participation au flux d'eau de chacun de ces compartiments varie, entraînant ainsi des fluctuations de la chimie à l'exutoire (Bicalho et al., 2010 (b)). La participation des eaux de la zone saturée est constante, mais leur proportion deviennent plus importante à la suite d'événements pluvieux, lorsque la pression hydraulique élevée les mobilise (Bicalho et al., 2010 (b)). La présence de fractures, cavités, dolines, et pertes de surface permet également un flux d'infiltration rapide à la suite de précipitations (Dubois, 1964) Lorsque le système est en étiage ou en période de transition, l'eau à l'exutoire est marquée par la participation du compartiment peu profond (Joseph et al., 1987 ; Bicalho et al., 2010 (b)).

Le fonctionnement de l'hydrosystème du Lez peut être représenté par le schéma qui suit (Fig. n°7).

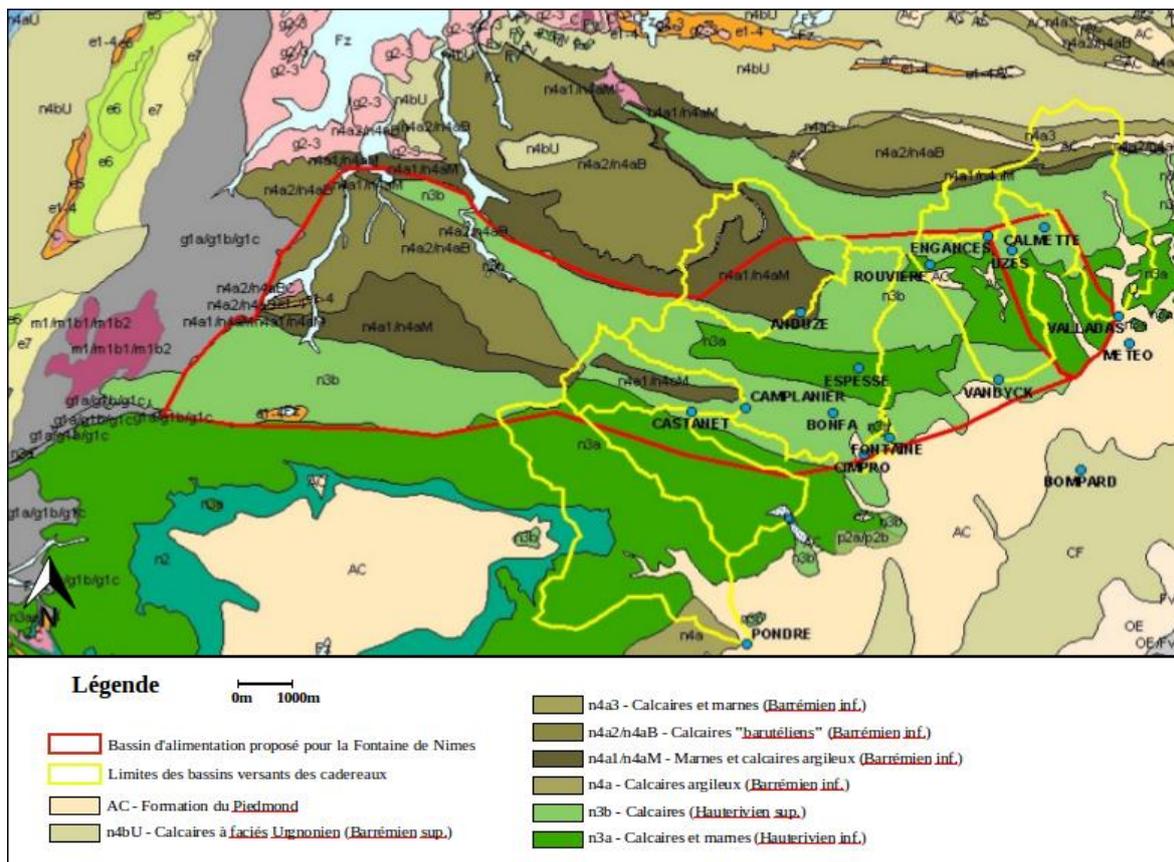
Figure 7 : Modèle conceptuel du fonctionnement du karst du Lez (Bicalho et al., 2012).



II.2. Fonctionnement de l'aquifère karstique de la Fontaine de Nîmes

La Fontaine de Nîmes est une source de débordement. Elle se situe dans les formations calcaires argilo-gréseuses avec intercalations marneuses de l'Hauterivien supérieur (Fig. n°8). Il s'agit de la formation karstique principale où siègent les écoulements souterrains alimentant la Fontaine (Maréchal et al., 2005). L'eau circule également dans les marnes beiges du Barrémien et dans les marnes feuilletées avec inter lits de calcaires argileux de l'Hauterivien inférieur (Maréchal et al., 2004).

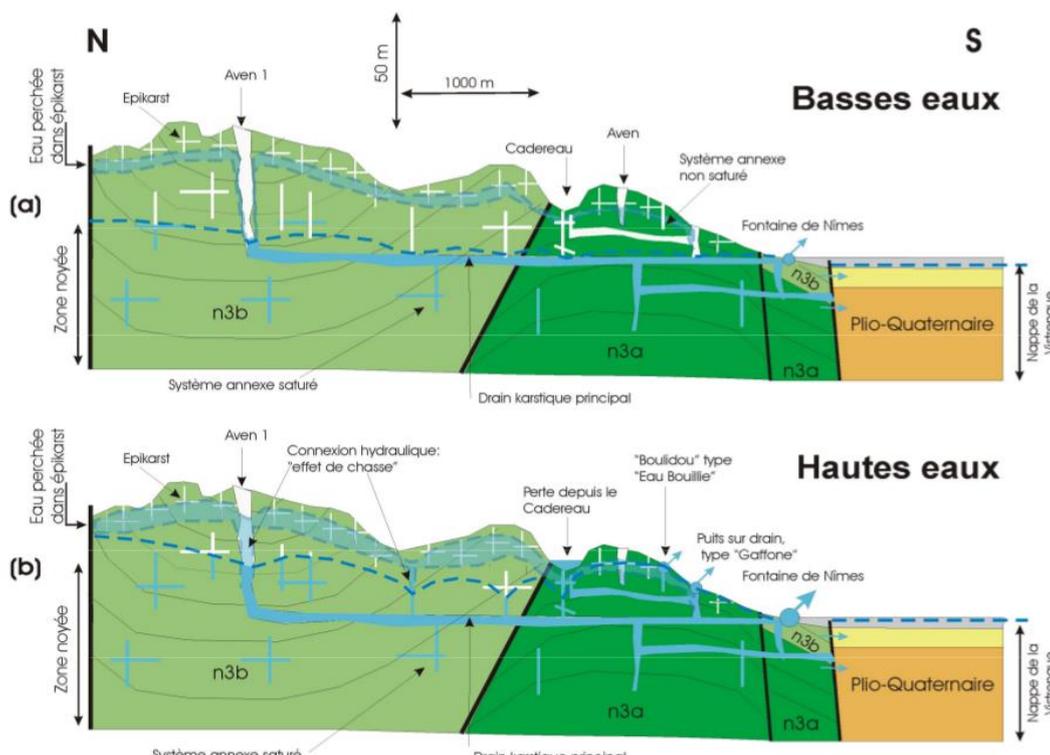
Figure 8 : Carte géologique avec bassin d'alimentation proposé pour la Fontaine de Nîmes en rouge ; les limites en jaunes correspondent aux limites des bassins versants des cadereaux. (Maréchal et al., 2005).



De nombreux phénomènes karstiques se manifestent en surface le long de la zone d'alimentation : avens, grottes et pertes attestent de l'intense karstification du massif calcaire. Les drains du réseau karstique à l'amont de la source, explorés par les spéléologues, sont de grands diamètres. Ils permettent des écoulements importants et se divisent en deux branches principales : un réseau ouest sur lequel se situe le puits Poubelle dont le grand diamètre suggère d'importantes circulations d'eau et un réseau nord dans le prolongement duquel se situe le puits des 9 Arcades dans le cadereau d'Alès (quartier « Eau Bouillie »). De diamètre inférieur, les écoulements y semblent moins importants. Le développement du système karstique sous le réseau principal est limité à quelques dizaines de mètres. Ce qui implique de faibles réserves d'eau dans la zone profonde de l'aquifère. (Maréchal et Ladouche, 2006). La signature de l'eau de la Fontaine de Nîmes résulte d'un mélange d'eaux issues des secteurs Nord-Ouest (polluée par une décharge) et Nord-Est non polluée par une décharge, mais polluée par des activités anthropiques (eaux usées domestiques,...). Une communication hydraulique directe a été mise en évidence par de fortes concentrations en Rubidium entre la décharge des Lauzières et la Fontaine de Nîmes par l'intermédiaire du réseau ouest (Maréchal et al., 2004). Lors des crues, l'écoulement de la Fontaine de Nîmes apparaît en majorité issu des eaux nouvelles infiltrées dans les zones épikarstiques du système (de 54% à 73%, d'après les estimations ponctuelles réalisées). En moyennes annuelles, ces contributions tendent à s'inverser : 60% d'eaux anciennes et 40% d'eaux nouvelles. (Maréchal et Ladouche, 2006). L'infiltration de l'eau dans la zone noyée depuis l'épikarst s'effectue de deux manières différentes (Maréchal et Ladouche, 2006) : une infiltration rapide, via un réseau de fissures sur une période de 30 jours représentant 40% du volume d'infiltration et une infiltration lente, via un réseau de fissures mal connectées à la zone noyée sur une période de 225 jours représentant les 60% restant du volume d'infiltration. Le pic de crue à la Fontaine se produisant en moyenne 24 heures après un épisode pluvieux, ce faible décalage indique que les écoulements se produisent dans un système en charge, c'est-à-dire dans des conduits karstiques noyés. La réponse du système à la pluie efficace se produit sur une durée de 30 jours (durée de l'infiltration rapide) (Maréchal et Ladouche, 2006). La zone noyée de l'aquifère alimentant la Fontaine de Nîmes s'avère moins bien drainée que l'épikarst (Maréchal et Ladouche, 2006). En période de crue, le karst peut saturer rapidement, ce qui entraîne une alimentation des cadereaux, (Maréchal et Ladouche, 2006)

Figure 9 : Modèle conceptuel du fonctionnement du karst de Nîmes (Marechal et Ladouche, 2006).

N3a : Hauterivien inférieur (calcaires et calcaires marneux) ;
n3b : Hauterivien supérieur (calcaires argilo-gréseuses en bancs épais très fissurés, karstifiés) ;



III. Suivi et analyse de la MOD par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire

Le but de cette partie sera de définir quels sont les outils et méthodes qui permettent le suivi de la MOD fluorescente par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire, de l'échantillonnage, à l'acquisition et optimisation des données jusqu'aux résultats qu'ils permettent d'obtenir.

III.1. Matériels et méthodes

III.1.1. Prélèvements et obtention des données

Les prélèvements ont été effectués sur plusieurs sources drainant l'aquifère du Lez (Fig. 5). Depuis mai 2007, le laboratoire HSM assure le suivi de la MOD à l'exutoire principal pérenne de cet aquifère, la source du Lez. Ces prélèvements sont effectués dans des flacons en verre ambré 60mL décontaminés et grillés à 500°C. L'échantillonnage est réalisé au niveau du déversoir, c'est-à-dire au niveau du rejet du débit réservé de 160 L/s effectué par la station de pompage, du fait de l'assèchement de la vasque une grande partie de l'année. La périodicité des prélèvements est bimensuelle à pluri journalière en période de crue. De plus, des échantillonnages ont été réalisés sur trois autres sources temporaires du système, celle du Lirou, de Fleurette et de Restinclières, au pas de temps journalier en période de crue. De plus, sur chacun des sites, des prélèvements complets visant à obtenir un maximum de données relatives à la chimie de l'eau ont été effectués. En complément, le pH, la conductivité électrique (T° ref à 25°C) et la température ont été mesurés à l'aide de sondes manuelles (pHmètre et conductimètre). Ces paramètres physico-chimiques ont par la suite été vérifiés en laboratoire lors de la mesure du titre alcalimétrique complet. Dans le cadre de ce stage, j'ai pu participer aux campagnes de prélèvements à la source du Lez et aux différentes analyses effectuées en laboratoire. Les paramètres température, turbidité, conductivité et niveau piézométrique sont enregistrés en continu par Véolia ($\Delta t=1h$) à la station de pompage de la source. Les paramètres température, conductivité électrique et niveau piézométrique sont également mesurés au déversoir de la source du Lez et à la source du Lirou par le laboratoire HSM (sondes CTD). La turbidité est mesurée depuis le printemps 2010 au déversoir par le laboratoire HSM (fluorimètre de terrain GGUN).

III.1.2. Mesure de la fluorescence naturelle de la MOD par spectrofluorimétrie 3D

La fluorescence naturelle est analysée en laboratoire grâce à un spectrofluorimètre 3D SHIMADZU® RF-5301 PC (lampe xénon). Celui-ci a permis d'obtenir des spectres d'excitation/émission selon la calibration suivante (Tab. n°5), établie d'après la littérature (Batiot, 2002 ; Batiot-Guilhe et al., 2008)

Tableau 5 : Valeurs de calibration du spectrofluorimètre pour les MEE de fluorescence naturelle (Quiers, 2010).

	Début	Fin	Pas
λ excitation (nm)	220	450	10
λ émission (nm)	250	550	1
Fentes Exc et Em		15 nm	
Nombre de scans		23	
Vitesse du scan		Fast	

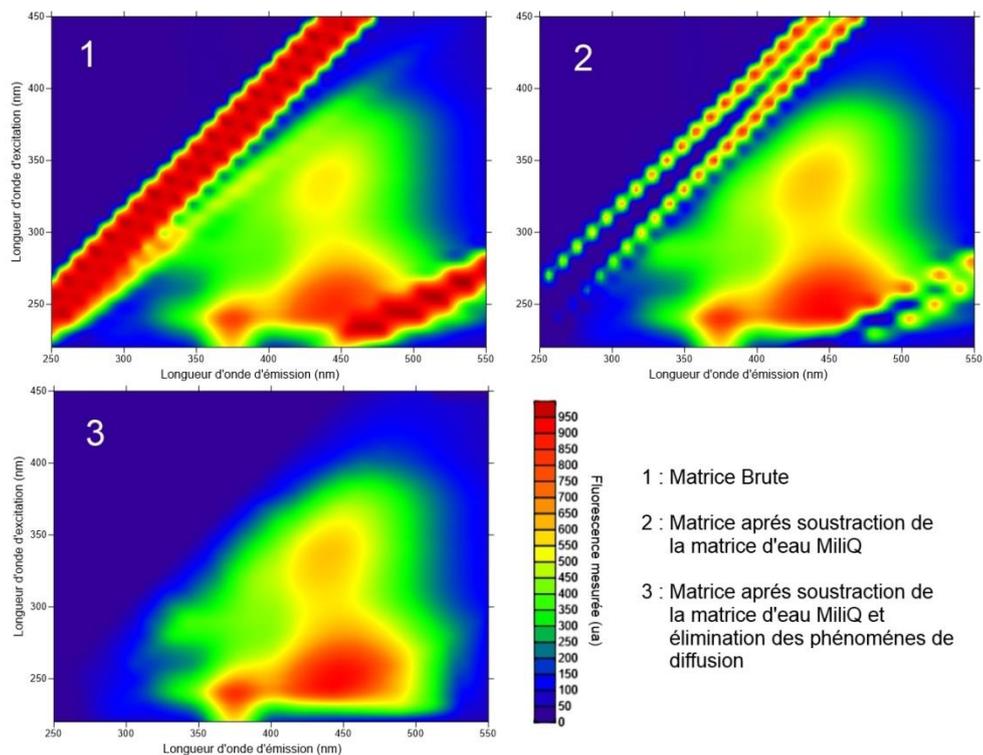
L'analyse au spectrofluorimètre a permis d'obtenir des spectres de fluorescence en 3D auxquels des MEE (Matrices d'Excitation Émission) (Fig. n°4) leur sont associées.

Ce type de suivi demande qu'un échantillon soit prélevé manuellement à la source du Lez avant d'être analysé en laboratoire. L'information sur la MOD est acquise de manière ponctuelle lorsque l'on regarde son évolution temporelle. Il est impossible de connaître les variations de MOD entre deux prélèvements. Un suivi continu, avec un fluorimètre de terrain placé au niveau d'une émergence karstique permet d'avoir cette information complémentaire (Partie IV).

III.2. Traitement des matrices MEE

Dans le cadre de ce stage, un traitement des matrices MEE a été effectué depuis le logiciel MATLAB® afin d'obtenir des matrices MEE qui reflètent aux mieux la fluorescence naturelle observée à la source du Lez. Dans un premier temps la matrice MEE de l'eau Ultra pure (eau Milli-Q produite par un système de filtration et osmose inverse de la société Millipore) est soustraite aux matrices MEE du Lez (Annexe n°1). Cette opération permet de soustraire le bruit de fond au signal de la matière organique (Blondel, 2008). Cette opération permet également d'atténuer les phénomènes de diffusion de Rayleigh et de Raman, ces deux phénomènes étant dus à une interaction entre la lumière d'excitation et les molécules d'eau (Zepp et al., 2004). Postérieurement, les trois phénomènes de diffusion : Rayleigh, Tyndall et Raman, interférant sur la mesure de la fluorescence de la MOD sont éliminés. Cette opération est effectuée par l'intermédiaire du logiciel MATLAB®. Le script « cleanscan.m » (Annexe n°2) du programme Fluorescence Toolbox pour MATLAB® programmé par Wade Sheldon (Zepp et al., 2004) permet d'éliminer les trois phénomènes de diffusion des matrices MEE. Pour enclencher ce script, l'opérateur doit identifier les zones de la matrice MEE où il y a présence de ces phénomènes de diffusion. Le script leur attribue une valeur nulle, puis ces valeurs sont interpolées avec le reste de la matrice. Ce traitement permet d'obtenir des matrices qui traduisent aux mieux la fluorescence naturelle de l'eau prélevée.

Figure 10 : Evolution d'une Matrice MEE suite aux différentes étapes de traitement, matrice du Lez prélevé le 18/02/2014.



III.3. Identification des différents pics de MOD présents à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes

III.3.1. Identification des différentes sources de MOD protéiques dans les eaux du Lez

Suite à ce traitement des matrices MEE, une visualisation complète des matrices MEE de la source du Lez depuis 2007 a été effectuée. Une attention particulière a été apportée sur les différents pics de fluorescences dûs à de la MOD protéique. On retrouve des formes de MOD protéiques fluorescentes avec des caractéristiques spectrales d'excitation et d'émission différentes. Un seul de ces composés est systématiquement présent à la source du Lez, il s'agit de la MOD protéique qui présente un pic d'excitation à 220nm et un pic d'émission à 375nm. On nomme ce composé « protéique-like 1 » (P1). On retrouve également à la source du Lez des composés protéiques possédant des caractéristiques de fluorescence identique à celle des acides aminés tryptophane (Trp1 et Trp2) et tyrosine (Tyr1 et Tyr2). La présence de ces composés n'est pas mesurée régulièrement à la source du Lez. Leur présence n'a à ce jour pas été mentionnée dans des aquifères de type karstique méditerranéen. On les retrouve généralement mobilisés à la source du Lez suite à une crue, leur présence serait liée à une activité microbiologique in situ. (Birdwell et Engel, 2009, 2010)

Figure 11 : Matrice MEE avec présence des deux composés de type tryptophane-like (Trp), prélèvement du Lez du 15/05/2013.

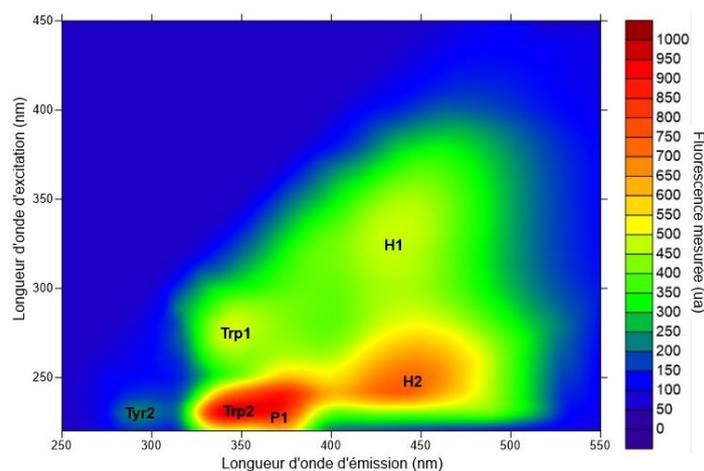
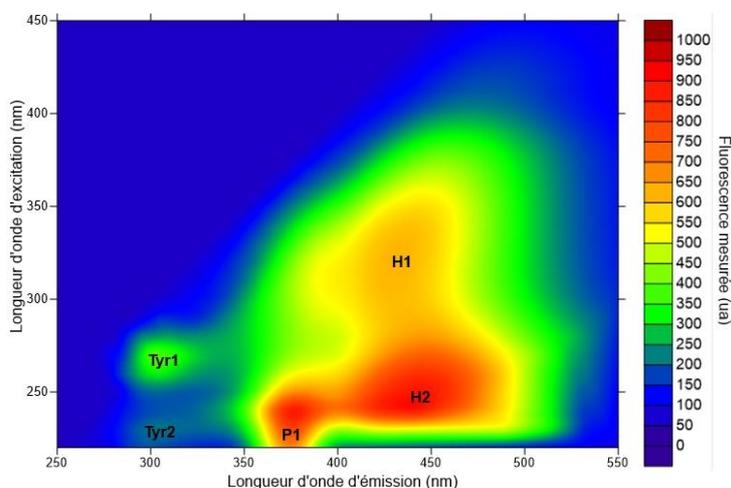
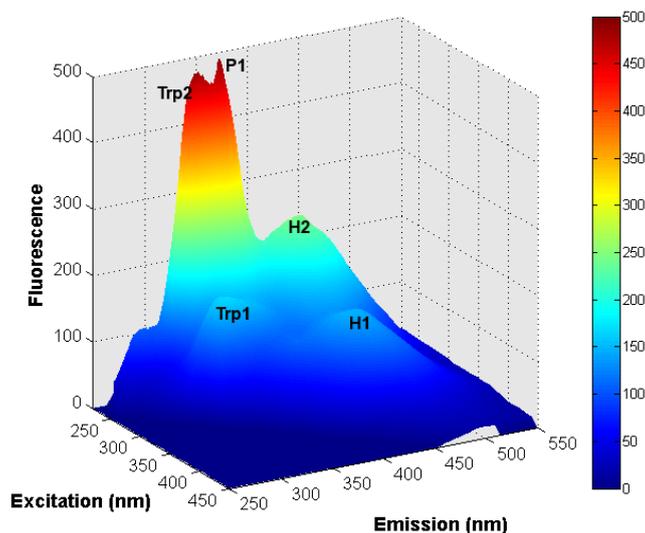


Figure 12 : Matrice MEE avec présence des deux composés de type tyrosine-like (Tyr), prélèvement du Lez du 18/12/2012.



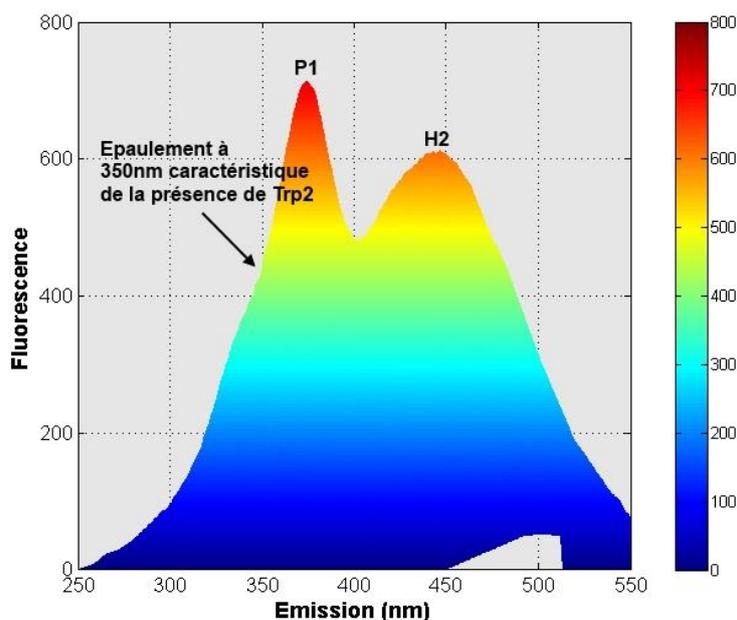
Nous pouvons constater sur la figure n°11 que les pic de fluorescence Trp2 et P1 sont difficiles à différencier et semblent ne former qu'un seul pic de fluorescence. Pourtant ces deux pics sont bien différents. Ils possèdent même une dynamique différente à la source du Lez (Annexe n°4). Sur la figure n°13, la fluorescence des pics Trp2 et P1 est quasiment équivalente, la représentation de la matrice MEE en 3D illustre la difficulté de différencier deux pics distincts.

Figure 13 : Matrice MEE avec présence des composés P1 et Trp2 en proportion équivalente, prélèvement du Lez du 22 /03/2010.



Sur la plupart de nos matrices MEE, la présence de l'un des deux pics (P1 ou Trp2) masque la présence de l'autre. Dans ce cas de figure, leur présence peut être identifiée en vue 2D : fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'émission. La présence du pic « masqué » se traduit par la présence d'un épaulement à sa longueur d'onde d'émission caractéristique (Fig. n°14) (350nm pour Trp2 et 375nm pour P1).

Figure 14 : Fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'émission, prélèvement du Lez du 05/11/2013.



Sur nos matrices MEE, lorsqu'il y a une présence importante de ces deux composés, la fluorescence du pic Trp2 déborde sur la zone de fluorescence du pic P1, et vice versa. Ceci implique que la présence de Trp2 a une influence sur la fluorescence mesurée du pic P1 : plus la fluorescence du pic Trp2 est importante, plus elle accentue la fluorescence du pic P1 et vice versa. Cette influence reste difficile à quantifier. Ce phénomène existe entre tous les pics de MOD présents sur nos matrices MEE mais reste minime (entre H1 et H2, entre H1 et Trp1 ou entre Trp2 et Tyr2 par exemple). Dans le cas de Trp2 et P1, ce phénomène est important. L'utilisation de méthodes de déconvolution du signal en trois dimensions pour traiter nos matrices MEE permettrait de quantifier cette influence et de s'en affranchir. Ce traitement n'a pas pu être mis en place dans le cadre de ce stage.

III.3.2. Identification des différentes sources de MOD dans les eaux karstiques de la Fontaine de Nîmes

Nous nous sommes rendus à la Fontaine de Nîmes. Lors de ces déplacements, trois échantillons ont été prélevés et analysés par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire (Tab. n°6).

Tableau 6 : Longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et intensité de fluorescence des échantillons prélevés à la Fontaine de Nîmes.

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1			
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle
FdN (Vasque)	26/02/2014	5	330	437	318	1588	250	441	448	2239	220	381	58	290
FdN (Vasque)	08/04/2014	5	330	435	480	2401	250	442	649	3243	220	376	120	601
FdN (Aven)	08/04/2014	5	330	435	417	2087	250	443	639	3196	220	374	279	1397

En guise de comparaison, voici ce qui a été mesuré à la source du Lez durant la même période.

Tableau 7 : Longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et intensité de fluorescence des échantillons prélevés à la source du Lez du 18/02/2014 au 29/04/2014.

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1			
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle
Lez	18/02/2014	1	340	440	584	584	250	447	901	901	220	374	524	524
Lez	03/03/2014	1	330	437	489	489	250	445	771	771	220	374	443	443
Lez	17/03/2014	1	330	436	434	434	240	435	708	708	220	374	473	473
Lez	01/04/2014	1	330	441	310	310	250	447	464	464	220	373	323	323
Lez	22/04/2014	1	330	436	278	278	250	445	430	430	220	373	307	307
Lez	29/04/2014	1	320	429	268	268	250	440	417	417	220	375	234	234

Le type de MOD observé à la Fontaine de Nîmes est identique à celui observé à la source du Lez. Deux pics de MOD de type humique-like (H1 et H2) et un pic de type protéique-like (P1). Ces trois pics ont des longueurs d'onde d'excitation et d'émission identiques sur les deux sources.

La proportion en matière humique est plus importante à la Fontaine de Nîmes qu'à la source du Lez. L'intensité de fluorescence de la matière humique pour les trois prélèvements de la Fontaine est supérieure aux maxima des pics H1 et H2 atteints à la source du Lez (Tab. n°8). La MOD humique étant un traceur naturel des eaux d'infiltration rapide, ce résultat s'explique principalement par la différence de fonctionnement de ces deux hydrosystèmes. L'aquifère de la Fontaine de Nîmes est caractérisé par une forte contribution de l'épikarst dans son écoulement et possède une karstification peu profonde. Ce résultat tend à confirmer que les eaux s'écoulant à la Fontaine de Nîmes ont un temps de séjour souterrain inférieur aux eaux s'écoulant à la source du Lez. La Fontaine de Nîmes sur ces deux prélèvements, semble avoir une contribution en MOD de type protéique-like (P1), assez similaire à celle du Lez. Un suivi régulier de la fluorescence naturelle de la Fontaine de Nîmes, avec un suivi plurijournalier en période de crue permettrait de faire une

comparaison détaillée de la fluorescence naturelle entre ces deux sources. Il n’y a pas eu de détection de MOD de type tryptophane-like (Trp1 et Trp2) et de MOD de type tyrosine-like (Tyr1 et Tyr2) à la Fontaine de Nîmes sur ces prélèvements. Sur le prélèvement du 08/04/2014, la MOD de type protéique (P1) est deux fois plus importante dans la Vasque de la Fontaine que dans l’aven Mazauric situé quelques mètres en aval à l’ouest, en relation directe avec la vasque de la Fontaine. Cette différence peut s’expliquer par le fait que la vasque de la Fontaine est située dans un milieu urbanisé, sujette à diverses contaminations anthropiques et biologiques, tandis que l’aven Mazauric est aménagé et protégé par une dalle en métal (Annexe n°1). L’eau prélevée dans l’aven n’est pas influencée par l’activité anthropique et biologique qui s’exerce autour de l’aven, ce qui la rend plus représentative de l’eau s’écoulant à l’émergence de la Fontaine de Nîmes qui reste néanmoins l’exutoire d’un karst soumis à d’importantes pollutions anthropiques.

III.4. Détermination de l’intensité de fluorescence de chaque composante de la MOD

Postérieurement au traitement éliminant les phénomènes parasites de diffusion, toutes les matrices MEE de la source du Lez ont été traitées dans le but de déterminer les maxima de l’intensité fluorescence de chacun des pics de fluorescence de la MOD et leurs positions. La position donne la longueur d’onde d’excitation (λ_{ex}) et la longueur d’onde d’émission (λ_{em}) de chaque composé de la MOD. Ce traitement permet également de connaître la fluorescence en unité arbitraire (ua) de chaque pic de la MOD fluorescente. Pour réaliser ce traitement, toutes les matrices MEE ont été importées sous MATLAB®. Un script que j’ai écrit (Annexe n°4) a permis d’obtenir ces résultats qui ont ensuite été mis sous forme d’un tableau (Annexe n°5). Ce traitement nécessite que chaque pic de fluorescence possède un maximum local sur la matrice, ce qui n’est pas toujours le cas comme sur la figure n°14 où le pic Trp2 a son maximum dissimulé par le pic P1.

Ce traitement permet de faire le point sur les domaines d’excitation, d’émission et sur l’intensité de fluorescence des différents composés de la MOD observés à la source du Lez (Tab. n°8).

Tableau 8 : Informations sur les différents composés de la MOD à la source du Lez.

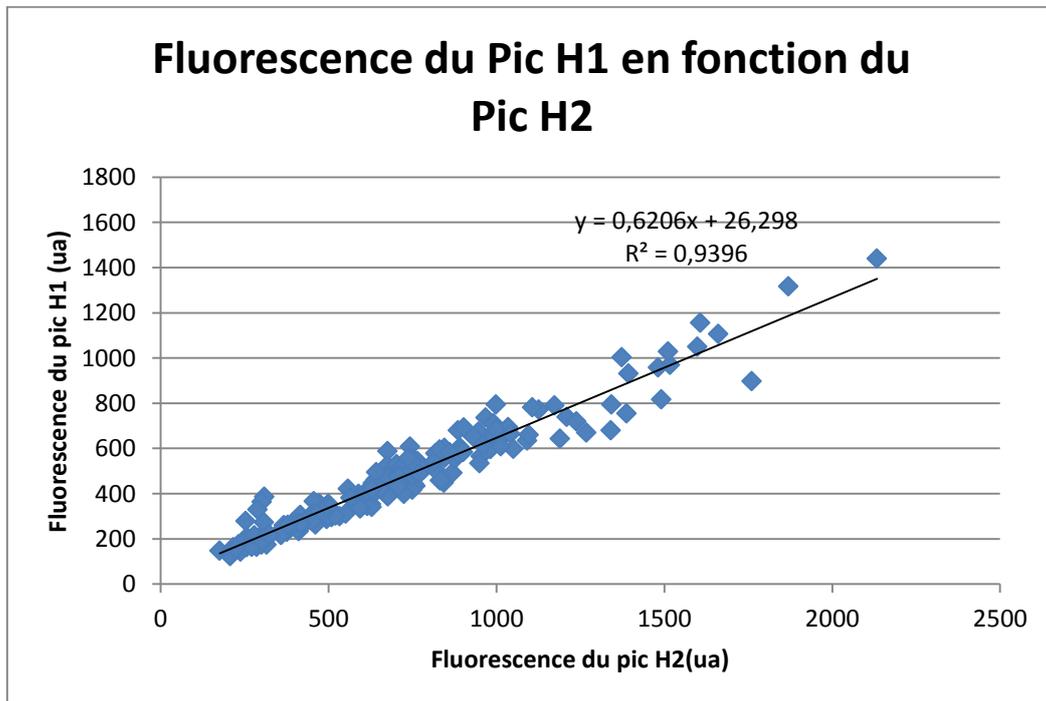
Valeur Minimum – Valeur Maximum
(Moyenne)

	MOD Humique		MOD Protéique				
	H1	H2	P1	Trp1	Trp2	Tyr1	Tyr2
λ_{ex} (nm)	320-340 (331)	240-250 (247)	220	280-290	230-240	260-270	220-230
λ_{em} (nm)	426-446 (438)	430-450 (443)	370-380 (375)	335-360	340-360	300-320	290-315
Fluorescence (ua)	120-1600 (480)	175-2700 (720)	25-7000 (1100)	0-6000	0-10000	0-1000	0-3500

Le tableau n°8 met en évidence la forte variabilité de la fluorescence pour les composés P1, Tyr1 et Tyr2 allant jusqu’à une plage de variabilité de 10000ua pour le composé Trp2. Les composés de la MOD Humique ont une plage de variabilité plus faible, d’environ 2000ua.

L’intensité de fluorescence des deux pics de MOD humique (H1 et H2) possède une bonne corrélation linéaire (Fig. n°15). Ce résultat implique que leur origine et leur dynamique de transport sont les mêmes au sein de l’aquifère du Lez. Le suivi de l’évolution de ces deux pics fournit les mêmes informations.

Figure 15 : Fluorescence du pic H1 en fonction du pic H2 pour les 193 échantillons prélevés à la source du Lez et analysés par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire.



IV. Suivi en continu de la fluorescence naturelle in situ à l'aide d'un fluorimètre de terrain (GGUN-FL)

IV.1. Matériel, méthodes, période de mesures

IV.1.1. Présentation et fonctionnement du fluorimètre de terrain GGUN

Le fluorimètre de terrain GGUN-FL a été initialement conçu afin de suivre l'évolution de la concentration de traceurs artificiels aux émergences d'aquifères karstiques. Il permet de mesurer en continu la concentration des matières fluorescentes présentes dans les eaux. Le GGUN se compose de deux à quatre optiques, suivant le modèle. Les optiques du GGUN se composent chacune d'une lampe, de deux filtres optiques et d'une photo-diode pour la mesure d'un type de fluorophore précis, il en va de même pour la mesure de la turbidité. Concernant les optiques mesurant la présence d'un fluorophore, leurs lampes émettent un spectre lumineux dans une gamme de longueur d'onde précise. Leur rôle est de venir exciter la matière fluorescente ciblée. Perpendiculairement aux lampes, une photo-diode mesure l'émission fluorescente résultante. Le filtre d'excitation, face à la lampe, permet de filtrer le maximum de lumière qui n'excite pas le fluorophore ciblé. Le filtre d'émission, face à la photo-diode, permet de filtrer le maximum de lumière qui ne provient pas de l'émission fluorescente du fluorophore ciblé. (Fig. n°15, Fig n°16). L'optique dédiée à la mesure de la turbidité est conçue de la même façon. Contrairement aux autres optiques, elle ne mesure pas un fluorophore particulier. L'optique turbidité mesure la diffusion de Tyndall (Fig. n°17). Cette diffusion de Tyndall est due à de la diffusion par la matière particulaire présente dans l'eau, son intensité est proportionnelle à cette matière particulaire générant de la turbidité.

Figure 16 : Schéma d'un étage du fluorimètre de terrain GGUN (notice individuelle du fluorimètre GGUN-FL)

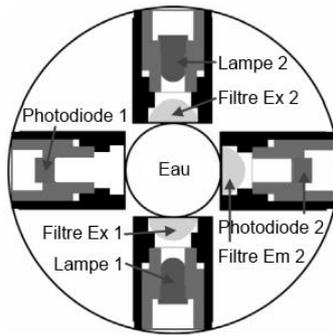
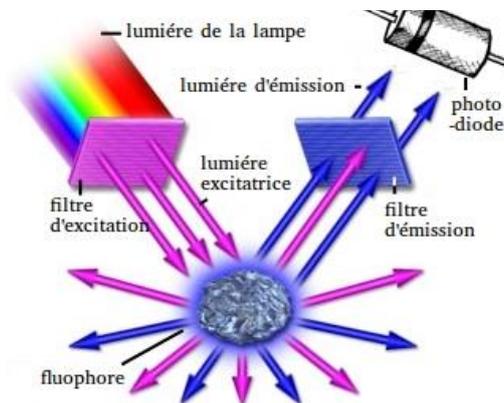


Figure 17 : Schéma de mesure de fluorescence du fluorimètre de terrain GGUN.



IV.1.2. Caractéristiques des différentes optiques

Chaque optique est associée à un couple d'émission/excitation différent. Cela permet ainsi de mesurer de la matière fluorescente de différentes origines et de différents types. Classiquement, le fluorimètre GGUN est équipé des quatre optiques suivantes ([notice individuelle du fluorimètre GGUN-FL](#)) :

- une optique permettant le suivi du traceur artificiel fluoresceine (optique Fluoresceine)
- une optique permettant le suivi de traceurs artificiels tels que la sulforhodamine B ou la rhodamine B (optique Rhodamine)
- une optique permettant le suivi de traceurs artificiels tels que le naphthionate de sodium, le tinopal ou l'acide amino G (optique Naphtionate). Cette optique permet également en l'absence de ces traceurs, de mesurer la fluorescence naturelle provenant de la MOD de type H1. ([Durepaire, 2013](#))
- une optique permettant le suivi de la turbidité (optique Turbidité)

Une nouvelle optique a été mise à disposition pour mesurer la MOD protéique de type P1 (optique Protéique). Celle-ci est composée d'une LED ultra-violette centrée sur la longueur d'onde 245nm et d'un filtre mesurant l'émission fluorescente comprise entre 300 et 400nm.

Afin d'analyser les données enregistrées par ces fluorimètres, il est important de bien comprendre quels sont les domaines spectraux mesurés par chaque optique. Ceci a fait l'objet d'une attention particulière dans le cadre de ce stage : un calcul des fenêtres de mesure d'excitation et d'émission a

été réalisé sur chacune des optiques qui équipent les différents GGUN qui ont été déployés à la source du Lez. Ces calculs sont basés sur les informations fournies par la [notice individuelle du fluorimètre GGUN-FL](#) grâce aux caractéristiques spectrales des différents filtres, LED et photodiode équipant les optiques. Ceci nous a permis d'obtenir des matrices MEE normalisées en pourcentage pour chacune des optiques (annexe n°6, Fig. n°17 et n°18). Ces fenêtres de mesure caractérisent d'une manière graphique ce que « voit » le GGUN par rapport à une matrice MEE obtenue sur un échantillon. Ce mode de représentation inédit permet de discuter de la capacité du GGUN à suivre la MOD fluorescente, mais aussi de mieux comprendre les corrélations qui vont apparaître entre les différents signaux mesurés par le GGUN.

Figure 18 : Fenêtres de mesure des différentes optiques du GGUN.

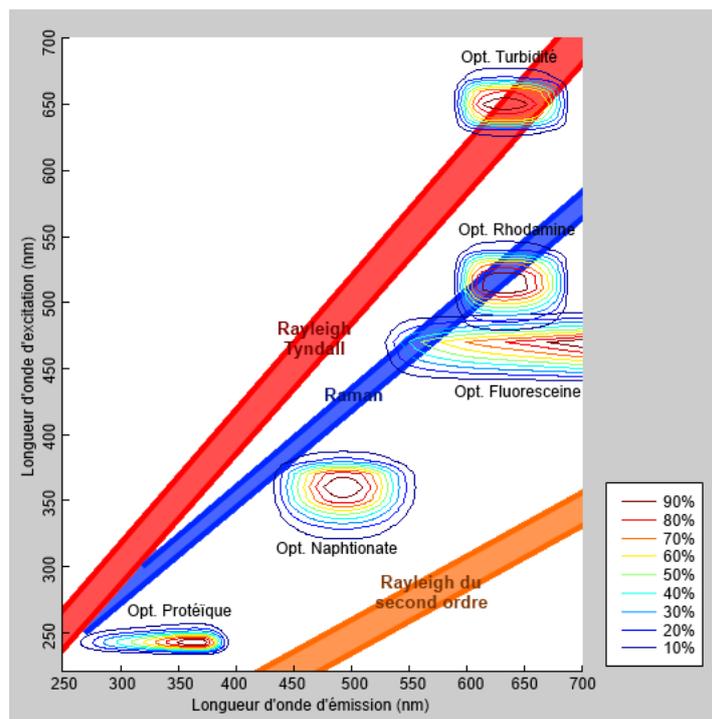
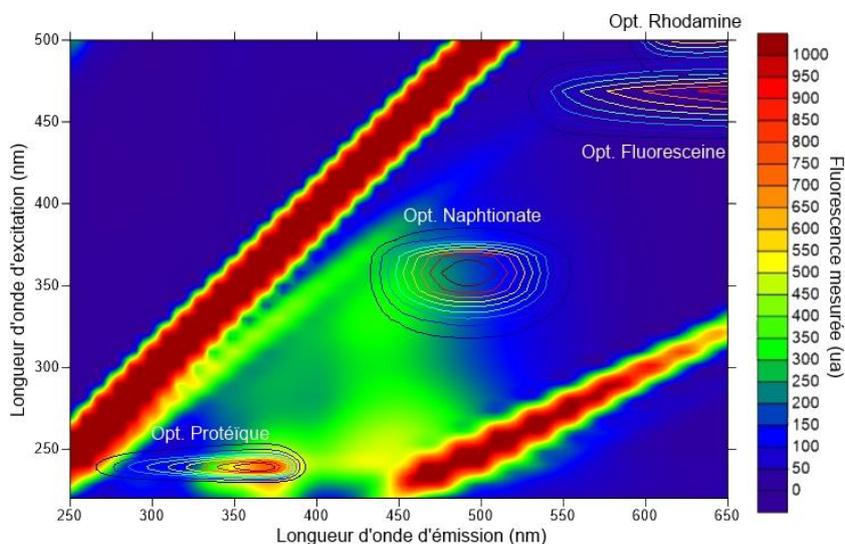


Figure 19 : Fenêtres de mesure des différentes optiques du GGUN sur matrice MEE de la source du Lez du 17/06/2013.



Nous voyons sur la Figure n°17 que l'optique Naphtionate conçue initialement pour mesurer des traceurs comme le naphtionate, le tinopal et l'acide amino G possède une fenêtre de mesure qui recoupe le pic de fluorescence de la MOD de type H1. Il a été montré que cette optique, en absence de traceur artificiel, mesure les variations de MOD de type H1 à la source du Lez (Durepaire, 2013). Équipée d'une lampe UV à 245nm et d'un filtre à bande passante de 300 à 400nm l'optique Protéique a été conçue pour mesurer la MOD de type P1. Nous voyons sur la figure n°17 que sa fenêtre de mesure est centrée sur le pic de fluorescence de la MOD de type P1. Elle n'a cependant jamais été utilisée à ce jour. Elle va être déployée pour la première fois dans le cadre de ce stage. La configuration de ces fluorimètres ne permet pas de suivre la MOD de type H2 identifiées aux émergences d'aquifères karstiques. Cependant, dans le cas de la source du Lez, nous avons montré que la MOD de type H2 est corrélée linéairement avec la MOD de type H1 (cf. Fig. n°15). **A la source du Lez, la mesure en continu de H1 donne par interpolation la mesure en continu de H2.**

IV.1.3. Période des mesures en continu de fluorescence à la source du Lez

Le suivi de la fluorescence naturelle du Lez est effectué depuis Avril 2010. Durant cette période, 6 fluorimètres différents de type GGUN se sont succédés :

- deux fluorimètres équipés de deux optiques, une optique Fluoresceine et une optique Rhodamine (numéros de série : #07 #14),
- trois fluorimètres équipés de quatre optiques : optique Fluoresceine, Rhodamine, Naphtionate et Turbidité (numéros de série #298 #299 et #620)
- un fluorimètre quatre optiques dont l'optique Rhodamine est remplacée par l'optique Protéique (#918).

Le suivi de fluorescence à la Fontaine de Nîmes est effectué depuis Juin 2012 avec un fluorimètre à 4 optiques avec optique fluoresceine, rhodamine, naphtionate et turbidité.

Tableau 9 : Périodes de mesures des différents fluorimètres de terrain à la source du Lez.

GGUN deux optiques	#07	De 04/2010 à 06/2010
	#14	05/2010
GGUN quatre optiques	#298	06/2010 puis de 10/2010 à 01/2011
	#299	10/2010 puis de 02/2011 à 03/2013
	#620	de 07/2012 à 11/2012 puis de 12/2013 à 02/2014
GGUN 4 opt. dont opt. Protéique	#918	de 11/2013 à 03/2014 puis de 04/2014 à aujourd'hui

IV.1.4. Elimination des valeurs aberrantes des chroniques de suivi en continu

Durant ce stage, les chroniques de suivi en continu ont été dépouillées à l'aide d'un tableur. Les données de toutes les optiques de tous les fluorimètre ont été traitées. Nous travaillons sur les mesures en continu de la MOD. Ce type de mesure ne fait pour le moment l'objet d'aucune calibration. Nous avons travaillé sur les données brutes fournies par le fluorimètre (en mV). Sur les données brutes de mesure en continu, nous obtenons par moment des valeurs très importantes, engendrant une discontinuité sur la mesure en continu et ceci de manière ponctuelle. Ceci peut s'expliquer de différentes façon, une défaillance lors de la mesure, un reflet lumineux ou une mesure hors eau. Les mesures hors eau sont fréquentes à la source du Lez, le GGUN étant placé dans un bassin aménagé alimenté par le débit réservé de la source du Lez, ce bassin est vidangé régulièrement. Toutes les valeurs aberrantes ponctuelles ont été éliminées de nos chroniques de mesure en continu.

IV.2. Suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD humique

IV.2.1. Etat de l'art concernant le suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD humique à l'aide des fluorimètres de terrain

Afin d'améliorer les connaissances sur les flux de MOD au sein des aquifères karstiques et affiner leur utilisation en tant que traceur des écoulements, des suivis en continu de la fluorescence naturelle au niveau d'exutoires karstiques ont été réalisés en parallèle d'analyses de fluorescence 3D réalisées en laboratoire suite à des échantillonnages réalisés à pas de temps régulier. [Blondel et al. \(2012\)](#) ont notamment utilisé un fluorimètre de type GGUN, avec une optique dédiée à l'observation de la fluorescence de la MOD humique (λ_{Ex} : 350nm et λ_{Em} : 427nm). Une bonne corrélation est observée entre les mesures réalisées en laboratoire et les mesures réalisées sur le terrain. Cependant, cette corrélation n'a pas été quantifiée au cours de cette étude. [Tissier et al. \(2011\)](#) ont adapté ce même type de fluorimètre pour détecter les matières organiques fluorescentes de type humique suivant le couple (λ_{Ex} : 310nm et λ_{Em} : 400-700nm). La comparaison entre les mesures en continu par le fluorimètre de terrain et les analyses de spectrofluorimétrie 3D au laboratoire a permis de mettre en évidence la bonne corrélation entre ces deux mesures pour la MOD de type humique. **Le coefficient de corrélation de 0,91 pour 44 échantillons a confirmé la possibilité de suivre par ce dispositif adapté, les MOD humiques. La mesure de la fluorescence en continu de la MOD humique est également possible par deux optiques du fluorimètre de terrain adaptées au suivi de traceurs artificiels : l'optique dédiée à la mesure du naphthionate de sodium et l'optique dédiée à la mesure de la fluoresceine ([Durepaire, 2013](#)).**

IV.2.2. Suivi en continu de la MOD Humique par les optiques Naphtionate et Fluoresceine du GGUN

a) Cas de la source du Lez

Une nouvelle comparaison entre ces deux différents types de mesures, in situ et laboratoire, de fluorescence naturelle a été faite durant le stage. Différentes séries de GGUN ayant été déployées à la source du Lez, il convient de faire cette comparaison indépendamment pour chaque fluorimètre. Nous avons calculé une moyenne journalière des mesures de chaque optique du GGUN pour les confronter aux données de fluorescence en laboratoire. Le choix de la moyenne journalière s'explique par le fait que l'on ne connaît pas l'heure exacte des prélèvements, que la fluorescence naturelle est suffisamment stable dans la vasque sur 24h et pour amortir le bruit de fond de l'appareil de l'ordre de 0,05mV. Ces moyennes ont été calculées pour chaque journée où un échantillon a été prélevé à la source du Lez et analysé au spectrofluorimètre 3D de laboratoire. Les moyennes journalières des optiques fluoresceine et naphthionate ont été comparées aux mesures de fluorescence obtenues le jour même pour la MOD de type H1 et H2.

Le fluorimètre de terrain #298 est celui qui compte le plus de mesures en commun avec les analyses en laboratoire. La comparaison de ces résultats montre la possibilité du suivi de la MOD humique (H1 et H2) avec les optiques Fluoresceine et Naphtionate. Il existe une bonne corrélation linéaire entre les mesures réalisées in situ au GGUN et les mesures réalisées au spectrofluorimètre 3D en laboratoire. Avec un coefficient de détermination (R^2) de 0,868 pour 52 échantillons, l'optique Naphtionate semble être la plus apte à la mesure du pic H1 (Fig. n°19), ce qui s'explique par sa fenêtre de mesure qui recoupe le pic de fluorescence de la MOD de type H1. Avec un coefficient de détermination (R^2) de 0,801 pour 52 échantillons (H1) et 0,838 pour 49 échantillons (H2). L'optique Fluoresceine permet elle aussi d'assurer le suivi de la MOD humique, avec une moins bonne

précision que l'optique Naphtionate. Les résultats de ces comparaisons pour les différents fluorimètres qui ont équipé le Lez se résume dans le tableau n°9. Pour les autres fluorimètres (#299, #620 et #918), le résultat du R² n'est pas vraiment significatif compte tenu du peu d'échantillons qui ont pu être comparés. Cependant, ceci nous donne une idée de la bonne relation linéaire qui lie ces deux types de mesures.

Figure 20 : Signal mesuré dans l'optique Naphtionate en fonction de l'intensité de fluorescence du pic H1. Résultats obtenus sur le fluorimètre GGUN #298 à la source du Lez du 14/02/2011 au 19/03/2013 pour 52 points de mesure.

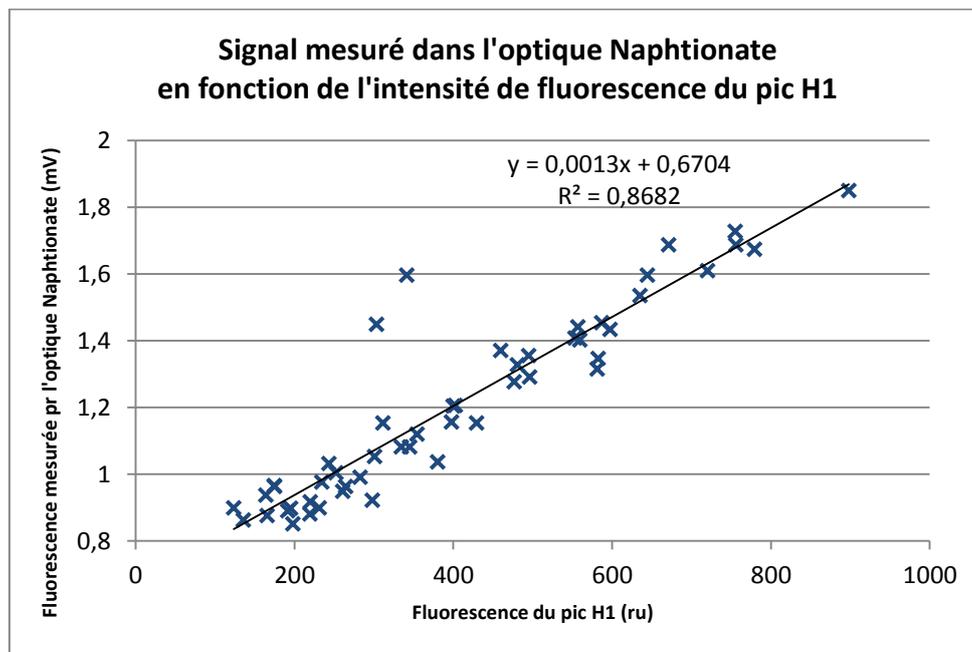


Tableau 10 : Coefficient de détermination de la linéarité entre les mesures en continu dans les optiques Naphtionate et Fluoresceine et les deux composés de la MOD Humique (H1) et (H2).

			Coefficient de détermination (R ²)	
			H1	H2
N° de série du GGUN	#298	Opt. Fluoresceine	0,801 (52 échantillons)	0,838 (49 échantillons)
		Opt. Naphtionate	0,868 (52 échantillons)	0,85 (49 échantillons)
	#299	Opt. Fluoresceine	0,889 (8 échantillons)	0,847 (8 échantillons)
		Opt. Naphtionate	0,892 (8 échantillons)	0,75 (8 échantillons)
	#620	Opt. Fluoresceine	0,815 (10 échantillons)	0,95 (10 échantillons)
		Opt. Naphtionate	0,913 (10 échantillons)	0,637 (10 échantillons)
	#918	Opt. Fluoresceine	0,911 (12 échantillons)	0,856 (12 échantillons)
		Opt. Naphtionate	0,921 (12 échantillons)	0,925 (12 échantillons)

L'optique Naphtionate est l'optique qui permet de suivre au mieux la fluorescence de la MOD de type humique-like 1 (H1). L'optique Fluoresceine, un peu moins précise que la précédente pour ce type de mesure permet également un bon suivi de la MOD de type H1. La proportion en MOD de type H1 et de type H2 étant liée linéairement, nous pouvons suivre les variations de l'ensemble de la MOD humique à la source du Lez avec ce type d'appareil.

b) Cas de la Fontaine de Nîmes.

Aucun suivi de la MOD par spectrofluorimétrie à la Fontaine de Nîmes ne permet de comparer la fluorescence naturelle mesurée dans son optique Naphtionate avec la fluorescence de la MOD humique. Cependant, les caractéristiques de la MOD humique fluorescente à la résurgence de la Fontaine sont les mêmes qu'à la source du Lez. Ainsi l'optique Naphtionate qui équipe le fluorimètre est en mesure de suivre les variations naturelles de la MOD humique à la Fontaine de Nîmes.

IV.3. Suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD Protéique

IV.3.1. Etat de l'art concernant le suivi en continu de la fluorescence naturelle de la MOD protéique à l'aide des fluorimètres de terrain

Tissier et al. (2011) ont adapté un fluorimètre de type GGUN-FL30, pour détecter les matières organiques fluorescentes de type protéique suivant le couple (λ_{Ex} : 250nm et λ_{Em} : 400-700nm). Cependant, la comparaison entre les mesures du suivi en continu par le fluorimètre de terrain et les analyses du spectrofluorimétrie 3D au laboratoire n'ont pas permis une distinction propre des matières organiques naturelles fluorescentes de type protéique. En effet, la MOD protéique identifiée aux sources karstiques ayant une émission fluorescente entre 300 et 390nm, la bande de mesure d'émission, supérieure à 400nm, du fluorimètre de terrain n'était pas adaptée pour la caractérisation de ce type de matière organique. ($R^2=0,003$, $N=44$).

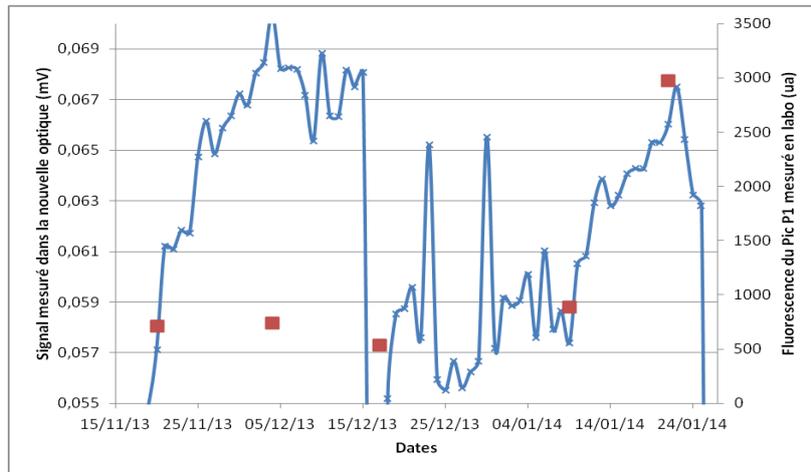
IV.3.2. Premier test de suivi en continu de l'optique protéique à la source du Lez

La nouvelle sonde GGUN a été installée pour un suivi en continu de la fluorescence naturelle de la source du Lez sur la période du 15/11/2013 au 25/03/2014. Le signal de fluorescence mesuré durant cette période dans l'optique Protéique (λ_{Ex} : 245 nm et λ_{Em} : 300-400 nm) est quasiment nul. Le signal varie entre des valeurs allant de 0 à 0,1 mV.

IV.3.2.1. Comparaison suivi bimensuel en laboratoire (spectrofluorimétrie 3D) et chronique en continu du GGUN

La moyenne journalière des variations du signal dans la nouvelle optique varient entre des valeurs de 0,05 à 0,07 mV. Ces variations sont égales au bruit de fond de l'appareil qui est de quelques centièmes de mV. Ces moyennes nous indiquent que les résultats obtenues ne sont pas significatifs des variations de la MOD protéique que l'on souhaite observer (Fig. n°20).

Figure 21 : Comparaison entre la moyenne journalière des signaux mesurée dans la nouvelle optique du fluorimètre (en bleu) et les mesures de fluorescence de la matière organique protéique effectuées en laboratoire (en rouge).

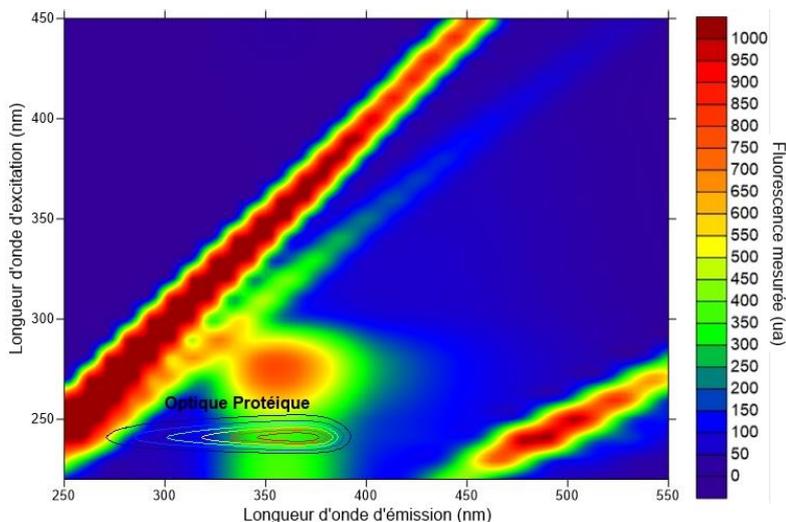


Le fort pic d'intensité observé en janvier 2014 après analyse par spectrofluorimétrie 3D en laboratoire ne se retrouve pas sur la chronique du GGUN. La nouvelle optique ne nous permet pas de suivre les variations de MOD protéique tel qu'on l'espérait. Une calibration de l'appareil avec un composé fluorescent proche de la MOD protéique observée à la source du Lez nous permettrait de comprendre ce dysfonctionnement.

IV.3.2.2. Calibration de l'optique Protéique dédiée au suivi de la MOD protéique

Nous avons effectué une calibration de la nouvelle optique du GGUN avec différentes solutions étalons de L-Tryptophane de concentrations croissantes : 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10mg/L. Le Tryptophane est un acide aminé fluorescent, de type protéique aromatique. Ses pics de fluorescence situés respectivement pour les couples d'excitation-émission (pic principal : $\lambda_{ex}=280\text{nm}$; $\lambda_{em}=350\text{nm}$ et pic secondaire : $\lambda_{ex}=220\text{nm}$; $\lambda_{em}=350\text{nm}$) en font un bon composé pour la calibration de l'optique protéique (Fig. n°21).

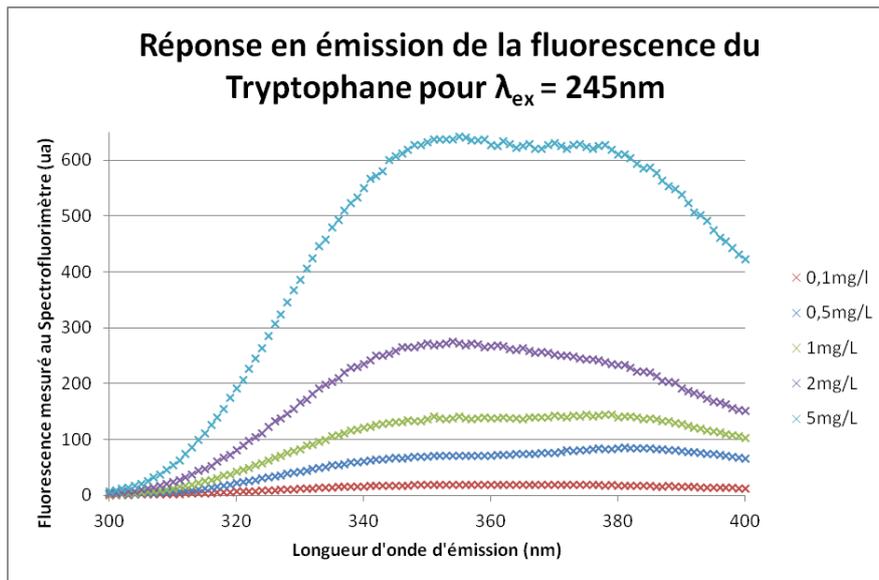
Figure 22 : Matrice MEE du L-Tryptophane (0,36mg/L) avec positionnement de la fenêtre de mesures de l'optique Protéique du GGUN.



1^{ère} étape : Analyse des solutions étalon avec le spectrofluorimètre de laboratoire

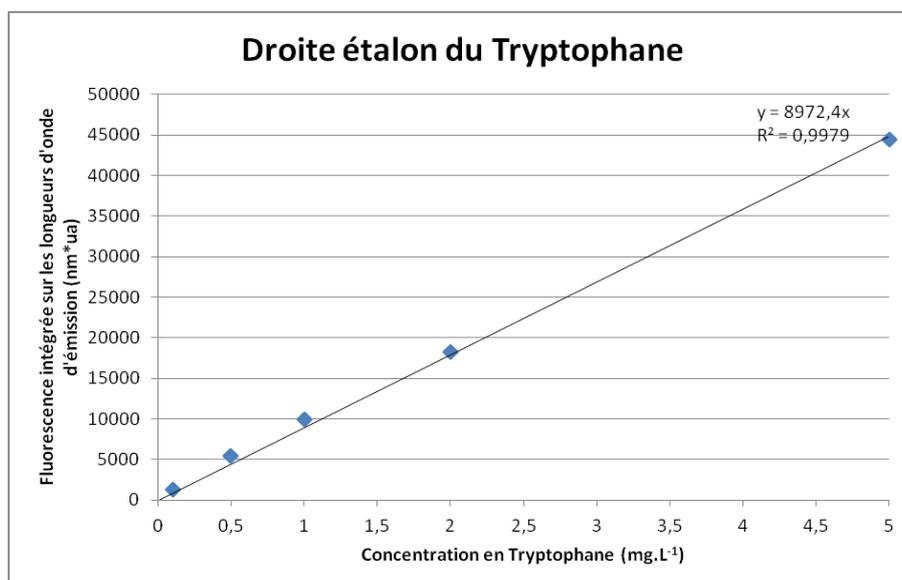
Nous avons analysé les différentes solutions étalons de L-Tryptophane par spectrofluorimétrie 2D au laboratoire, pour une excitation à 245nm avec une fente spectrale à 10nm pour une réponse en émission allant de 300nm à 400nm (configurations d'excitation-émission correspondant aux caractéristiques de la nouvelle optique). La mesure de fluorescence pour la solution de Tryptophane à 10mg.L⁻¹ n'a pas pu être effectuée en raison de la saturation en fluorescence de l'appareil pour cette concentration.

Figure 23 : Réponse en émission de 300nm à 400nm de la fluorescence du L-Tryptophane pour la longueur d'onde d'excitation 245nm.



Une droite de calibration a ainsi pu être définie en mesurant l'aire sous les courbes ci-dessus (méthode des trapèzes) en fonction de la concentration en tryptophane, pour le spectrofluorimètre 3D de laboratoire.

Figure 24 : Droite d'étalonnages du L-Tryptophane obtenu au spectrofluorimètre.



2nd étape : Analyse des solutions étalon avec le GGUN

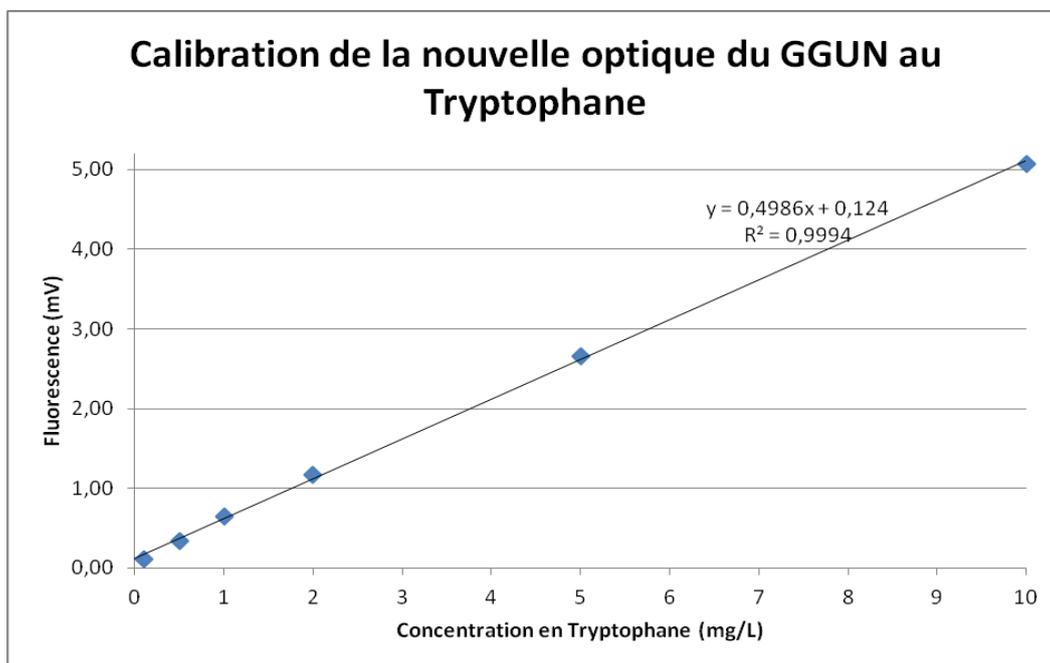
Les résultats suivants sont la moyenne de plus ou moins 5 points de mesures par le fluorimètre GGUN (Tab. n°10). La mesure de la concentration à 0,1mg.L⁻¹ a malheureusement été un peu gênée par une optique un peu sale (forte turbidité).

Tableau 11 : Résultats de calibration de l'optique protéique au fluorimètre de terrain GGUN pour les différentes solutions étalons préparées.

L-TRYPTOPHANE (valeurs en mV)					
C (mg/l)	Tracer 1	Tracer 2	Tracer 3	Turbidity	Baseline
0,1	0,38	3,07	0,12	82,80	13,79
0,5	0,35	1,77	0,35	46,11	13,79
1	0,35	1,71	0,65	45,46	13,78
2	0,42	1,65	1,17	40,08	13,78
5	0,60	1,69	2,66	42,14	13,78
10	0,60	1,63	5,08	40,15	13,79

Ce qui donne le graphique de calibrations suivant (Fig. n°24) pour le fluorimètre de terrain GGUN dans l'optique protéique :

Figure 25 : Droite de calibration de l'optique protéique du GGUN pour les différentes solutions étalons de L-Tryptophane préparées.

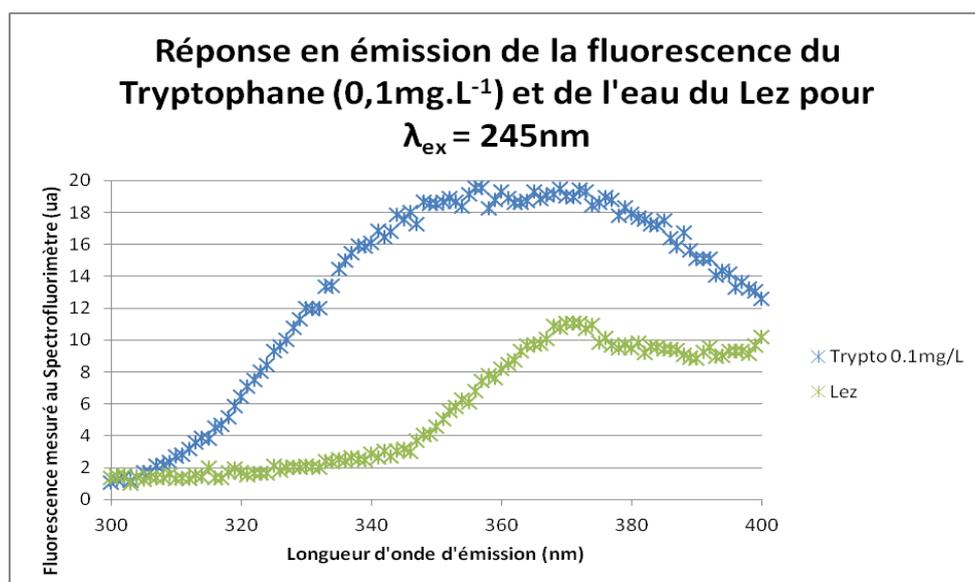


La solution de tryptophane à 0,1mg.L⁻¹ avec une mesure à 0,1 mV arrive tout juste à la limite de détection de la nouvelle optique du fluorimètre. Les variations de signal sont relativement faibles : 5mV seulement pour la concentration à 10mg.L⁻¹. Nous arrivons tout de même à obtenir une droite de calibration qui montre bien que la mesure du tryptophane est possible avec les caractéristiques spectrales de cette optique.

3^{ème} étape : Comparaison des signaux de fluorescence mesurés par le GGUN et analysés en laboratoire

Nous avons également comparé ce que donne le signal de fluorescence de l'eau du Lez avec une concentration « moyenne » en matière protéique de type P1 (pic P1 = 451ua) avec nos solutions de tryptophane. Nous l'avons fait comme précédemment pour les solutions de tryptophane, avec une analyse par spectrofluorimétrie 2D, une excitation à 245nm, une fente spectrale de 10nm pour une réponse en émission allant de 300nm à 400nm.

Figure 26 : Réponse en émission de la fluorescence du L-Tryptophane à 0,1mg/L et de l'eau du Lez du 12/03/2014 pour la longueur d'onde d'excitation 245nm ($\lambda_{ex}=245nm$) par spectrofluorimétrie 2D.



La solution à 0,1 mg/l présente une fluorescence supérieure à celle de l'échantillon du Lez, dont l'intensité correspond à une concentration moyenne en MOD protéique pour cette source karstique. **Ainsi, le suivi par le spectrofluorimètre 3D permet de suivre des concentrations faibles, non détectables par le GGUN. La nouvelle optique du GGUN manque de puissance pour pouvoir détecter les variations de matière organique protéique présentes à la source du Lez.**

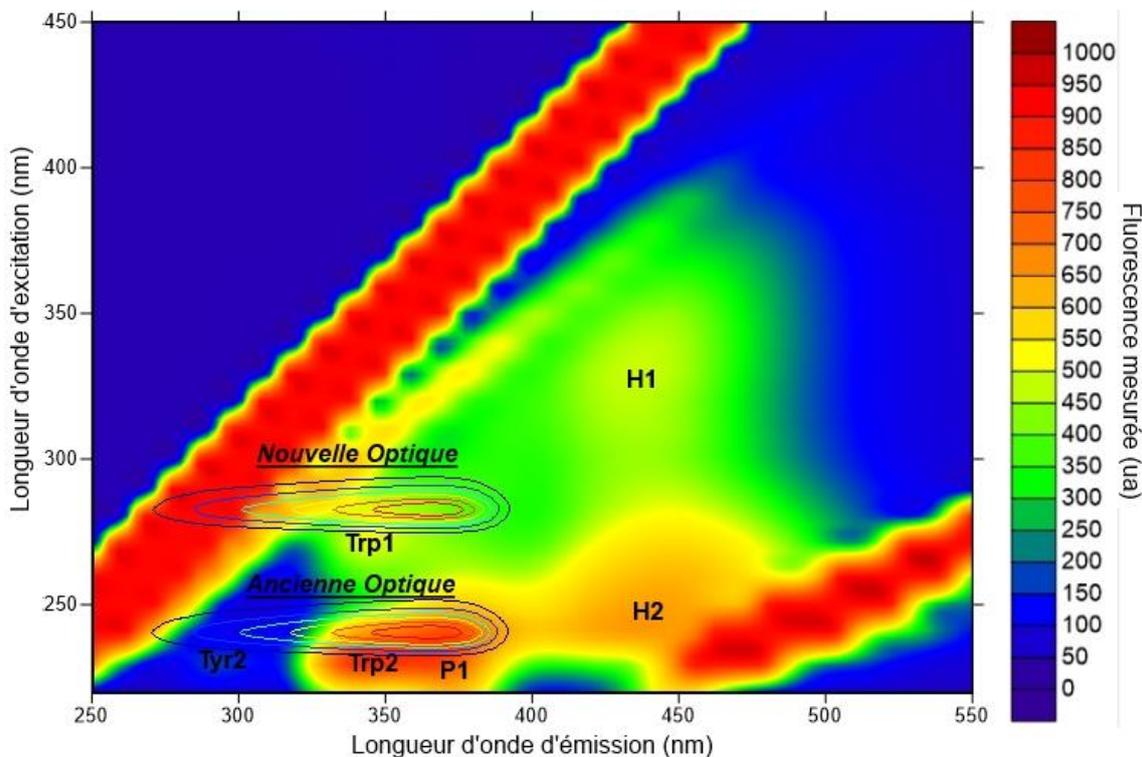
IV.3.3. Une nouvelle LED plus puissante pour la mesure en continu de la MOD protéique

IV.3.3.1. Caractéristiques de la nouvelle LED

La LED à 245nm n'étant pas assez puissante pour permettre le suivi de la MOD protéique, cette lampe a été remplacée par une LED à 280nm, plus puissante, mais moins bien adaptée au suivi de la MOD de type P1 (figure n°25). En revanche cette optique est bien adaptée à la mesure de la MOD de type Trp1 que l'on retrouve ponctuellement à la source du Lez. La fenêtre de mesure de cette optique recoupe la droite de diffusion de Tyndall, ce qui va engendrer une mesure des variations de turbidité sur cette optique. Cette LED est la meilleure option qui nous a été proposée par le constructeur dans le cadre du suivi de la MOD protéique.

Sur cette optique, le canal de détection reste le même : la même photodiode et un filtre ne laissant passer que l'émission fluorescente comprise entre 300 et 400nm.

Figure 27 : Fenêtres de mesure de l'ancienne optique protéique et de la nouvelle optique protéique sur la matrice MEE du Lez du 15/05/2013.



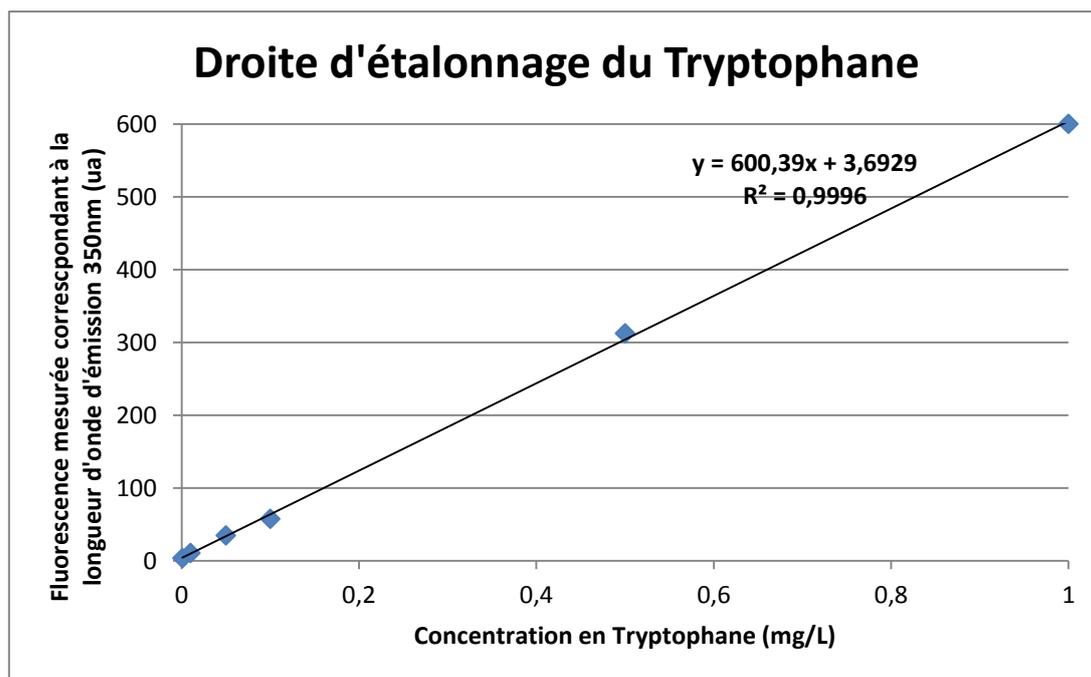
IV.3.3.2. Calibration de la nouvelle optique protéique

Après réception de la nouvelle optique avec LED à 280nm, une calibration au Tryptophane a été réalisée sur celle-ci, afin de tester la puissance de cette nouvelle optique d'une part et de permettre un suivi en L-Tryptophane équivalent (mol.L^{-1} LtrpU) dans cette nouvelle optique, le L-Tryptophane représentant un bon étalon pour une telle optique de par ses propriétés de fluorescence (cf partie IV.3.2.2.). Pour rappel ses pics de fluorescence sont situés respectivement pour les couples d'excitation émission (pic principal : $\lambda_{\text{ex}}=280\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=350\text{nm}$ et pic secondaire : $\lambda_{\text{ex}}=220\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=350\text{nm}$). Nous avons effectué cette calibration avec différentes solutions étalons de L-Tryptophane de concentrations suivantes : 0,01, 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 5 et 10mg/L.

1^{ère} étape : Analyse des solutions étalon avec le spectrofluorimètre de laboratoire

De la même manière que pour la calibration précédente, nous avons analysé ces différentes solutions étalons de L-Tryptophane par spectrofluorimétrie 2D au laboratoire. Pour une excitation cette fois ci de 280nm avec une fente spectrale à 10nm pour une réponse en émission allant de 300nm à 400nm (configurations d'excitation/émission correspondant aux caractéristiques de la nouvelle optique). Ce qui nous donne la droite de calibration suivante (Fig. n°26). La mesure de fluorescence pour la solution de Tryptophane à 10mg/L n'a pas pu être effectuée en raison de la saturation en fluorescence de l'appareil pour cette concentration.

Figure 28 : Nouvelle droite d'étalonnage du L-Tryptophane obtenu au spectrofluorimètre.



Cette droite de calibration confirme la bonne préparation de nos solutions étalons.

2nd étape : Analyse des solutions étalon avec le GGUN-FL30

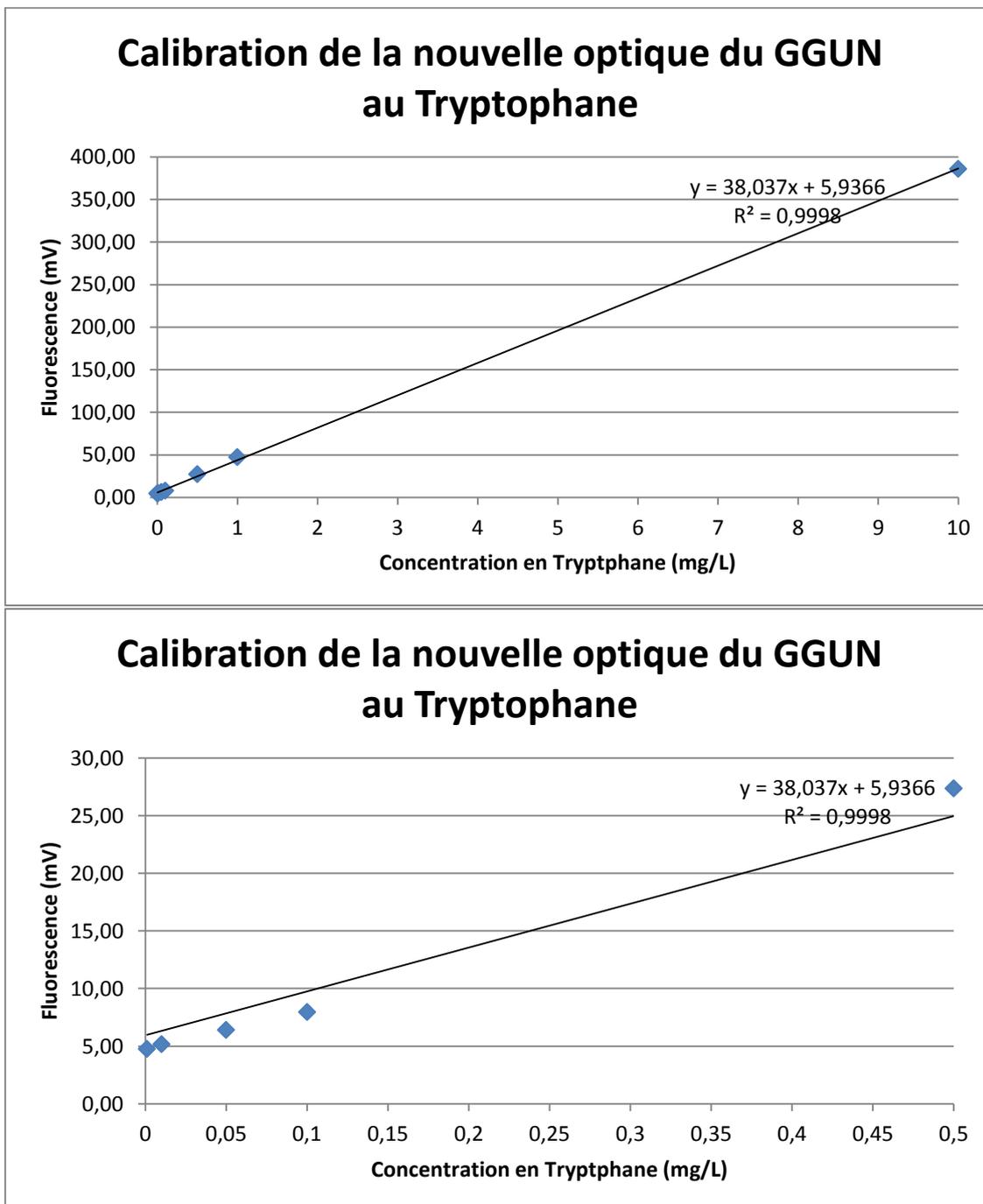
Les résultats suivants sont la moyenne de plus ou moins 5 points de mesures par le fluorimètre GGUN (Tab. n°11). La mesure de la concentration à 0,01mg.L⁻¹ dans les optiques Naphtionate et Fluoresceine (surligné en jaune) est anormalement importante ce qui n'a pas pu être expliqué.

Tableau 12 : Résultats de calibration de la nouvelle optique protéique par le fluorimètre de terrain GGUN pour les différentes solutions étalons préparées.

L-TRYPTOPHANE				
C (mg.L ⁻¹)	Opt. Naphtionate	Opt. Fluoresceine	Nouvelle Optique Protéique	Turbidity
0,001	0,37	1,36	4,76	45,13
0,01	0,68	4,55	5,17	47,84
0,05	0,41	2,56	6,41	49,29
0,1	0,39	2,56	7,97	46,88
0,5	0,30	1,42	27,36	45,60
1	0,39	2,18	47,58	47,22
10	0,68	1,81	385,85	52,48

Ce qui donne les droites de calibration suivantes pour le fluorimètre de terrain dans la nouvelle optique (Fig. n°29) :

Figure 29 : Droite de calibration de la nouvelle optique protéique du GGUN pour les différentes solutions étalons de L-Tryptophane préparées.

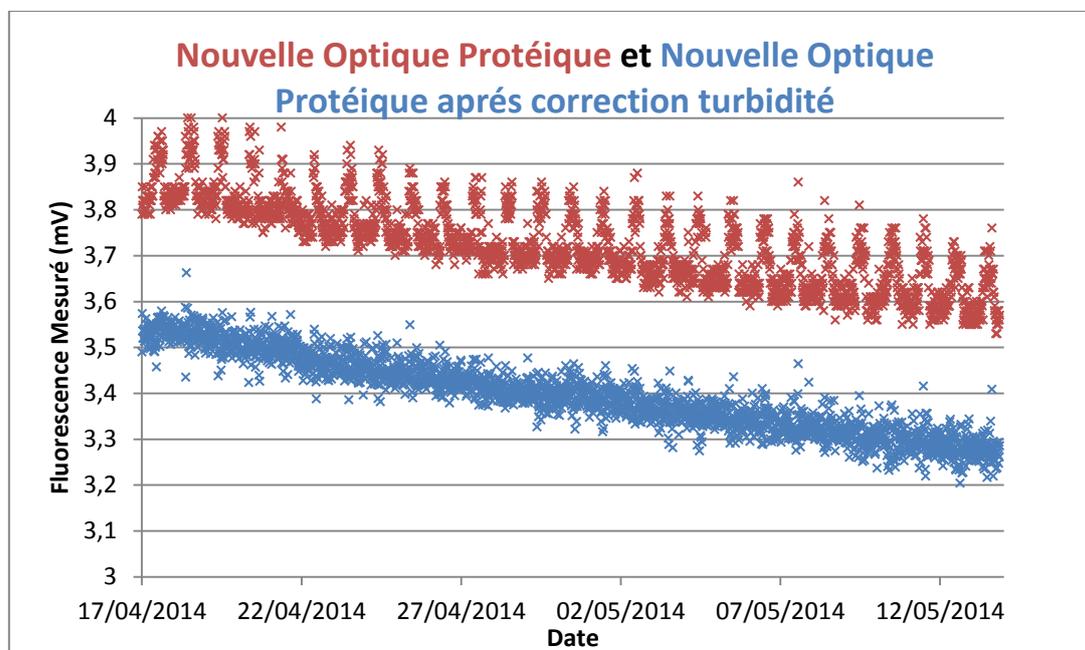


En comparaison avec la calibration de l'ancienne LED à 245nm, cette nouvelle optique apparait comme délivrant une intensité lumineuse plus de 50 fois plus supérieure que l'ancienne LED.

IV.3.3.3. Premier suivi de la fluorescence naturelle dans la nouvelle optique.

Voici les premiers résultats obtenus dans la nouvelle optique à la source du Lez sur une période de 28 jours (Fig. n°28) :

Figure 30 : Résultat brut obtenu par la nouvelle optique protéique (rouge) et après correction de la turbidité (bleu) à la source du Lez du 17/04/2014 au 16/05/2014.



Les variations journalières que l'on observe sur les résultats bruts (rouge) sont dues aux variations du débit pompé à la source du Lez. Une nouvelle pompe est activée de nuit pour un débit de pompage plus important. L'activation de la nouvelle pompe a pour effet de mobiliser de la matière en suspension à la source du Lez impliquant une augmentation de la turbidité. **Ces variations nous indiquent bien que la nouvelle optique protéique mesure en partie la turbidité de l'eau.**

Nous nous attendions à ce que la nouvelle optique Protéique mesure la turbidité. En effet, la fenêtre de mesure de la nouvelle optique Protéique recoupe la droite de diffusion de Tyndall (Fig. n°25).

Une correction (bleu) peut être apportée en retranchant à la mesure de l'optique une partie de la mesure de l'optique turbidité.

$$\text{Opt. Protéique après correction turbidité} = \text{Opt. Protéique} - 0,0056 * \text{Opt. Turbidité}.$$

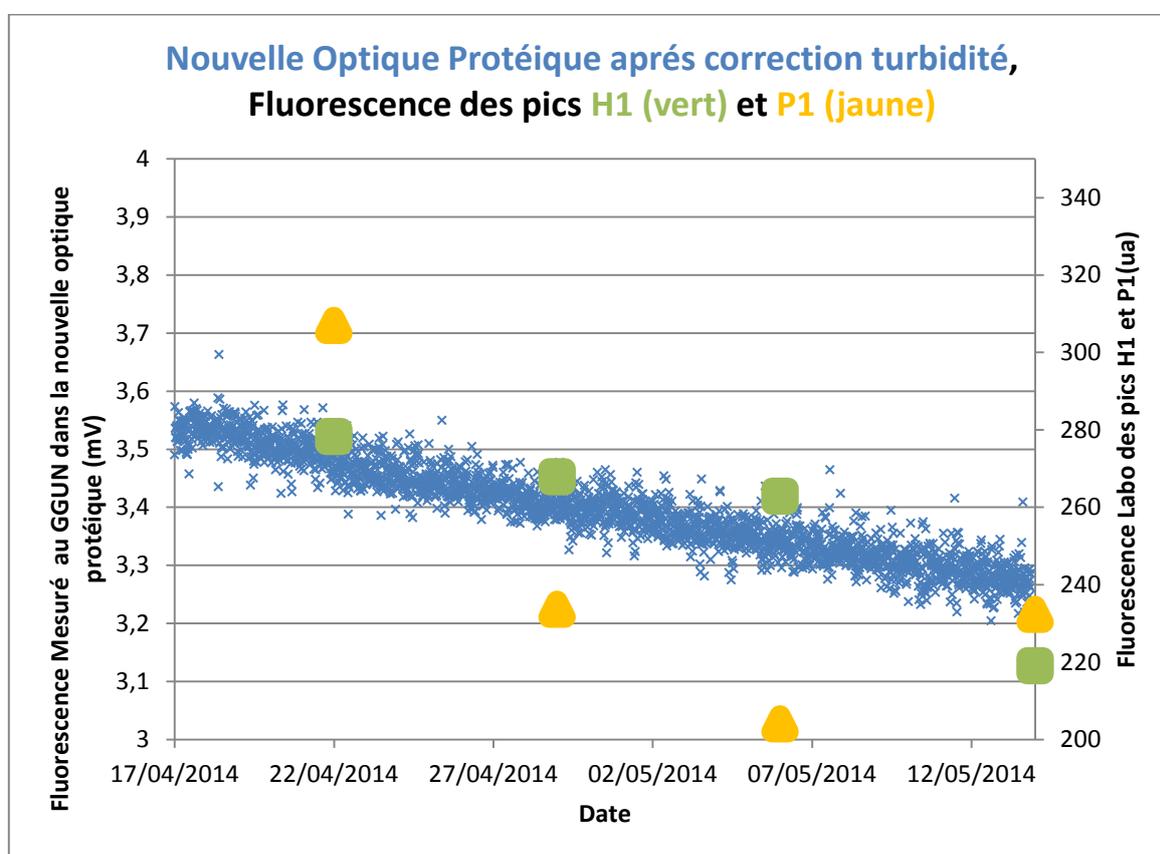
Le coefficient **0,0056** a été ajusté pour minimiser les fluctuations imputables à l'évolution de la turbidité.

Sur cette période, seulement 4 échantillons ont été prélevés à la source du Lez et analysés par spectrofluorimétrie 3D (Tab. n°12).

Tableau 13 : Fluorescence mesurée par spectrofluorimétrie 3D (en ua) de la MOD de type H1, H2 et P1 à la source du Lez durant la période de suivi en continu de la nouvelle optique protéique.

	Fluorescence du pic (ua)		
	H1	H2	P1
22/04/2014	278	430	307
29/04/2014	268	417	234
06/05/2014	263	379	204
14/05/2014	219	324	232

Figure 31 : Graphique d'évolution de la fluorescence (en ua) de la MOD de type H1 (vert) et P1 (jaune) et de la nouvelle optique protéique après correction de la turbidité (bleu) à la source du Lez du 17/04/2014 au 16/05/2014.



Entre le 17/04/2014 et le 07/05/2014 la diminution de la fluorescence des pics H1 et P1 est constante, tout comme la diminution du signal dans la nouvelle optique protéique. Entre le 07/05/2014 et le 14/05/2014, nous avons une diminution plus marquée du pic H1 et une augmentation du pic P1, tandis que la diminution du signal dans la nouvelle optique protéique reste constante. Nous ne pouvons pas interpréter ces résultats, néanmoins la nouvelle optique protéique semble à la fois influencée par la fluorescence des pics humiques et du pic P1. Durant cette période, nous n'avons pas de fluorescence significative des différents pics protéiques Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2.

De plus durant cette période, les variations de fluorescence des pics H1 et P1 sont relativement faibles. En effet, le pic P1 varie entre des valeurs de 200 à 300ua alors que la fluorescence de ce pic peut atteindre des milliers d'ua en période de crue (Tab. n°8). De même, le pic H1 varie entre des valeurs de 300 à 200ua alors que la fluorescence de ce pic atteint le millier en période de crue et peut descendre jusqu'à 100ua en étiage. Il serait intéressant de confronter la nouvelle optique protéique à des variations naturelles des pics Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2, d'attendre des variations plus marquées des différents pics, H1, H2 et P1, avant de pouvoir interpréter ce que mesure réellement cette nouvelle optique Protéique. Un suivi de la fluorescence au spectrofluorimètre 3D en laboratoire avec un suivi par cette nouvelle optique en période de crue devrait apporter des éléments de réponse. **Un suivi de la fluorescence sur plusieurs mois intégrant des variations marquées des différents composés de la MOD à la source du Lez permettrait de comprendre la dynamique du signal mesuré par cette nouvelle optique Protéique.**

La possibilité d'un suivi en continu de la MOD protéique par cette optique reste en attente de confirmation.

L'optique Naphtionate et l'optique Fluoresceine du fluorimètre de terrain GGUN permettent un suivi de qualité de la MOD humique à la source du Lez.

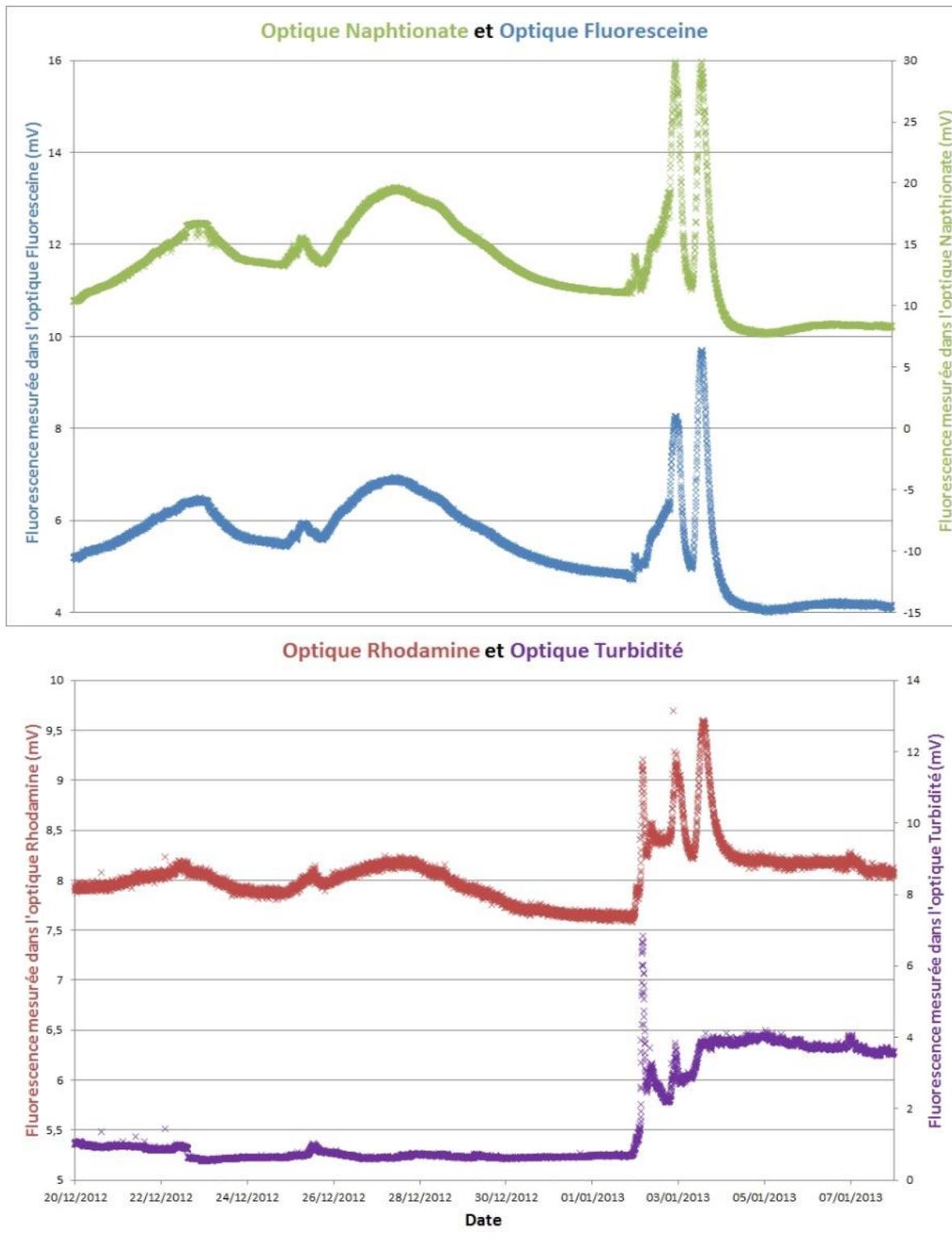
L'optique Protéique avec une LED à 245nm n'est pas assez puissante pour mesurer la fluorescence naturelle de la MOD protéique. Son remplacement par une LED à 280nm a permis d'amplifier l'intensité lumineuse de cette optique. La LED à 280nm est cependant moins bien adaptée au suivi de la MOD protéique. Cette optique apparait maintenant comme étant sensible à la turbidité. Cette nouvelle optique Protéique doit être confrontée in situ à des variations marquées des différents composés de la MOD afin de quantifier l'influence de chacun de ces composés sur ce qu'elle mesure.

IV.4. Optimisation de l'utilisation du GGUN

IV.4.1. Mesure des variations naturelles du signal dans les différentes optiques du GGUN

En condition naturelle, le signal mesuré par les différentes optiques du fluorimètre est influencée par la fluorescence naturelle de la MOD et par la turbidité (Fig. n°30). L'influence de ces différents facteurs est plus ou moins importante. Cette influence dépend des fenêtres de mesure propres à chaque optique (Fig. n°17 et n°18). En configuration standard, le GGUN est équipé de quatre optiques : Optique Fluoresceine, Rhodamine, Naphtionate et Turbidité. Sur ces quatre optiques, on distingue deux optiques particulières. L'optique Naphtionate et l'optique Turbidité. L'optique Naphtionate est l'optique qui mesure au mieux les variations de la fluorescence naturelle de la MOD humique. Sur ces quatre optiques, l'optique Naphtionate représente alors le « pôle » MOD humique. L'optique Turbidité quant à elle représente naturellement le « pôle » turbidité. L'optique Fluoresceine mesure principalement les variations de la MOD humique, elle est également légèrement influencée par la turbidité. L'optique Rhodamine est influencée par les variations de turbidité et par les variations de fluorescence de la MOD humique.

Figure 32 : Variations naturelles de signaux mesurés dans les quatre optiques du fluorimètre GGUN (Optique Naphtionate (vert), Fluoresceine (bleu), Rhodamine (rouge) et Turbidité (violet)) observées à la Fontaine de Nîmes du 20/12/2012 au 09/01/2013.



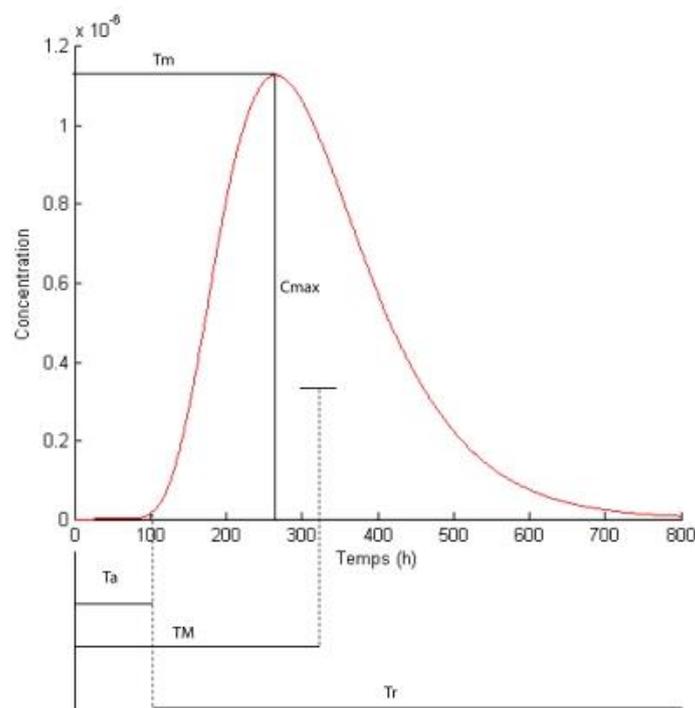
IV.4.2. Elimination du bruit de fond dû aux variations de matière organique dans le cadre de suivi en continu de traçages artificiels

Lors du suivi de la restitution d'un traceur par un fluorimètre de terrain dans le cadre d'un traçage artificiel, la variation des paramètres naturels que sont la turbidité et la fluorescence naturelle génère un bruit de fond sur la courbe de restitution. Une réduction de ce bruit de fond est nécessaire pour améliorer la mesure de la restitution d'un traceur et permettre une meilleure interprétation de ces essais par traçage. La compréhension de la dynamique de ces paramètres mesurés par les optiques du GGUN ouvre une perspective novatrice : la correction du bruit de fond lors du suivi en continu de la restitution d'un traceur fluorescent.

IV.4.2.1. Interprétation des traçages artificiels

La courbe de restitution représente la concentration du traceur en fonction du temps à partir duquel le traceur a été injecté (Fig. n°31). Le suivi de la restitution d'un traceur au fluorimètre de terrain fournit directement la courbe de restitution du traceur. L'étude de cette courbe apporte de nombreuses informations sur les caractéristiques de l'aquifère. Elle fournit des nombreuses informations sur le système étudié, notamment sur le temps moyens de séjour du traceur dans l'aquifère qui va définir la vitesse de l'écoulement, sur son taux de restitution propre à la dégradation du traceur et aux pertes dans l'aquifère, sur la dispersion du traceur dans le temps. A partir de la courbe de restitution, il est possible de calculer la courbe cumulée qui indique la quantité totale de traceur restitué en pourcentage, ainsi que la distribution des temps de séjours (D.T.S.). La fonction D.T.S. donne le pourcentage de la masse totale de traceur restituée par unité de temps, en fonction du temps de séjour. La bonne interprétation d'un traçage passe par un bon suivi de la restitution du traceur injecté à l'exutoire surveillé.

Figure 33 : Exemple de courbe de restitution et définition des principaux temps caractéristiques.



IV.4.2.2. Simulation du bruit de fond généré par les optiques du GGUN

Le but de cette partie est de trouver une approche pour simuler le bruit de fond généré par chacune de nos optiques pour le soustraire aux mesures de restitution du traceur. L'approche proposée est de simuler ce bruit de fond par combinaison linéaire de nos deux optiques « pôle » : l'optique Naphtionate pour simuler le bruit de fond généré par la MOD humique et l'optique Turbidité pour simuler le bruit de fond généré par la Turbidité. Ces deux optiques ne mesurant pas la restitution du traceur vont permettre de simuler le bruit de fond durant la restitution. Pour simuler le signal de l'optique Naphtionate, la fenêtre la plus adaptée pour reproduire l'influence de la MOD humique est celle de la fluoresceine (cf. Fig. n°18).

On définit différents modèles suivant le traceur utilisé :

$$\text{Modèle Opt. Rhod} = \alpha_1 * \text{Opt. Naph} + \beta_1 * \text{Opt. Turb} + \gamma_1$$

$$\text{Modèle Opt. Fluo} = \alpha_2 * \text{Opt. Naph} + \beta_2 * \text{Opt. Turb} + \gamma_2$$

$$\text{Modèle Opt. Naph} = \alpha_3 * \text{Opt. Fluo} - \beta_3 * \text{Opt. Turb} + \gamma_3$$

Pour chacun des modèles proposés, les trois coefficients α , β et γ sont les inconnues à déterminer. Les coefficients α et β sont des coefficients positifs. En absence total de fluorescence naturelle et de turbidité (dans de l'eau ultra pure par exemple), chaque optique délivre un signal différent et constant dû aux différents phénomènes de diffusion qui interviennent dans l'eau. C'est le signal de mesure du blanc. Le coefficient γ permet de réajuster les modèles à la mesure du blanc de leurs optiques. Ce coefficient peut être positif comme négatif.

La détermination des coefficients α , β et γ se fait par minimisation de la somme des erreurs quadratiques entre ce que mesure l'optique et le modèle de l'optique sur l'ensemble de la chronique de mesure en dehors de période de traçage artificiel.

On définit l'erreur quadratique 'EQ' comme étant :

$$EQ = (\text{Mesure dans l'optique}(t) - \text{Modele de l'optique}(t))^2$$

On définit la somme des erreurs quadratiques 'ΣEQ' comme étant :

$$\sum EQ = \sum_{t_{init}}^{t_{fin}} (\text{Mesure dans l'optique}(t) - \text{Modele de l'optique}(t))^2$$

Avec :

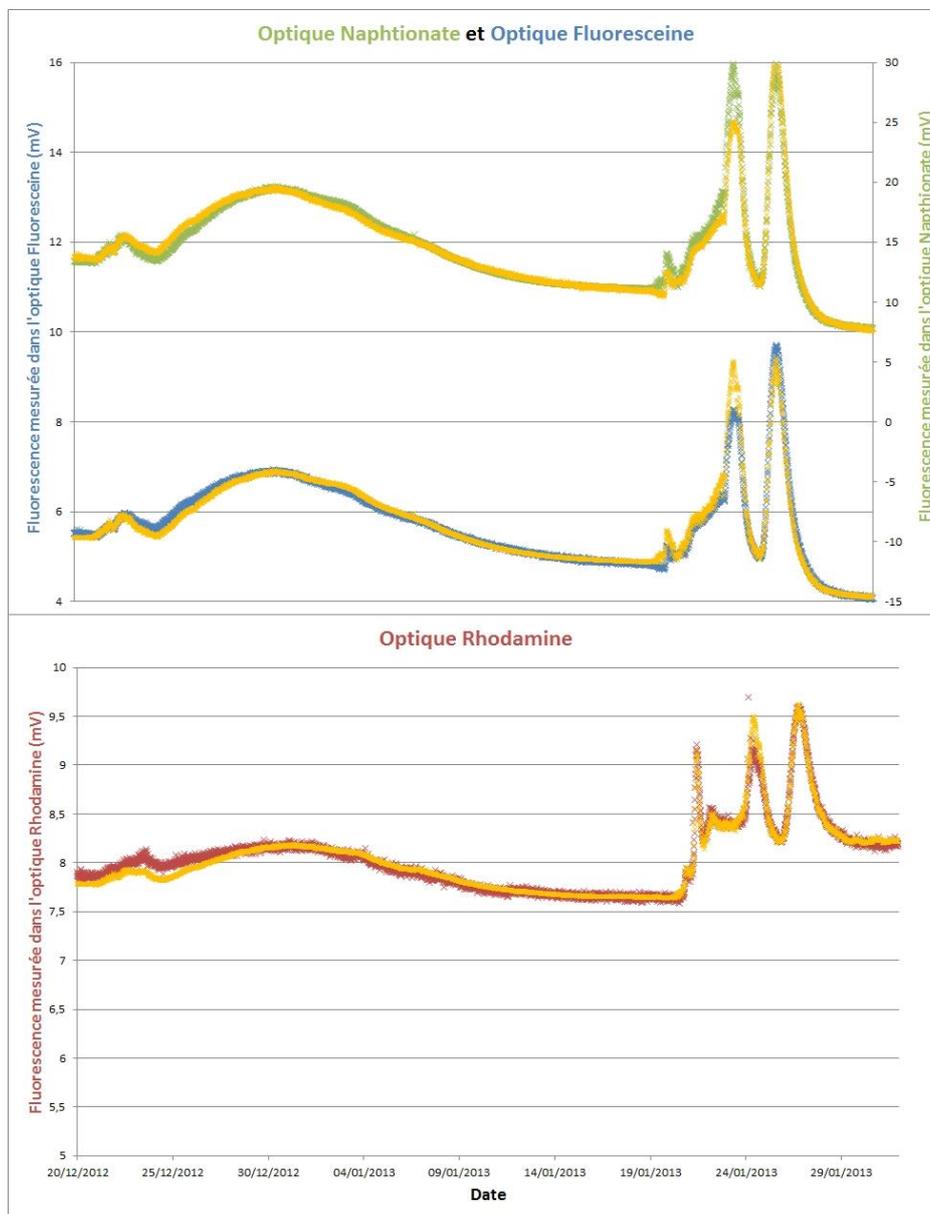
t_{init} = Date du début de la chronique

t_{fin} = Date de la fin de la chronique

Cette minimisation de la somme des erreurs quadratiques se fait par l'utilisation du solveur d'équation du tableur EXCEL® qui détermine les coefficients α , β et γ optimal afin que la somme de l'erreur quadratique 'ΣEQ' soit minimale.

La figure n°32 représente un exemple de variations naturelles mesurées dans les trois optiques du fluorimètre GGUN destiné à la mesure de traceurs fluorescents. Leurs simulations après calage des coefficients α , β et γ pour chacune des optiques sont représentées en jaune. Ces variations ont été observées à la Fontaine de Nîmes du 20/12/2012 au 09/01/2012. Il y a eu d'importantes variations de MOD et de turbidité durant cette période.

Figure 34 : Variations naturelles de signaux mesurés dans les trois optiques du fluorimètre GGUN mesurant l'arrivée d'un traceur fluorescent et simulation de ces variations (jaune) observées à la Fontaine de Nîmes du 20/12/2012 au 29/01/2013.

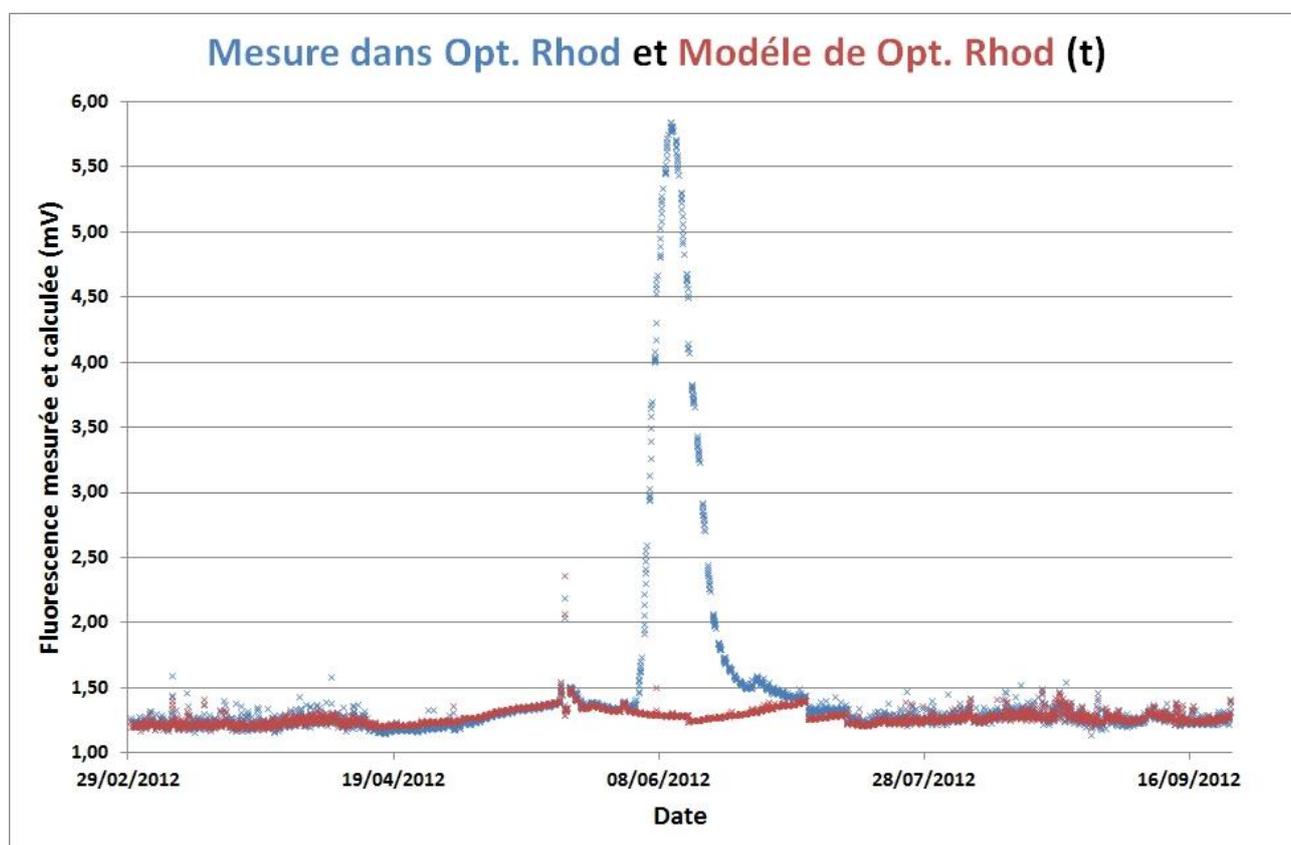


L'intensité des pics peut ne pas être reproduite avec exactitude, comme on le voit par exemple avec le pic du 23/01/2013 dans l'optique Naphtionate et l'optique Fluoresceine. La qualité du calage tient du fait qu'aucun pic nouveau n'est simulé et qu'aucun pic de variations naturelles n'a été oublié sur chacune des optiques. Une réduction considérable du bruit de fond est possible sans amplification ni ajout de pics artefacts.

IV.4.2.3. Exemple de correction de traçage artificiel en milieu karstique : traçage du Brestalou de Claret (hydrosystème du Lez)

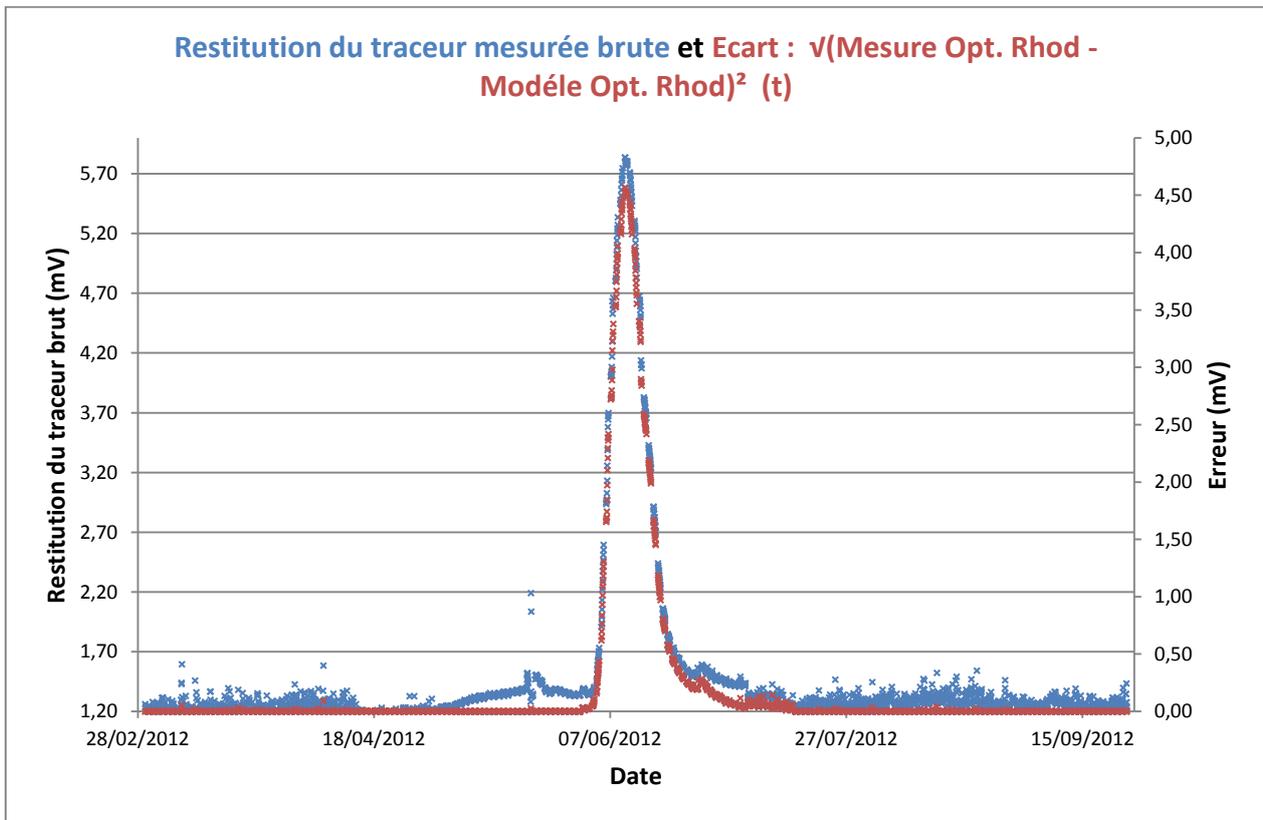
Nous allons traiter en guise d'exemple un traçage artificiel qui s'est avéré positif à la source du Lez. Pour ce traçage artificiel, 10kg de sulforhodamine a été injecté le 22/05/2012 dans la perte du Brestalou de Claret sur le bassin versant de la source du Lez. Un fluorimètre de terrain GGUN a été installé à la source du Lez pour suivre la restitution du traceur. Cet essai s'est avéré positif avec une restitution du traceur de plus de 70%. Le traceur est apparu à la source 12 jours après son injection. Nous allons travailler sur les mesures en continu réalisé lors de cette restitution et tenter d'éliminer le bruit de fond. Le modèle calculé (Modèle Opt. Rhod = α_1 *Opt. Naph + β_1 *Opt. Turb + γ_1) (Fig. n°32 en rouge) permet de simuler le bruit de fond naturel de l'appareil pendant l'arrivée du traceur du 01/06/2012 au 14/07/2012

Figure 35 : Mesures brutes de la restitution du traceur dans l'optique Rhodamine du GGUN (bleu) et modélisation des variations naturelles dans l'optique Rhodamine (rouge) à la source du Lez.



Après calibration (transformation des mV en ppb de traceur), l'écart entre la simulation du bruit de fond et la mesure en fonction du temps nous donne la courbe de restitution du traceur. (Fig. n°33)

Figure 36 : Mesures brutes de la restitution du traceur dans l'optique Rhodamine du GGUN (bleu) et écart entre mesures brutes et simulation des mesures (rouge) à la source du Lez.



Sur cet exemple, le bruit de fond généré durant la restitution du traceur est faible et la correction apportée n'apparaît pas comme étant importante. Cependant elle permet de confirmer que le premier pic observé peu avant juin n'est pas dû à l'arrivée du traceur mais bien à des variations naturelles. De plus, la correction apportée en fin de restitution du traceur est un peu plus précise, ce qui apporte une meilleure qualité d'information sur l'effet de traîne. Avec cette correction en début et fin de restitution, les erreurs faites sur les paramètres de transit du traceur (temps moyen de séjour, temps de première arrivée, etc.) sont minimisées.

Cette méthode de minimisation du bruit de fond doit être validée par différents traçages et pour les différents traceurs fluorescents. Il serait intéressant de confronter cette méthode à des traçages ayant subi d'importantes variations du bruit de fond durant la restitution du traceur ou à des traçages dont la restitution reste indéterminée. Malheureusement, dans le cadre de ce stage, cette méthode n'a pu être confrontée à d'autres mesures de restitution de traceurs artificiels. **Cette méthode sera d'autant plus utile que les variations naturelles de fluorescence et de turbidité sont importantes lors de la restitution.** Une crue entraînant une forte variabilité de fluorescence naturelle et de turbidité c'est par exemple le cas lorsqu'un traceur est piégé dans un siphon karstique nécessitant un amorçage par une crue, ce qui est fréquent en contexte karstique méditerranéen. **Cette méthode prend également son importance lors de traçage effectué par des traceurs incolores tels que le Naphtionate, l'Amino-G-Acide ou le Tinopal, possédant des pics de fluorescence proche de ceux de la MOD Humique.** Avec l'utilisation de ces traceurs, les variations du bruit de fond sont plus élevées corrélativement à la restitution de ces traceurs.

IV.4.3. Proposition de méthodes de calibration des optiques du GGUN sur la MOD.

Afin d'optimiser le suivi en continu de la fluorescence de la MOD aux émergences karstiques, il serait intéressant de pouvoir calibrer les différentes optiques permettant de mesurer la MOD, ceci permettrait d'avoir une donnée plus claire que la donnée brut en mV. Une calibration commune permettrait aux différents chercheurs travaillant avec ce type de matériel de mettre en commun et de comparer leurs données. Une mutualisation des données bénéfique, par exemple, au groupe d'observation des aquifères karstiques « SNOKarst » équipé de fluorimètres de terrain GGUN à différentes émergences karstiques.

IV.4.3.1. Calibration sur l'intensité de fluorescence de la MOD obtenu par spectrofluorimétrie

Nous avons vu (cf partie III.4) qu'il est possible d'extraire l'intensité de fluorescence de chacun de des pics de MOD par spectrofluorimétrie. En assurant un suivi de la fluorescence naturelle par spectrofluorimétrie en parallèle du suivi de la fluorescence naturelle par fluorimètre de terrain, il est possible à partir d'un nombre significatif d'échantillons de déterminer de façon pertinente la relation linéaire qui lie la fluorescence d'un composé de la MOD (en ua) à sa mesure en continu (en mV) (cf partie IV.1.2. et Fig. n°19). A partir de cette relation linéaire, il est possible d'effectuer une calibration de l'appareil en modifiant manuellement son fichier de calibration.

Le fichier de calibration du GGUN se présente de la manière suivante (ici calibration de l'optique « tracer 3 » soit l'optique Naphtionate dans notre cas) :

```
-----Full calibration of tracer 3-----  
3      Number of calibration lines, increasing concentration  
-8 « Valeur à 10ppb »   log(ppb) & signal (mV)  
-7 « Valeur à 100ppb »  log(ppb) & signal (mV)  
-6 « Valeur à 1000ppb » log(ppb) & signal (mV)
```

Soit la relation linéaire obtenu : $V = a * FI + b$ avec $V =$ Signal mesuré par le fluorimètre de terrain (mV) et FI : Intensité de Fluorescence obtenu par spectrofluorimétrie (ua)

Une calibration du GGUN est possible en ajustant le fichier de calibration de la manière suivante :

Valeur à 10ppb = $a*10+b$

Valeur à 100ppb = $a*100+b$

Valeur à 1000ppb = $a*1000+b$

Attention toutefois, les résultats obtenus par cette calibration ne seront pas exprimés en « ppb » mais en « ua ».

Exemple de l'optique Naphtionate du GUNN #298 à calibrer sur la MOD de type H1 : nous avons obtenu l'équation $V = 1,3*10^{-3} * FI + 6,704*10^{-1}$ (Fig. n°19) reliant la mesure dans l'optique naphtionate du GGUN #298 à l'intensité de fluorescence du pic H1 obtenu par spectrofluorimétrie.

Ce qui nous donne comme fichier de calibration :

```
-----Full calibration of tracer 3-----  
3      Number of calibration lines, increasing concentration  
-8 0,6834   log(ppb) & signal (mV)  
-7 0,8004   log(ppb) & signal (mV)  
-6 1,9704   log(ppb) & signal (mV)
```

Malheureusement, le fluorimètre GGUN #298 n'ayant pas été disponible durant la durée du stage, le test de cette calibration n'a pu être réalisé.

IV.4.3.2. Calibration à partir d'une matière fluorescente

Il est possible d'imaginer une calibration à partir d'un même étalon possédant des caractéristiques d'émission et d'excitation proche de celle de la MOD étudiée.

Le Sulfate de Quinine possède des caractéristiques d'excitation et d'émission ($\lambda_{\text{ex}}=347\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=451\text{nm}$) proches de la matière humique de type H1 ($\lambda_{\text{ex}}=331\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=438\text{nm}$). Il est possible de calibrer une optique mesurant les variations de MOD humique sur un équivalent en concentration du Sulfate de Quinine. [Tissier et al. \(2013\)](#) ont utilisé une solution de sulfate de quinine dihydraté pour calibrer leur optique de fluorimètre destiné à la mesure de la MOD humique. L'intensité de fluorescence mesurée étant ensuite exprimée en équivalent sulfate de quinine dihydraté (QSU * $3.33 \cdot 10^{-8} \text{ mmol L}^{-1}$).

De la même manière, le L-Tryptophane que nous avons utilisé lors de nos tests de calibration sur l'optique protéique possède des caractéristiques d'excitation et d'émission (pic principal : $\lambda_{\text{ex}}=280\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=350\text{nm}$) et (pic secondaire : $\lambda_{\text{ex}}=220\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=350\text{nm}$) proche de la matière protéique que l'on observe classiquement à la source du Lez (Tab. n°8). Il est possible de calibrer une optique mesurant les variations de MOD protéique en équivalent de concentration de L-Tryptophane.

Cependant, les propriétés de fluorescence de ces corps fluorescents ne sont pas identiques à ceux de la MOD observée aux émergences karstiques. De ce fait, deux optiques de GGUN, mesurant les mêmes variations de MOD mais possédant des fenêtres de mesure différentes en termes d'excitation et d'émission ne pourront pas être comparées par ce type de calibration.

IV.4.3.3. Calibration de la MOD humique en fonction du carbone organique total (COT)

Le carbone organique total (COT) est un paramètre qui fait l'objet de nombreux suivis réguliers sur différents sites. Le taux de MOD humique fluorescente représente une partie de ce COT, ils évoluent de manière semblable aux émergences karstiques. On retrouve des relations linéaires qui lient la MOD humique et le COT. Cependant ces relations peuvent dépendre de la saison ([Tissier et al., 2013](#)), de la concentration en MOD protéique ([Mudarra et al., 2011](#)) ou peuvent s'avérer complexe et rester indéterminées ([Quiers et al., 2011](#)). Pour réaliser ce type de calibration, il est nécessaire de connaître précisément la dynamique qui lie le COT à la MOD humique sur le site où sont réalisées les mesures.

Conclusion

L'étude de la MOD est un outil complémentaire venant s'ajouter aux outils hydrochimiques classiques permettant d'améliorer la compréhension de la caractérisation des aquifères de type karstique. La mesure de la fluorescence naturelle d'une eau s'avère être aujourd'hui le meilleur moyen d'analyser sa composition en MOD. La génération de matrice MEE par spectrofluorimétrie permet d'identifier le type de MOD présent en solution et d'en mesurer la proportion. Cependant ce type de mesure ne fournit qu'une information ponctuelle. Elle ne fournit pas d'information sur les variations de fluorescence naturelle entre deux prélèvements. Peu de paramètres physico-chimiques d'une eau peuvent être mesurés en continu in situ. L'importance du suivi de la MOD par fluorimètre de type GGUN passe par le fait qu'elle permet un suivi en continu de la fluorescence.

Le suivi en continu de la fluorescence de la MOD est possible par les optiques Naphtionate et Fluoresceine. Ceci offre la perspective d'un suivi de la MOD humique avec les anciens fluorimètre de terrain GGUN équipés de seulement deux optiques : une optique Fluoresceine et une optique Rhodamine. Le suivi de la MOD humique est possible pour les optiques Naphtionate et Fluoresceine. Ce suivi pourrait cependant être optimisé avec deux optiques spéciales dont les fenêtres de mesure sont exactement en correspondance avec la fluorescence des pics humiques H1 et H2, tout en restant éloigné de la droite de diffusion de Tyndall engendrant une mesure de turbidité parasite.

L'optimisation du suivi de la fluorescence par spectrofluorimétrie a permis de mettre en évidence la présence de matière organique qui n'avait encore jamais été mis en évidence à la source du Lez : les composés protéiques de type tryptophane-like et tyrosine-like. La dynamique des composés protéiques de type P1, Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2 semblent être différentes. La confrontation des données de fluorescences acquise pour ces différents pics avec les différents et nombreux paramètres physico-chimiques et biologiques acquis à la source du Lez depuis 2007 devrait apporter des informations quant à la dynamique de ces différents pics.

Les données mesurées par la nouvelle optique Protéique reste encore à interpréter. Les différents pics de matière protéique ont des caractéristiques spectrales de fluorescence très proches les uns des autres. La mesure en continu par GGUN de ces différents pics de façon séparée apparait comme impossible avec le matériel actuel. Le suivi en continu de la MOD protéique ne pourra qu'être au mieux une mesure globale de ces différents pics. Le suivi de ces composés protéiques reste indissociable aux mesures en laboratoire par spectrofluorimétrie pour suivre les différents pics de fluorescence qui composent la MOD protéique aux émergences karstiques.

La compréhension de la dynamique d'évolution naturelle mesurée par les différentes optiques du fluorimètre de terrain GGUN est bénéfique au dépouillement des données de mesures en traçage artificiel. Le bruit de fond peut maintenant être nettement corrigé sur les courbes de restitution. Cette correction du bruit de fond permettra une meilleure interprétation des essais de traçage lors de restitutions perturbées par d'importantes variations de fluorescence naturelle et de turbidité.

Références Bibliographiques

- BAKALOWICZ M., (1999). Connaissance et gestion des ressources en eaux souterraines dans les régions karstiques. Guide technique n°3, SDAGE Rhône - Méditerranée - Corse. Agence de l'Eau Rhône – Méditerranée - Corse, Lyon, 40 p.
- BAKALOWICZ M., (2005). Karst groundwater: a challenge for new resources. *Hydrogeology Journal* 13 (1), pp. 148–160.
- BAKER A., INVERARITY R., CHARLTON M.E. et RICHMOND S., (2003). Detecting river pollution using fluorescence spectrophotometry: case studies from the Ouseburn, NE England. *Environmental Pollution* 124, 57–70.
- BAKER A. et INVERARITY R., (2004). Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality. *Hydrological Process* 18(15):2927–45.
- BAKER A. et SPENCER R.G.M., (2004). Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Sci Total Environ*, 333(1–3):217–32.
- BATIOT C., (2002). Étude expérimentale du cycle du carbone en régions karstiques. Apports du carbone organique et du carbone minéral à la connaissance hydrogéologique des systèmes. Thèse Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse. 246 pages.
- BATIOT C., EMBLANCH C. et BLAVOUX B., (2003). Carbone Organique Total (COT) et Magnésium (Mg²⁺) : deux traceurs complémentaires du temps de séjour dans l'aquifère karstique. *Comptes Rendus Géosciences*, 335: 205-214.
- BATIOT-GUILHE C., SEIDEL J.L., CORDIER M.A., VAN-EXTER S., BICALHO C., LAFARE A., RODIER C. et JOURDE H., (2008). Characterisation of underground flows in karstic aquifers by studying DOM fluorescence. Example of two Mediterranean systems (Lez and Causse d'Aumelas, Southeastern France). 13th IWRA World Water Congress, 1-4 septembre 2008, Montpellier.
- BICALHO C.C., BATIOT-GUILHE C., SEIDEL J.L., VAN-EXTER S. et JOURDE H., (2009). Hydrogeological functioning of a complex Mediterranean karst system by multivariable tracing. Poster scientifique. 37th IAH Congress Hyderabad, India.
- BICALHO C.C., BATIOT-GUILHE C., SEIDEL J.L., VAN-EXTER S. et JOURDE H., (2010 (a)). Groundwater hydrochemistry changes induced at the Lez karst spring as a result of intensive exploitation during 28 years. In: IAHS (Ed.) Sixth World FRIEND Conference. Fez, Maroc.
- BICALHO C.C., BATIOT-GUILHE C., SEIDEL J.L., VAN-EXTER S. et JOURDE H., (2010 (b)). Investigation of groundwater dynamics in a Mediterranean karst system by using multiple hydrogeochemical tracers. 4th International Symposium on Karst. Malaga, Spain.

- BICALHO C.C., BATIOU-GUILHE C., SEIDEL J.L., VAN-EXTER S. et JOURDE H., (2012). Geochemical evidence of water source characterization and hydrodynamic responses in a karst aquifer *Journal of Hydrology* 450–451 (2012) 206–218.
- BIRDWELL J.E. et ENGEL A.S. (2009). Variability in terrestrial and microbial contributions to dissolved organic matter fluorescence in the Edwards Aquifer, Central Texas. *J Cave Karst Stud*, 71:144–56.
- BIRDWELL J.E. et ENGEL A.S. (2010). Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. *Org Geochem*, 41:270–80.
- 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 Thesis, Université d’Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 186 p.
- BLONDEL T., EMBLANCH C., DUDAL Y., BATIOU-GUILHE C., TRAVI Y. et GAFFET S., (2010). Transit time environmental tracing from Dissolved Organic Matter fluorescence properties in karstic aquifers . Application to different flows of ‘Fontaine de Vaucluse’ experimental basin. *Advances in Research in Karst Media* 1: 143-149.
- BLONDEL T., FANGER B., PERRETTE Y., TISSIER G., POULENARD J. et MALLET E., (2011). Joint studies of classical hydrochemical data and DOM characterization methods for environmental tracing issues. Application to Chevaline karst system (Choranche, SE France) *9th Conference on Limestone Hydrogeology, Besançon : France (2011)*, 9, 498pages.
- BLONDEL T., EMBLANCH C., BATIOU-GUILHE C., DUDAL Y. et 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.
- BORUP M., (2008) Detecting and Identifying Water Pollution Sources Using Fluorescence Spectrophotometry. *World Environmental and Water Resources Congress 2008*: pp. 1-10.
- COBLE P.G., (1996). Characterisation of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, pp. 325-346.
- COBLE P.G., DEL CASTILLO C.E. et AVRIL B., (1998). Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* Volume 45, Issues 10–11, August 1998, Pages 2195–2223
- DESMARAIS K. et ROJSTACZER S., (2002). Inferring source waters from measurements of carbonate spring response to storms. *Journal of Hydrology*, 260(1-4): pp. 118- 134.
- DETERMANN S., REUTER R. et WILLKOMM R., (1996). Fluorescent matter in the eastern Atlantic Ocean: Part 2. Vertical distribution and relation to water masses. *Deep Sea Research.*, Part 1 43, 345–360.

- DUBOIS P., (1964). Les circulations souterraines dans les calcaires de la région de Montpellier. 2, BRGM, Montpellier.
- DUREPAIRE X., (2013). Étude de la fluorescence naturelle de la MOD pour caractériser les flux d'infiltration rapide dans les aquifères karstiques. Application à la source du Lez. Mémoire de Master 1ème année (H3E), Univ. Montpellier 2. 27pages.
- ELLIOT S., LEAD J.R. et BAKER A., (2006). Characterisation of the fluorescence from freshwater, planktonic bacteria. *Water Res*, 40:2075–83.
- EMBLANCH C., PUIG J.M., ZUPPI G.M. et MUDR J., (1999). Comportement particulier lors des montées de crues dans les aquifères karstiques, mise en évidence d'une double fracturation et/ou de circulation profonde: Exemple de la Fontaine de Vaucluse. *Eclogae geol. Helv.*, 92: 593 1-7.
- FLEURY P., PLAGNES V. et BAKALOWICZ M., (2007). Modelling of the functioning of karst aquifers with a reservoir model: Application to Fontaine de Vaucluse (South of France). *Journal of Hydrology*, Volume 345, Issues 1-2, pp. 38-49.
- GARRY B., (2007). Étude des processus d'écoulement de la zone non saturée pour la modélisation des aquifères karstiques. Expérimentation hydrodynamique et hydrochimique sur les sites du Laboratoire Souterrain à Bas Bruit (LSBB) de Rustrel et de Fontaine de Vaucluse. PhD Thesis, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon, 216 p.
- GEZE B., 1973. Lexique des termes français de spéléologie physique et de karstologie. *Ann. Spéléol.*, 28(1): 1-20.
- GRIFFITH S.M. et SCHNITZER M., (1975). The Isolation and Characterization of Stable Metal-Organic Complexes From Tropical Volcanic Soils. *Soil Science* 120(2): 126-131.
- HUDSON N., BAKER A. et REYNOLDS D., (2008). Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - a review. *River Research and Applications* 23(6): 631-649.
- JOSEPH, C., RODIER C., SOULTE M., SINEGRE F., BAYLET R. et DELTOUR P., (1987). Approche des transferts de pollution bactérienne dans une crue karstique par l'étude des paramètres physico-chimiques. *Revue des sciences de l'eau* 1-2, pp. 73- 106.
- KIRALY L., (1975). Rapport sur l'état actuel des connaissances dans le domaine des caractères physiques des roches karstiques. *Int. Union Geol. Sci., Hydrogeology of karstic terrains*, 3(B), pp. 53-67.
- LAWAETZ A.J. et STEDMON C.A., (2009). Fluorescence Intensity Calibration Using the Raman Scatter Peak of Water. *Applied Spectroscopy* (Aug 2009) 63(8): 936-940.
- LÓPEZ-CHICANO M., BOUAMAMA M., VALLEJOS A. et PULIDO-BOSCH A., (2001). Factors which determine the hydrogeochemical behaviour of karstic springs. A case study from the Betic Cordilleras, Spain. *Applied Geochemistry*, 16(9-10): pp. 1179-1192.

- MAHLER B.J. et MASSEI N., (2007). Anthropogenic contaminants as tracers in an urbanizing karst aquifer. *Journal of Contaminant Hydrology* 91, no. 1–2, pp.81–106.
- MAHLER B.J., VALDES D., MUSGROVE M. et MASSEI N., (2008). Nutrient dynamics as indicators of karst processes: Comparison of the Chalk aquifer (Normandy, France) and the Edwards aquifer (Texas, U.S.A.). *Journal of Contaminant Hydrology* 98, pp. 36–49.
- MANGIN A., (1975). Contribution à l'étude hydrodynamique des aquifères karstiques, Univ. Dijon.
- MANGIN A., (1998). L'approche hydrogéologique des karsts. *Spéléochonos*, 9: pp. 3-26.
- MARECHAL J.C., PETIT V. et LADOUCHE B., (2004) - Synthèse des connaissances géologiques et hydrogéologiques sur le bassin d'alimentation de la Fontaine de Nîmes. BRGM/RP-53422-FR, 75 p., 17 fig., 6 tabl.
- MARECHAL J.C., LADOUCHE B., COURTOIS N. et DÖRFLIGER N., (2005) – Nîmes – aléas inondation par contribution des eaux souterraines. BRGM/RP-53827-FR, 187 p, 94 ill., 5 ann.
- MARECHAL J.C. et LADOUCHE B., (2006) : Fonctionnement hydrogéologique du système karstique de la Fontaine de Nîmes en crue, Rapport final, BRGM/RP-54723-FR, 111 p., 77 illustrations, 1 annexe.
- MARJOLET G. et SALADO J., (1976). Contribution à l'étude de l'aquifère karstique de la source du Lez (Hérault). Étude du chimisme des eaux de la source du Lez et de son bassin. Tome IX – FASC II. . Mémoire du centre d'études et de recherches géologiques et Hydrogéologiques Montpellier Université des sciences et Techniques du Languedoc (Montpellier II): 101p.
- MARSAUD B., (1996). Structure et fonctionnement de la zone noyée des karsts à partir des résultats expérimentaux. Document BRGM Thesis, Paris XI Orsay, 303 pp.
- MUDARRA M., ANDREO B. et BAKER A., (2011). Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence: Relationship with infiltration processes. *Science of the Total Environment* 409 (2011) 3448–3462.
- PARLANTI E., WÖRZ K., GEOFFROY L. et LAMOTTE M., (2000). Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* 31(12): 1765-1781.
- PATEL-SORRENTINO N., MOUNIER S. et BENAÏM J.Y., (2002). Excitation–emission fluorescence matrix to study pH influence on organic matter fluorescence in the Amazon basin rivers. *Water Res.*, 36, 2571–81.
- PERRIN J., JEANNIN P.-Y., et CORNATON F., (2007). The role of tributary mixing in chemical variations at a karst spring, Milandre, Switzerland. *Journal of Hydrology* 332, pp. 152–173.
- QUIERS M., (2010). Utilisation de traceurs émergents pour caractériser les flux souterrains et la vulnérabilité au sein d'aquifères karstiques. Application à l'hydrosystème du Lez. Mémoire de Master 2ème année Recherche (R2E), Univ. Montpellier 2. 65pages.

QUIERS M., BATIOU-GUILHE C., BICALHO C., SEIDEL J.L. et PERETTE Y., (2011). The fluorescence spectroscopy of Dissolved Organic Matter (DOM): a tool to characterize rapid infiltration flows and vulnerability in karst systems. Application to the Lez hydrosystem (Hérault, France). AGU Fall Meeting Abstracts 11/2011 -1:1112.

QUIERS M., BATIOU-GUILHE C., BICALHO C., PERETTE Y., SEIDEL J.L. et VAN-EXTER S., (2013). Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter. *Environnemental Earth Sciences*. DOI 10.1007/s12665-013-2731-2.

RANVILLE J.F. et MACALADY D.L. (1996). *Geochemical Processes, Weathering and Groundwater Recharge in Catchments*. Chapter 10, *Natural Organic Matter in Catchments*, ISBN (90-5410-641-1)

SCHNEGG. P.A. et COSTA R., (2003). Tracer tests made easier with field fluorometers. Technical note. *Bull Hydrogeol*, 20, 89–91.

SENESE N., (1993). In: BECH A.J., JONES K.C., HAYES M.B.H. et MINGELGRIN U. (Eds.), *Organic Substances in Soil and Water: Natural Constituents and Their Influences on Contaminant Behaviour*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 4.

STEVENSON F.J., (1982). *HUMUS chemistry, genesis, composition, reactions*. John Wiley and Sons.

TEYMOURI B., (2007). *Fluorescence spectroscopy and Parallel Factor Analysis of waters from municipal waste sources*. Thesis, Faculty of the Graduate School at the University of Missouri – Columbia, 85pages.

TISSIER G., BLONDEL T., DZIKOWSKO M., HOBLEA F. et PERRETTE Y., (2011). Suivi en continu de la matière organique fluorescente aux émergences karstiques. *9th Conference on Limestone Hydrogeology, Besançon : France (2011)*, 9, 498pages.

TISSIER G., PERRETTE Y., DZIKOWSKI M., POULENARD J., HOBLEA F., MALET E. et FANGET B., (2013). Seasonal changes of organic matter quality and quantity at the outlet of a forested karst system (La Roche Saint Alban, French Alps). *Journal of Hydrology* (2013), 432: pp. 139- 148

VALEUR B. (2004). *Introduction à la fluorescence moléculaire*. 1ère édition. rue des Minimes 39, B-1000 : Édition De Boeck Université Bruxelles. 201pages. ISBN (2-8041-4597-2).

VESPER D.J., LOOP C.M. et WHITE W.B., (2001). Contaminant transport in karst aquifers. *Theoretical and Applied Karstology* 13–14, pp. 101–111.

ZEPP R., SHELDON W. et 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. *Marine Chemistry*, 89, 15–36.

Annexe n°1

Jardin de la Fontaine de Nîmes, vu de la vasque de la Fontaine de Nîmes et position de l'aven Mazauric.

Illustration 1: Vue aérienne de la vasque de la Fontaine et position approximative de l'aven Mazauric.



Illustration 2: Photo de la vasque de la Fontaine de Nîmes et position approximative de l'aven Mazauric (en hauteur derrière les arbres).



Annexe n°2

Script (MATLAB®) de soustraction de la matrice MEE de la moyenne de l'eau ultra pure (Eau MiliQ) en traitement préliminaire de nos matrices MEE obtenu à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes et représentation 2D de la moyenne de l'eau ultra pure.

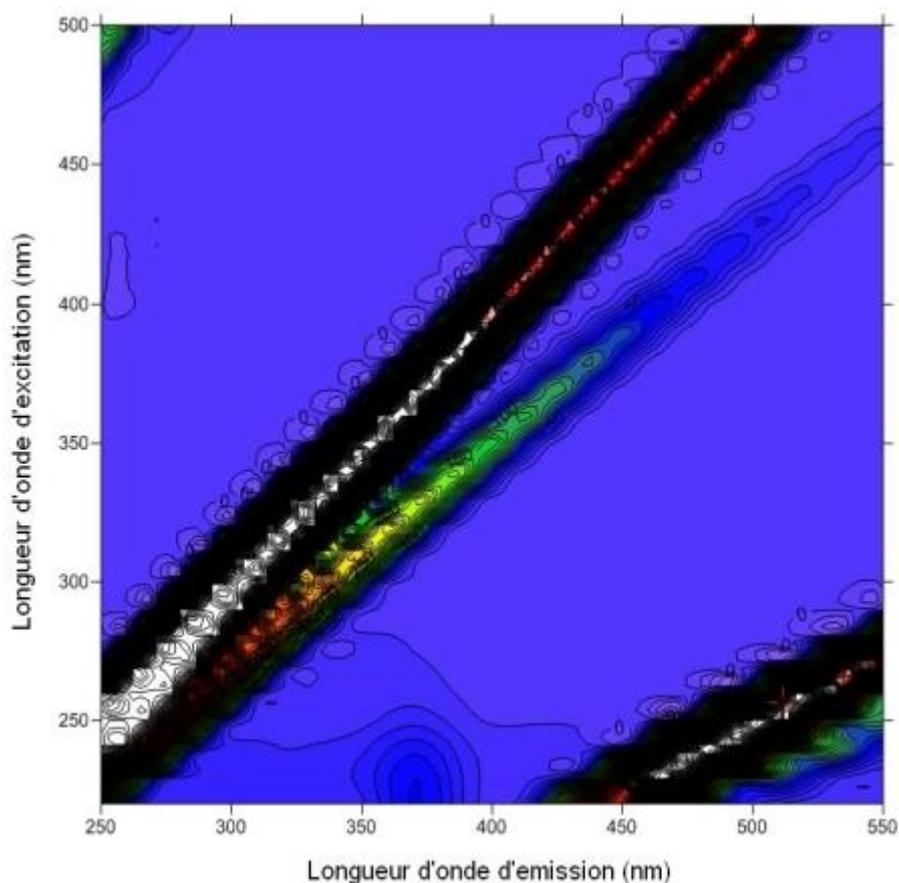
Eau MiliQ produit par un système de filtration et osmose inverse de la société Millipore et représentation 2D de cette matrice.

Script de soustraction de l'eau ultra pure :

```
function [eem] = soustractionMoyenneH2OMQ(mateem,moyenneH2OMQ)

eem(1,1:size(untitled,2)) = mateem(1,1:size(mateem,2));
eem(1:size(untitled,1),1) = mateem(1:size(mateem,1),1);
eem(2:size(untitled,1),2:size(mateem,2)) =
mateem(2:size(mateem,1),2:size(mateem,2)) -
moyenneH2OMQ(2:size(moyenneH2OMQ,1),2:size(moyenneH2OMQ,2));
```

Représentation 2D de la MEE de la moyenne de l'eau ultra pure



Annexe n°3

Script (MATLAB®) d'élimination des différents phénomènes de diffusion de nos matrices MEE obtenu à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes

```
function [eem_cor,correct,eem_filter] = cleanscan(eem,correct,parms,baseopt)
%syntax: [eem_cor,correct,eem_filter] = cleanscan(eem,tol,coeff,baseopt)
%
%Corrects an excitation-emission matrix fluorometer scan (EEM) to remove
%specific optical aberrations (i.e. 1st-order Rayleigh scatter, 2nd-order
%Rayleigh scatter (i.e. overtones) and their associated Raman scatter peaks).
%If tolerances <1000 are specified in the 'correct' matrix, fluorescence
%values in scatter regions (i.e. peak emission +/- tolerance in nm for each
%excitation wavelength) are excised and replaced by interpolation of the
%surrounding data using a three-dimensional Delaunay triangulation method. If
%tolerances >=1000 are specified, values in the corresponding portion of the EEM
%will be replaced with a constant value specified by 'baseopt' (i.e. truncated).
%Tolerance values of 0 can be used to selectively disable correction of the
%corresponding scatter peaks.
%
%Input arguments:
%
%'eem' is a matrix of EEM data, with excitation wavelengths in
% the first row, emission wavelengths in the first column, and
% corresponding fluorescence intensity values for each ex/em
% wavelength combination. The top left cell is ignored but copied
% to the output matrix in case it contains information. Note that
% single emission and single excitation scans are supported, but
% they must be in 'eem' format as described (i.e. must include the
% excitation or emission wavelength in the first row or column, resp.)
%
%'tol' is an n row by 2 column matrix of correction tolerances in nm.
% Columns specify tolerances below (left col) and above (right col) the
% peak emission at each excitation wavelength. Typical row assignments
% are as follows:
%     row 1: primary Rayleigh scatter
%     row 2: primary Raman scatter
%     row 3: secondary Rayleigh scatter
%     row 4: secondary Raman scatter
% Use tolerances >=1000 to truncate corresponding portions of an EEM and
% set truncated values to 'baseopt' (note: truncation overrides excising)
% Typical example with truncation of emissions below excitation wavelength:
%     [1000 12; ...
%       16   16; ...
%       18   18; ...
%       18   18]
%
%'coeff' is a matrix of polynomial curve fit coefficients which describe
% the excitation wavelength-dependent emission wavelength for each
% scatter peak. Coefficients must be in rows and ordered appropriately for
% the 'polyval' function (i.e. x^n, x^(n-1), ... , constant). Row
assignments
% must match the 'tol' matrix, but any power polynomial can be specified.
% Typical example for a second-order polynomial matching 'tol' above:
%     [0      1.0000  0; ...
%       0.0006  0.8711 18.7770; ...
%       0      2.0000  0; ...
%      -0.0001  2.4085 -47.2965]
```

```

%      equivalent to: 0x^2 + 1x + 0, 0.0006x^2 + 0.8711x + 18.777, etc.
%
%      'baseopt' specifies optional baseline value to substitute for values in
%      truncated scan regions. Default value is 0
%
%Output parameters:
%
%      'eem_cor' is a matrix the same dimensions as 'eem' containing corrected
%      fluorescence intensity values.
%
%      'correct' is the correction matrix reflecting any changes following
validation
%
%      'eem_filter' is the filter matrix used to correct 'eem' (i.e. a matrix of
ones
%      and zeros the same dimensions as 'eem_cor', with zeros representing
values
%      in scatter regions which were excised or truncated).
%
%(c)2001 by Wade Sheldon
%Department of Marine Sciences
%University of Georgia
%Athens, Georgia 30602-3636
%sheldon@uga.edu
%
%This file is part of the Fluorescence Toolbox for MATLAB(r) software library.
%
%The Fluorescence Toolbox is free software: you can redistribute it and/or
modify it under the terms
%of the GNU General Public License as published by the Free Software Foundation,
either version 3
%of the License, or (at your option) any later version.
%
%The Fluorescence Toolbox is distributed in the hope that it will be useful, but
WITHOUT ANY
%WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A
PARTICULAR
%PURPOSE. See the GNU General Public License for more details.
%
%You should have received a copy of the GNU General Public License along with
The Fluorescence Toolbox
%as 'license.txt'. If not, see <http://www.gnu.org/licenses/>.
%
%last modified 10/5/2001

%initialize outputs
eem_cor = [];
eem_filter = [];

if nargin >= 3 %check for minimum number of arguments

    if ~exist('baseopt') %assign default baseopt
        baseopt = 0;
    end

    if size(correct,2) < 2 %single column format - replicate values
        correct = [correct correct];
    end

    cancel = 0;

```

```

%validate input arguments
[ex,em,fl,fl_id] = unwrapeem(eem);

if isempty(fl) %validate data matrix
    cancel = 1;
    errormsg = 'EEM data matrix is invalid';
elseif size(parms,1) ~= size(correct,1) %validate polyfit parms
    cancel = 1;
    errormsg = 'Curve-fit coefficient matrix does not match correction matrix'
end

if cancel == 0 %proceed with analysis

    %form observed emission matrix
    em_obs = repmat(em,1,length(ex));

    %initialize filter matrices
    filt_excise = ones(size(em_obs));
    filt_trunc = zeros(size(em_obs));

    %loop through correction parameters for each peak
    for n = 1:size(correct,1)

        if correct(n,1) > 0 | correct(n,2) > 0 %test for no-filter condition

            peaks = polyval(parms(n,:),ex); %get array of scatter peak
emissions

            %form appropriate filter matrices for emissions below scatter peak
            if correct(n,1) < 1000 %excise
                em_below = (em_obs - repmat(peaks-correct(n,1),length(em),1)) <=
0;
            else %truncate
                %create logical index the same dimensions as em_obs, with vals
below

                %the scatter peak lower limit = 1, update truncation filter
                em_below = (em_obs - repmat(peaks,length(em),1)) <= 0;
                filt_trunc(em_below) = 1;
            end

            %form appropriate filter matrices for emissions above scatter peak
            if correct(n,2) < 1000 %excise
                em_above = (em_obs - repmat(peaks+correct(n,2),length(em),1)) >=
0;
            else %truncate
                %create logical index the same dimensions as em_obs, with vals
above

                %the scatter peak lower limit = 1, update truncation filter
                em_above = (em_obs - repmat(peaks,length(em),1)) >= 0;
                filt_trunc(em_above) = 1;
            end

            %update excise filter matrix using combination of logical indices
(excise region = 0)
            filt_excise = filt_excise .* (em_below + em_above);

        end
    end
end

```

```

end

%substitute 'baseopt' for truncated values
fl(filt_trunc == 1) = baseopt;

%update master filter to account for truncations
filt_excise(filt_trunc == 1) = 1;

%get index of excised values
I_excise = find(filt_excise == 0);

%excise values and grid data to reconstitute EEM if necessary
if ~isempty(I_excise)

    %replace zeros with NaN
    fl(I_excise) = NaN;

    %form matched ex, em, fl vectors
    em_vec = reshape(em*ones(1,length(ex)),length(em)*length(ex),1);
    ex_vec = reshape(ones(length(em),1)*ex,length(em)*length(ex),1);
    fl_vec = reshape(fl,length(em)*length(ex),1);

    %get index of valid data points
    I_valid = find(~isnan(fl_vec));

    %interpolate using 2D or 3D algorithm as appropriate
    if size(fl,2) > 1

        if size(fl,1) > 1 %EEM matrix

            %grid valid data points to form new EEM
            fl =
griddata(ex_vec(I_valid),em_vec(I_valid),fl_vec(I_valid),ex,em);

        else %excitation scan

            %interpolate single ex scan
            fl = interp1(ex_vec(I_valid),fl_vec(I_valid),ex,'spline');

        end

    else %emission scan

        %interpolate single em scan
            fl = interp1(em_vec(I_valid),fl_vec(I_valid),em,'spline');

    end

    %zero out any nulls or negative or near-zero values
    fl = nonneg(fl);

end

%assemble output EEM
eem_cor = wrapeem(ex,em,fl,fl_id);

%assemble total correction filter in EEM form

```

```

    filt_excise = filt_excise .* (filt_trunc < 1);
    eem_filter = wrapeem(ex,em,filt_excise);

end

else

    errormsg = 'Too few arguments for function';
    cancel = 1;

end

if cancel ~= 0

    clc
    disp(' '); disp(' ')
    disp(errormsg)
    disp(' '); disp(' ')

end

function [ex,em,fl,fl_id,errormsg] = unwrapeem(eemdata)
%syntax: [ex,em,fl,fl_id,errormsg] = unwrapeem(eemdata)
%
%Parses a consolidated matrix of EEM data and returns vectors of
%excitation wavelengths ('ex') and emission wavelengths ('em'), and
%a matrix of fluorescence intensity values ('fl'). Any data in
%eemdata(1,1) is returned as 'fl_id'.

ex = [];
em = [];
fl = [];
fl_id = [];
errormsg = '';

cancel = 0;

if nargin > 0

    %validate input
    if size(eemdata,1) < 2 | size(eemdata,2) < 2

        cancel = 1;
        errormsg = 'Input matrix is invalid';

    else

        ex = eemdata(1,2:size(eemdata,2));
        em = eemdata(2:size(eemdata,1),1);
        fl = eemdata(2:size(eemdata,1),2:size(eemdata,2));
        fl_id = eemdata(1,1);

        ex_inc = ex(2:length(ex))-ex(1:length(ex)-1);
        I_ex = find(ex_inc <= 0);

        em_inc = em(2:length(em))-em(1:length(em)-1);
        I_em = find(em_inc <= 0);
    end
end

```

```

    if ~isempty(I_ex) | ~isempty(I_em) %check for nonmonotonic vectors

        cancel = 1;
        errormsg = 'Input matrix is invalid';

        ex = [];
        em = [];
        fl = [];
        fl_id = [];

    end

end

else

    cancel = 1;
    errormsg = 'Too few arguments for function';

end

function [eemdata,errormsg] = wrapeem(ex,em,fl,fl_id)
%syntax: [eemdata,errormsg] = wrapeem(ex,em,fl,fl_id)
%
%Concatenates vectors of excitation and emission wavelengths and
%corresponding fluorescence intensity matrix to produce a self-
%contained matrix of EEM data.

eemdata = [];
errormsg = '';
cancel = 0;

if nargin >= 3

    ex_size = size(ex);
    em_size = size(em);
    fl_size = size(fl);

    %validate input
    if min(ex_size) > 1 | min(em_size) > 1 %confirm vector format

        cancel = 1;
        errormsg = ''ex'' and ''em'' must be vectors';

    elseif prod(fl_size) ~= (prod(ex_size) .* prod(em_size)) %test for mismatch

        cancel = 1;
        errormsg = 'matrix dimensions do not match';

    else

        %test for nulls in ex/em
        if length(find(isnan(ex))) > 0 | length(find(isnan(em))) > 0

            I_ex = find(~isnan(ex));
            ex = ex(I_ex);

            I_em = find(~isnan(em));

```

```

    em = em(I_em);

    fl = fl(I_em,I_ex);

end

%check for nonmonotonic vectors
ex_inc = ex(2:length(ex))-ex(1:length(ex)-1);
I_ex = find(ex_inc <= 0);

em_inc = em(2:length(em))-em(1:length(em)-1);
I_em = find(em_inc <= 0);

if ~isempty(I_ex) | ~isempty(I_em)

    cancel = 1;
    errormsg = ''ex'' and ''em'' must be monotonically increasing
vectors';

    else %test for vector orientation

        if ex_size(1) > ex_size(2)
            ex = ex';
        end

        if em_size(2) > em_size(1)
            em = em';
        end

    end

end

if cancel == 0

    %use default ID label if none specified
    if exist('fl_id') ~= 1
        fl_id = NaN;
    end

    %initialize zero matrix
    eemdata = zeros(length(em)+1,length(ex)+1);

    %assign values
    eemdata(1,1) = fl_id;
    eemdata(1,2:size(eemdata,2)) = ex;
    eemdata(2:size(eemdata,1),1) = em;
    eemdata(2:size(eemdata,1),2:size(eemdata,2)) = fl;

end

else

    cancel = 1;
    errormsg = 'Too few arguments for function';

end

```

```
function m = nonneg(m)
%Converts matrix elements with values < 0 or NaN to 0

I = find(isnan(m));
m(I) = zeros(1,length(I));
I = find(m <= eps);
m(I) = zeros(1,length(I));
```

Annexe n°4

Script (MATLAB®) permettant d'obtenir la longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}), la longueur d'onde d'émission (λ_{em}) et l'intensité de fluorescence de chacun des pics de fluorescence de la MOD identifiée à la source du Lez et à la Fontaine de Nîmes.

```
function [tab_maxpos] = maxpos(eem_cor)

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence de H1
flH1 = eem_cor(172:212,12:16);
eemH1 = [];
eemH1(1:41,1:5) = flH1;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max de
%la MODH1
maxposH1 = [];
maxH1 = max(max(eemH1)); % Valeur maximale de eemH1: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxH1 = []; % Matrice vide
emmaxH1 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemH1,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemH1
for j = 1:size(eemH1,2)
if eemH1(i,j) == maxH1 % Si un élément de eemH1 = max(eemH1), alors il le place
dans une autre matrice
emmaxH1(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxH1(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposH1 = [310+exmaxH1(end).*10 419+emmaxH1(end) max(max(eemH1))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence de H2
flH2 = eem_cor(172:212,2:5);
eemH2 = [];
eemH2(1:41,1:4) = flH2;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max de
%la MODH2
maxposH2 = [];
maxH2 = max(max(eemH2)); % Valeur maximale de eemH2: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxH2 = []; % Matrice vide
emmaxH2 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemH2,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemH2
for j = 1:size(eemH2,2)
if eemH2(i,j) == maxH2 % Si un élément de eemH2 = max(eemH2), alors il le place
dans une autre matrice
emmaxH2(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxH2(l) = j;
j=j+1;
```

```

end
end
end
maxposH2 = [210+exmaxH2(end).*10 419+emmaxH2(end) max(max(eemH2))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence du P1
flP1 = eem_cor(117:137,2);
eemP1 = [];
eemP1(1:21,1) = flP1;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max du
%P1
maxposP1 = [];
maxP1 = max(max(eemP1)); % Valeur maximale de eemP1: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxP1 = []; % Matrice vide
emmaxP1 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemP1,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemP1
for j = 1:size(eemP1,2)
if eemP1(i,j) == maxP1 % Si un élément de eemP1 = max(eemP1), alors il le place
dans une autre matrice
emmaxP1(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxP1(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposP1 = [220 364+emmaxP1(end) max(max(eemP1))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence du Tryptophane-Like 1
flTrp1 = eem_cor(82:112,2:5);
eemTrp1 = [];
eemTrp1(1:31,1:4) = flTrp1;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max du
%Trp-Like 1
maxposTrp1 = [];
maxTrp1 = max(max(eemTrp1)); % Valeur maximale de eemTrp1: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxTrp1 = []; % Matrice vide
emmaxTrp1 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemTrp1,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemTrp1
for j = 1:size(eemTrp1,2)
if eemTrp1(i,j) == maxTrp1 % Si un élément de eemTrp1 = max(eemTrp1), alors il
le place dans une autre matrice
emmaxTrp1(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxTrp1(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposTrp1 = [210+exmaxTrp1(end).*10 329+emmaxTrp1(end) max(max(eemTrp1))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence du Tryptophane-Like 2
flTrp2 = eem_cor(82:112,6:10);

```

```

eemTrp2 = [];
eemTrp2(1:31,1:5) = flTrp2;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max du
%Trp-Like 2
maxposTrp2 = [];
maxTrp2 = max(max(eemTrp2)); % Valeur maximale de eemTrp2: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxTrp2 = []; % Matrice vide
emmaxTrp2 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemTrp2,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemTrp2
for j = 1:size(eemTrp2,2)
if eemTrp2(i,j) == maxTrp2 % Si un élément de eemTrp2 = max(eemTrp2), alors il
le place dans une autre matrice
emmaxTrp2(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxTrp2(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposTrp2 = [250+exmaxTrp2(end).*10 329+emmaxTrp2(end) max(max(eemTrp2))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence du Tyrosine-Like 1
flTyr1 = eem_cor(37:67,2:4);
eemTyr1 = [];
eemTyr1(1:31,1:3) = flTyr1;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max du
%Tyr-Like 1
maxposTyr1 = [];
maxTyr1 = max(max(eemTyr1)); % Valeur maximale de eemTyr1: intensité maximale de
fluorescence.
exmaxTyr1 = []; % Matrice vide
emmaxTyr1 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemTyr1,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemTyr1
for j = 1:size(eemTyr1,2)
if eemTyr1(i,j) == maxTyr1 % Si un élément de eemTyr1 = max(eemTyr1), alors il
le place dans une autre matrice
emmaxTyr1(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxTyr1(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposTyr1 = [210+exmaxTyr1(end).*10 284+emmaxTyr1(end) max(max(eemTyr1))];

%Extrait la matrice des intensité de fluorescence du Tyrosine-Like 2
flTyr2 = eem_cor(32:72,5:9);
eemTyr2 = [];
eemTyr2(1:41,1:5) = flTyr2;
%Extrait l'excitation, l'emission et l'intensité fluorescente du pic max du
%Tyr-Like 2
maxposTyr2 = [];
maxTyr2 = max(max(eemTyr2)); % Valeur maximale de eemTyr2: intensité maximale de
fluorescence.

```

```

exmaxTyr2 = []; % Matrice vide
emmaxTyr2 = [];
k = 1;
l = 1;
disp(' ')
for i = 1:size(eemTyr2,1) % Boucle parcourant chaque élément de eemTyr2
for j = 1:size(eemTyr2,2)
if eemTyr2(i,j) == maxTyr2 % Si un élément de eemTyr2 = max(eemTyr2), alors il
le place dans une autre matrice
emmaxTyr2(k) = i; % Cette matrice-là
k=k+1;
exmaxTyr2(l) = j;
j=j+1;
end
end
end
maxposTyr2 = [240+exmaxTyr2(end).*10 279+emmaxTyr2(end) max(max(eemTyr2))];

maxpos = [maxposH1 0 maxposH2 0 maxposP1 0 maxposTrp1 0 maxposTrp2 0 maxposTyr1
0 maxposTyr2 0];

```

Annexe n°5

Tableaux de mesure de longueur d'onde d'excitation, d'émission et d'intensité de fluorescence de la MOD sur les échantillons prélevés à la source du Lez depuis mai 2007.

*Longueur d'onde d'excitation, longueur d'onde d'émission et intensité de fluorescence (intensité réelle = intensité de l'échantillon * taux de dilution) des échantillons prélevés à la source du Lez du 04/05/2007 au 21/10/2008.*

(Pour une meilleure visibilité, l'absence de données pour Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2 indique que leur présence n'a pas été remarquée sur l'échantillon)

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1				PIC TRP1				PIC TRP2				PIC TYR1				PIC TYR2			
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle
Lez	04/05/2007	1	330	442	795	795	250	444	999	999	220	377	314	314	Pic masqué par la présence P1 et H2				220	307	151	151								
Lez	07/05/2007	1	340	439	589	589	250	443	675	675	220	372	403	403					Pic masqué par la présence de P1											
Lez	11/05/2007	1	340	440	387	387	250	444	309	309	220	377	178	178																
Lez	24/05/2007	1	340	442	364	364	250	448	301	301	220	378	139	139																
Lez	05/06/2007	1	340	440	331	331	250	445	289	289	220	379	155	155																
Lez	18/06/2007	1	340	442	280	280	250	442	253	253	220	377	160	160																
Lez	31/07/2007	1	330	439	208	208	250	443	257	257	220	377	181	181					220	304	98	98								
Lez	28/08/2007	1	340	438	147	147	250	444	211	211	220	376	119	119	Pic masqué par la présence P1 et H2				220	299	51	51								
Lez	24/09/2007	1	330	438	184	184	240	439	271	271	220	379	183	183					220	304	80	80								
Lez	01/10/2007	1	340	438	169	169	240	440	238	238	220	375	247	247					220	307	93	93								
Lez	05/10/2007	1	330	440	295	295	240	441	441	441	220	374	528	528					220	299	175	175								
Lez	18/10/2007	1	330	431	198	198	250	443	263	263	220	376	164	164					220	303	158	158	260	316	215	215				
Lez	29/10/2007	1	330	433	183	183	240	447	273	273	Pic masqué par la présence de Trp				230	336	526	526	280	340	335	335								
Lez	26/11/2007	1	330	439	357	357	250	447	472	472	220	375	443	443					Pic masqué par la présence de P1											
Lez	10/12/2007	5	320	435	321	1604	Pic masqué par la présence de P1 et Trp				220	376	550	2751	230	349	355	1775					220	301	212	1059				
Lez	20/12/2007	5	320	432	110	551	Pic masqué par la présence de P1				220	374	863	4317	Pic masqué par la présence P1				290	352	132	660	220	300	311	1555				
Lez	08/01/2008	2	320	436	386	772	250	443	563	1126	220	376	332	665	Pic masqué par la présence P1								220	306	137	275				
Lez	31/01/2008	2	320	437	659	1317	250	445	935	1869	220	377	373	746									220	305	129	258				
Lez	05/02/2008	1	330	438	537	537	250	445	752	752	220	379	263	263									220	306	67	67				
Lez	19/02/2008	1	330	437	566	566	250	445	832	832	220	376	387	387									220	302	272	272	260	320	266	266
Lez	04/03/2008	1	330	437	463	463	250	444	641	641	220	378	223	223									220	301	142	142	260	316	148	148
Lez	14/04/2008	1	330	435	297	297	250	439	411	411	220	377	180	180									230	311	102	102	260	316	91	91
Lez	07/05/2008	1	340	440	680	680	250	446	886	886	220	376	690	690																
Lez	09/05/2008	1	330	437	674	674	250	444	947	947	220	374	319	319									230	313	203	203	270	320	214	214
Lez	15/05/2008	1	340	437	177	177	250	443	233	233	220	375	25	25																
Lez	22/05/2008	1	330	440	602	602	250	444	845	845	220	375	704	704																
Lez	26/05/2008	1	330	439	723	723	Sursaturé				220	376	409	409																
Lez	27/05/2008	1	340	441	777	777	Sursaturé				220	375	554	554	Pic masqué par la présence P1															
Lez	29/05/2008	1	340	443	752	752	Sursaturé				220	375	863	863																
Lez	02/06/2008	1	330	440	703	703	Sursaturé				220	375	558	558																
Lez	06/06/2008	1	340	442	737	737	250	443	968	968	220	378	280	280																
Lez	09/06/2008	1	330	439	653	653	250	445	932	932	220	376	302	302																
Lez	12/06/2008	1	340	445	779	779	Sursaturé				220	376	357	357					230	307	260	260								
Lez	16/06/2008	1	330	439	571	571	250	445	839	839	220	376	341	341																
Lez	18/06/2008	1	340	439	608	608	250	443	743	743	220	377	349	349																
Lez	24/06/2008	1	340	444	525	525	250	445	675	675	220	376	258	258																
Lez	07/07/2008	1	340	440	367	367	250	447	456	456	220	375	282	282																
Lez	26/08/2008	1	330	437	184	184	250	442	266	266	220	376	355	355									220	299	68	68				
Lez	10/09/2008	1	340	437	167	167	250	444	242	242	220	374	311	311									220	300	75	75				
Lez	22/09/2008	1	330	434	176	176	240	437	239	239	220	376	248	248									220	305	45	45				
Lez	07/10/2008	1	340	439	149	149	250	442	176	176	220	376	163	163																
Lez	13/10/2008	1	330	431	148	148	250	442	209	209	220	376	347	347									220	298	53	53				
Lez1	21/10/2008	20	330	446	58	1156	240	441	80	1607	220	374	339	6789	Leger pic masqué par P1				Leger pic masqué par P1											

Longueur d'onde d'excitation, longueur d'onde d'émission et intensité de fluorescence (intensité réelle = intensité de l'échantillon * taux de dilution) des échantillons prélevés à la source du Lez du 21/10/2008 au 22/02/2010.

(Pour une meilleure visibilité, l'absence de données pour Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2 indique que leur présence n'a pas été remarquée sur l'échantillon)

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1				PIC TRP1				PIC TRP2				PIC TYR1				PIC TYR2			
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle
Lez2	21/10/2008	10	330	444	111	1107	240	442	166	1661	220	375	672	6722																
Lez3	21/10/2008	5	330	442	89	446	240	443	132	659	220	375	322	1609																
Lez4	21/10/2008	5	330	444	84	422	240	444	125	626	220	376	246	1229	Leger pic masqué par P1															
Lez2 bis	22/10/2008	5	330	442	186	931	240	443	279	1393	220	375	896	4481																
Lez2	22/10/2008	5	330	442	158	790	240	444	235	1173	220	375	852	4261																
Lez1	22/10/2008	5	340	444	194	970	240	442	303	1517	220	375	745	3725	Leger pic masqué par P1	290	352	199	996											
Lez1	23/10/2008	10	330	445	79	795	240	443	134	1343	220	375	617	6167																
Lez2	23/10/2008	5	340	442	148	740	250	443	242	1209	220	374	863	4317																
Lez2 J+3	23/10/2008	5	330	442	142	712	240	438	198	991	220	375	694	3468																
Lez2	24/10/2008	5	330	444	128	640	250	446	196	978	220	375	468	2342																
Lez	26/10/2008	5	320	442	139	693	250	443	180	902	220	374	265	1324																
Lez	27/10/2008	5	340	444	116	578	250	445	164	818	220	376	234	1171																
Lez	29/10/2008	2	330	440	317	633	250	444	493	986	220	375	709	1418	Leger pic masqué par P1															
Lez	31/10/2008	2	330	437	331	661	250	445	512	1024	220	375	625	1249																
Lez	03/11/2008	5	330	442	210	1051	240	444	320	1599	220	374	764	3820							220	299	206	1030						
Lez	05/11/2008	5	330	443	192	959	250	446	296	1481	220	375	429	2144																
Lez	12/11/2008	5	330	442	206	1029	240	442	302	1511	220	375	950	4750							220	300	176	879						
Lez	14/11/2008	5	340	439	201	1004	250	445	275	1374	220	375	249	1243																
Lez	18/11/2008	5	340	442	156	782	250	446	221	1107	220	375	222	1110																
Lez	05/12/2008	1	340	441	558	558	240	438	753	753	220	376	694	694																
Lez	16/12/2008	5	330	436	139	695	250	449	207	1036	220	375	427	2137																
Lez	09/01/2009	5	320	436	113	566	250	445	191	953	220	376	307	1534	Leger pic masqué par P1						220	300	33	66						
Lez	16/01/2009	2	330	439	253	507	250	443	391	782	220	375	485	969	Pic masqué par la présence de P1															
Lez	28/01/2009	2	340	442	266	531	240	443	351	703	220	374	594	1189	Pic masqué par la présence de P1						220	292	72	144						
Lez	09/02/2009	2	340	442	200	400	250	444	295	590	220	375	746	1493																
Lez	26/02/2009	2	340	440	272	544	250	445	383	765	220	377	524	1049																
Lez	12/03/2009	1	330	438	474	474	240	438	674	674	220	374	378	378																
Lez	09/04/2009	1	330	437	448	448	250	446	633	633	220	374	207	207																
Lez	22/04/2009	1	330	438	605	605	250	443	891	891	220	372	488	488																
Lez	06/05/2009	1	330	439	548	548	240	442	751	751	220	375	281	281																
Lez	13/05/2009	1	330	438	515	515	250	446	717	717	220	377	201	201																
Lez	03/06/2009	1	330	438	313	313	250	443	454	454	220	373	246	246																
Lez	04/06/2009	1	330	436	422	422	250	440	558	558	220	373	418	418																
Lez	09/06/2009	1	330	436	307	307	240	441	416	416	220	374	277	277																
Lez	11/06/2009	1	330	437	277	277	250	443	398	398	220	374	254	254																
Lez	23/06/2009	1	330	437	356	356	250	444	500	500	220	374	308	308	Pic masqué par la présence de P1															
Lez	16/07/2009	1	330	437	277	277	250	443	398	398	220	374	254	254																
Lez	03/08/2009	2	320	424 (Trp2)	105	209	250	440	147	294	220	371	82	164	240	354	234	467	290	352	284	567								
Lez	25/08/2009	1	320	421 (Trp2)	274	274	250	436	308	308	220	375	166	166	240	360	325	325	290	352	483	483								
Lez	02/09/2009	1	330	431	163	163	250	442	217	217	220	374	180	180																
Lez	17/09/2009	1	340	437	187	187	250	443	249	249	220	375	191	191																
Lez	20/10/2009	1	330	437	215	215	250	444	279	279	220	375	314	314																
Lez	22/10/2009	10	320	430	47	473	Pic masqué par la présence de P1				220	370	701	7013							220	302	326	3261						
Lez	26/10/2009	5	320	434	69	346	Pic masqué par la présence de P1 et Trp				220	370	508	2540	230	341	669	3345	280	341	174	869								
Lez	29/10/2009	10	320	420	40	397	Pic masqué par la présence de P1 et Trp				220	370	300	2997	230	345	338	3381	290	352	337	3366								
Lez	16/12/2009	1	330	435	243	243	250	445	362	362	220	374	502	502																
Lez	07/01/2010	10	330	436	82	818	250	441	149	1491	220	374	209	2095																
Lez	25/01/2010	10	340	440	144	1441	250	443	213	2133	220	373	421	4214																
Lez	08/02/2010	10	340	443	46	459	250	448	83	832	220	374	340	3399																
Lez	22/02/2010	4	330	440	171	684	250	448	250	999	220	375	321	1282	Pic masqué par la présence de P1															

Longueur d'onde d'excitation, longueur d'onde d'émission et intensité de fluorescence (intensité réelle = intensité de l'échantillon * taux de dilution) des échantillons prélevés à la source du Lez du 11/03/2010 au 14/02/2012.

(Pour une meilleure visibilité, l'absence de données pour Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2 indique que leur présence n'a pas été remarquée sur l'échantillon)

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1				PIC TRP1				PIC TRP2				PIC TYR1				PIC TYR2				
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	
Lez	11/03/2010	5	330	437	118	592	250	440	178	890	220	373	237	1184					220	304	97	483									
Lez	22/03/2010	4	330	438	149	597	240	434	245	982	220	373	492	1968	230	347	483	1932	280	348	169	677									
Lez	07/04/2010	3	330	439	164	492	240	440	290	869	220	375	379	1136	Pic important masqué par P1				280	345	145	435	Pic masqué par la présence de P1 et Trp1								
Lez	20/04/2010	1	330	436	431	431	240	439	705	705	220	375	730	730	Leger pic masqué par P1								220	298	233	233					
Lez	03/05/2010	2	330	437	217	434	250	443	380	759	220	376	607	1213									220	298	207	413	270	318	125	249	
Lez	12/05/2010	2	340	440	194	388	250	445	338	677	220	376	697	1393																	
Lez	20/05/2010	5	330	438	91	457	Pic masqué par la présence de Trp				220	372	631	3155	230	359	791	3955	280	352	329	1644									
Lez	27/05/2010	1	320	433	440	440	240	438	725	725	220	378	634	634									220	300	311	311					
Lez	10/06/2010	1	330	438	297	297	250	441	510	510	220	375	692	692																	
Lez	29/06/2010	10	340	437	26	257	240	444	42	419	220	373	111	1111																	
Lez	12/07/2010	1	340	438	217	217	250	442	359	359	220	376	558	558									220	304	77	77					
Lez	26/07/2010	1	340	439	165	165	250	443	285	285	220	375	611	611									220	301	86	86					
Lez	25/08/2010	1	330	432	144	144	240	436	238	238	220	375	452	452									220	305	79	79					
Lez	30/09/2010	1	330	438	443	443	250	444	754	754	220	376	955	955																	
Lez	18/10/2010	2	330	441	224	449	240	446	422	843	220	376	577	1153																	
Lez	04/11/2010	2	330	438	333	665	240	439	521	1041	Sursaturé																				
Lez	06/12/2010	2	330	439	299	598	250	446	525	1051	220	375	784	1568																	
Lez	20/12/2010	2	330	437	250	500	250	445	412	824	220	376	815	1629	Pic léger masqué par la présence de P1								220	291	169	338					
Lez	04/01/2011	5	320	429	136	680	240	437	268	1341	220	375	578	2889	Leger pic masqué par P1								220	301	199	993	270	318	104	521	
Lez	17/01/2011	2	330	437	267	535	240	445	475	950	220	374	810	1620																	
Lez	31/01/2011	2	330	437	209	417	240	441	375	749	220	376	567	1135	Pic masqué par la présence de P1								Pic masqué par la présence de P1								
Lez	14/02/2011	1	330	436	354	354	250	443	627	627	220	375	557	557																	
Lez	28/02/2011	1	330	437	345	345	250	442	616	616	220	376	740	740									230	312	141	141					
Lez	28/02/2011	1	330	438	334	334	250	445	594	594	220	375	733	733																	
Lez	14/03/2011	8	330	441	43	341	240	438	79	629	220	375	311	2485									220	311	57	460					
Lez	14/03/2011	8	330	437	81	644	240	446	149	1189	220	374	424	3390																	
Lez	17/03/2011	8	330	439	84	671	240	445	159	1268	220	375	565	4516																	
Lez	17/03/2011	8	330	441	94	756	240	446	174	1388	220	374	464	3710	Pic léger masqué par la présence de P1																
Lez	21/03/2011	5	330	441	144	720	240	444	248	1238	220	374	421	2104																	
Lez	28/03/2011	5	320	433	92	460	240	441	167	836	220	376	330	1652																	
Lez	11/04/2011	2	330	441	144	288	240	444	248	495	220	374	421	841																	
Lez	26/04/2011	1	330	435	301	301	250	440	533	533	220	376	622	622	Pic léger masqué par la présence de P1																
Lez	23/05/2011	1	330	434	234	234	240	449	411	411	220	375	919	919	Pic masqué par la présence de P1								220	299	231	231					
Lez	07/06/2011	1	320	428	252	252	240	436	418	418	220	377	500	500									220	300	153	153	270	318	166	166	
Lez	20/06/2011	1	320	429	243	243	250	442	408	408	220	374	521	521									220	298	191	191	260	306	154	154	
Lez	04/07/2011	1	340	438	174	174	250	441	300	300	220	374	441	441																	
Lez	18/07/2011	1	340	440	164	164	250	444	257	257	220	374	573	573																	
Lez	01/08/2011	1	320	426	195	195	240	431	310	310	220	375	527	527																	
Lez	29/08/2011	1	330	432	123	123	250	439	207	207	220	376	455	455									230	307	138	138	270	318	95	95	
Lez	12/09/2011	1	340	440	175	175	240	449	316	316	220	375	785	785																	
Lez	04/10/2011	1	320	429	166	166	240	433	272	272	220	377	538	538									220	299	143	143	260	306	106	106	
Lez	18/10/2011	1	320	426	195	195	240	431	310	310	220	375	527	527									230	307	138	138	270	301	129	129	
Lez	02/11/2011	5	330	437	80	400	240	449	145	725	220	375	580	2901																	
Lez	15/11/2011	10	330	438	90	898	240	449	176	1760	220	374	389	3888																	
Lez	29/11/2011	5	330	441	127	635	250	448	218	1092	220	377	176	882	Absence absolu								Absence absolu								
Lez	14/12/2011	1	340	444	481	481	250	444	708	708	220	375	789	789	Absence absolu								Absence absolu								
Lez	05/01/2012	1	330	438	311	311	250	447	552	552	220	376	677	677																	
Lez	17/01/2012	1	330	438	264	264	250	445	461	461	220	375	479	479																	
Lez	01/02/2012	1	320	434	298	298	240	434	498	498	220	376	799	799									Sursaturé				Sursaturé				
Lez	14/02/2012	1	330	433	261	261	250	443	367	367	220	376	572	572									230	304	84	84					

Longueur d'onde d'excitation, longueur d'onde d'émission et intensité de fluorescence (intensité réelle = intensité de l'échantillon * taux de dilution) des échantillons prélevés à la source du Lez du 01/03/2012 au 15/05/2014.

(Pour une meilleure visibilité, l'absence de données pour Trp1, Trp2, Tyr1 et Tyr2 indique que leur présence n'a pas été remarquée sur l'échantillon)

Site	Date	Dilution	PIC H1				PIC H2				PIC P1				PIC TRP1				PIC TRP2				PIC TYR1				PIC TYR2			
			Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle	Excitation	Emission	Intensité	Int. Réelle
Lez	01/03/2012	1	330	433	231	231	250	443	376	376	220	375	604	604																
Lez	12/03/2012	1	330	433	220	220	250	441	358	358	220	377	514	514								230	301	134	134	260	306	111	111	
Lez	27/03/2012	1	330	434	198	198	250	441	313	313	220	376	463	463																
Lez	15/05/2012	1	340	443	303	303	250	444	520	520	220	376	614	614																
Lez	11/07/2012	1	330	437	283	283	250	441	439	439	220	373	329	329																
Lez	25/07/2012	1	330	432	220	220	250	442	323	323	220	374	285	285																
Lez	28/09/2012	1	330	433	143	143	Pic masqué par la présence de Trp				220	373	194	194																
Lez	08/10/2012	1	340	439	191	191	250	444	302	302	220	374	328	328																
Lez	29/10/2012	1	330	437	403	403	250	446	637	637	220	374	718	718																
Lez	15/11/2012	5	330	437	151	755	Pic masqué par la présence de Trp et P1				220	374	420	2098	Pic important masqué par P1				280	357	419	2097								
Lez	18/12/2012	1	320	428	583	583	250	444	861	861	220	374	649	649																
Lez	07/01/2013	1	330	438	477	477	250	444	748	748	220	374	430	430																
Lez	07/02/2013	1	330	436	496	496	250	444	642	642	220	375	423	423																
Lez	19/02/2013	1	330	440	429	429	250	444	646	646	220	375	305	305																
Lez	05/03/2013	1	330	435	380	380	250	441	569	569	220	375	228	228																
Lez	06/03/13 Matin	1	330	438	581	581	250	443	860	860	220	379	960	960																
Lez	06/03/13 16h30	1	330	439	557	557	250	443	737	737	Sursaturé																			
Lez	07/03/2013	10	330	440	60	598	Pic masqué par la présence de Trp				Pic masqué par la présence de Trp				240	348	986	9858	280	354	584	5845								
Lez	08/03/2013	2	340	442	277	553	240	449	438	876	220	374	781	1561	Absence absolu				Absence absolu											
Lez	09/03/2013	1	330	438	495	495	250	444	740	740	220	374	492	492																
Lez	11/03/2013	1	330	438	559	559	250	445	847	847	220	375	891	891																
Lez	13/03/2013	5	330	439	116	578	250	443	177	885	220	373	256	1282																
Lez	13/03/2013	2	330	441	298	596	250	446	416	831	220	374	541	1082																
Lez	19/03/2013	40	320	438	19	779	Pic masqué par la présence de Trp				Pic masqué par la présence de Trp				Sursaturé				Sursaturé											
Lez	16/04/2013	1	330	438	479	479	250	448	706	706	220	375	443	443																
Lez	30/04/2013	1	330	440	382	382	250	444	566	566	220	376	348	348																
Lez	15/05/2013	1	330	435	421	421	240	436	654	654	220	373	537	537	230	345	933	933	280	347	427	427	230	292	171	171				
Lez	27/05/2013	1	330	441	341	341	250	444	500	500	220	375	266	266	Pic léger masqué par la présence de P1															
Lez	17/06/2013	1	330	437	323	323	240	437	482	482	220	373	412	412	Pic masqué par la présence de P1															
Lez	02/07/2013	1	330	435	270	270	250	442	412	412	220	375	276	276																
Lez	16/07/2013	1	330	436	259	259	250	443	393	393	220	374	394	394																
Lez	04/09/2013	1	330	434	157	157	250	443	223	223	220	374	192	192																
Lez	05/11/2013	1	330	440	412	412	250	443	614	614	220	374	458	458	Pic masqué par la présence de P1															
Lez	20/11/2013	1	330	443	515	515	250	447	780	780	220	374	405	405	Pic léger masqué par la présence de P1															
Lez	04/12/2013	1	330	439	541	541	250	449	813	813	220	375	416	416																
Lez	17/12/2013	1	330	440	421	421	250	446	630	630	220	374	266	266																
Lez	09/01/2014	1	330	441	539	539	250	444	748	748	220	372	686	686																
Lez	21/01/2014	5	330	439	132	660	240	442	219	1097	220	374	536	2681																
Lez	21/01/2014	1	330	437	660	660	Sursaturé				Sursaturé																			
Lez	05/02/2014	4	330	438	152	610	240	447	253	1013	220	379	233	932																
Lez	05/02/2014	1	340	440	615	615	250	442	959	959	220	373	576	576																
Lez	18/02/2014	1	340	440	584	584	250	447	901	901	220	374	524	524																
Lez	03/03/2014	1	330	437	489	489	250	445	771	771	220	374	443	443																
Lez	17/03/2014	1	330	436	434	434	240	435	708	708	220	374	473	473	Pic léger masqué par la présence de P1				230	294	145	145	270	320	151	151				
Lez	01/04/2014	1	330	441	310	310	250	447	464	464	220	373	323	323																
Lez	22/04/2014	1	330	436	278	278	250	445	430	430	220	373	307	307	Pic léger masqué par la présence de P1				290	338	289	0	280	310	215	0				
Lez	22/04/2014	1	330	436	278	278	250	450	452	452	220	375	498	498	Pic léger masqué par la présence de P1				290	335	660	0	Pic masqué par la présence de Trp2							
Lez	29/04/2014	1	320	429	268	268	250	440	417	417	220	375	234	234																
Lez	06/05/2014	1	330	434	263	263	250	443	379	379	220	373	204	204																
Lez	14/05/2014	1	330	433	219	219	250	443	324	324	220	374	232	232																

Annexe n°6

Matrice MEE de l'optique Fluoresceine.

Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.

	420	430	440	450	460	470	480	490	500	510	520
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
510	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
520	0	0	10	56	104	139	68	18	0	0	0
530	0	0	77	441	819	1102	538	143	1	0	0
540	0	0	180	1035	1922	2585	1262	336	2	0	0
550	0	0	280	1610	2991	4023	1964	523	3	0	0
560	0	0	344	1979	3676	4945	2414	643	4	0	0
570	0	0	389	2241	4162	5599	2733	728	4	0	0
580	0	0	426	2455	4559	6134	2994	797	5	0	0
590	0	0	459	2645	4913	6609	3226	859	5	0	0
600	0	0	489	2817	5231	7037	3435	914	6	0	0
610	0	0	513	2953	5484	7378	3601	959	6	0	0
620	0	0	533	3070	5700	7669	3743	997	6	0	0
630	0	0	551	3172	5890	7924	3868	1030	6	0	0
640	0	0	567	3269	6071	8168	3987	1061	6	0	0
650	0	0	585	3372	6262	8424	4112	1095	7	0	0
660	0	0	605	3485	6471	8706	4250	1131	7	0	0
670	0	0	626	3607	6698	9011	4399	1171	7	0	0
680	0	0	648	3736	6938	9334	4556	1213	7	0	0
690	0	0	672	3870	7187	9669	4720	1256	8	0	0
700	0	0	695	4003	7433	10000	4881	1299	8	0	0

Matrice MEE de l'optique Rhodamine.

Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.

	450	460	470	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580
580	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
590	0	24	61	143	381	856	1341	1309	935	240	69	12	1	0
600	0	98	249	583	1550	3484	5458	5325	3806	976	280	49	5	0
610	0	151	386	905	2406	5406	8469	8263	5905	1515	434	76	8	0
620	0	171	437	1023	2722	6116	9581	9348	6681	1714	491	86	9	0
630	0	179	455	1066	2836	6372	9982	9740	6960	1785	512	90	9	0
640	0	176	449	1053	2801	6293	9859	9619	6874	1763	505	89	9	0
650	0	165	421	986	2623	5894	9232	9008	6437	1651	473	83	8	0
660	0	143	364	852	2266	5093	7978	7784	5563	1427	409	72	7	0
670	0	108	275	644	1712	3847	6026	5880	4202	1078	309	54	5	0
680	0	60	153	358	952	2139	3350	3269	2336	599	172	30	3	0
690	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Matrice MEE de l'optique Naphtionate.

*Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.*

	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	410
390	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	0	1	2	3	7	17	40	68	77	68	19	3	0	0
410	0	0	1	1	3	6	14	33	55	63	55	16	3	0	0
420	0	1	1	2	5	10	25	57	97	111	97	27	4	0	0
430	0	3	6	14	28	57	143	328	557	638	557	157	25	1	0
440	0	12	23	49	102	206	515	1185	2011	2301	2010	567	91	2	0
450	0	22	45	95	197	399	999	2297	3900	4462	3897	1099	177	4	0
460	0	32	64	137	284	574	1435	3301	5604	6411	5600	1579	254	5	0
470	0	41	82	174	361	731	1828	4205	7139	8168	7134	2011	323	7	0
480	0	47	94	201	416	843	2108	4847	8230	9415	8223	2318	373	8	0
490	0	50	100	213	441	893	2233	5137	8721	9977	8714	2457	395	8	0
500	0	49	98	209	434	878	2194	5046	8567	9801	8561	2413	388	8	0
510	0	45	89	191	396	801	2001	4603	7815	8941	7809	2202	354	7	0
520	0	37	74	158	327	662	1655	3807	6464	7395	6459	1821	293	6	0
530	0	27	54	114	237	480	1199	2758	4683	5357	4679	1319	212	4	0
540	0	16	33	70	145	293	731	1682	2856	3267	2854	804	129	3	0
550	0	8	16	34	70	141	353	813	1380	1579	1379	389	62	1	0
560	0	3	6	13	28	56	141	325	551	631	551	155	25	1	0
570	0	1	1	3	6	13	31	72	123	141	123	35	6	0	0
580	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Matrice MEE de l'optique Turbidité

*Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.*

	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700	710
580	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
590	0	2	211	975	1341	1071	289	84	15	2	0
600	0	9	861	3967	5458	4359	1175	344	61	6	0
610	0	14	1335	6155	8469	6765	1823	533	95	10	0
620	0	15	1511	6964	9581	7653	2063	603	107	11	0
630	0	16	1574	7255	9982	7973	2149	628	112	11	0
640	0	16	1554	7165	9859	7875	2123	621	110	11	0
650	0	15	1456	6710	9232	7374	1988	581	103	10	0
660	0	13	1258	5798	7978	6373	1718	502	89	9	0
670	0	10	950	4380	6026	4813	1297	379	67	7	0
680	0	5	528	2435	3350	2676	721	211	37	4	0
690	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Matrice MEE de la première optique Protéique.

*Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.*

	225	230	235	240	245	250	255	260	265	270
240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
250	0	2	21	79	82	36	13	5	1	0
260	0	12	133	514	532	237	83	30	6	0
270	0	28	315	1217	1259	559	196	70	14	0
280	0	48	544	2103	2175	967	338	121	24	0
290	0	69	776	3000	3103	1379	483	172	34	0
300	0	85	961	3717	3845	1709	598	214	43	0
310	0	101	1136	4393	4545	2020	707	252	50	0
320	0	119	1342	5188	5367	2385	835	298	60	0
330	0	140	1572	6077	6287	2794	978	349	70	0
340	0	161	1814	7016	7258	3226	1129	403	81	0
350	0	181	2033	7861	8133	3614	1265	452	90	0
360	0	197	2211	8550	8844	3931	1376	491	98	0
370	0	195	2194	8483	8775	3900	1365	488	98	0
380	0	140	1580	6108	6318	2808	983	351	70	0
390	0	40	447	1728	1787	794	278	99	20	0
400	0	2	19	73	75	34	12	4	1	0
410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Matrice MEE de la nouvelle optique Protéique.

*Longueur d'onde d'excitation (nm) en rouge, longueur d'onde d'émission (nm) en bleu, intensité de la mesure (%*100) en dégradé de vert.*

	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310
240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
250	0	1	11	64	82	36	11	4	1	0
260	0	6	71	414	532	237	71	24	8	0
270	0	14	168	979	1259	559	168	56	19	0
280	0	24	290	1692	2175	967	290	97	32	0
290	0	34	414	2414	3103	1379	414	138	46	0
300	0	43	513	2991	3845	1709	513	171	57	0
310	0	50	606	3535	4545	2020	606	202	67	0
320	0	60	716	4174	5367	2385	716	239	79	0
330	0	70	838	4890	6287	2794	838	279	93	0
340	0	81	968	5645	7258	3226	968	323	107	0
350	0	90	1084	6325	8133	3614	1084	361	120	0
360	0	98	1179	6879	8844	3931	1179	393	131	0
370	0	98	1170	6825	8775	3900	1170	390	130	0
380	0	70	842	4914	6318	2808	842	281	93	0
390	0	20	238	1390	1787	794	238	79	26	0
400	0	1	10	59	75	34	10	3	1	0
410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0