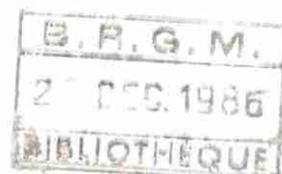


MINISTÈRE CHARGÉ DE L'ENVIRONNEMENT
SERVICE DE LA RECHERCHE DES ÉTUDES ET DU TRAITEMENT
DE L'INFORMATION SUR L'ENVIRONNEMENT (SRETIE)



apports de la biogéochimie isotopique
à la connaissance de la dénitrification
dans les eaux souterraines





BRGM

MINISTÈRE CHARGÉ DE L'ENVIRONNEMENT
SERVICE DE LA RECHERCHE DES ÉTUDES ET DU TRAITEMENT
DE L'INFORMATION SUR L'ENVIRONNEMENT (SRETIE)

**apports de la biogéochimie isotopique
à la connaissance de la dénitrification
dans les eaux souterraines**

Université Pierre-et-Marie-Curie - Paris VI
Thèse de 3^e cycle - géologie dynamique

B. Simon

novembre 1986
86 SGN 641 EAU

BUREAU DE RECHERCHES GÉOLOGIQUES ET MINIÈRES
SERVICE GÉOLOGIQUE NATIONAL

Département Eau
B.P. 6009 - 45060 ORLÉANS CEDEX 2 - Tél.: 38.64.34.34

R E S U M E

Actuellement, bon nombre d'aquifères libres sont contaminés par les nitrates. Certains captages exploitant ces ouvrages délivrent des eaux dépassant (ou en passe de dépasser) la norme de potabilité de 50 mg/l de nitrates.

On observe cependant dans certains contextes hydrogéologiques des teneurs en nitrates plus faibles que celles auxquelles on pourrait s'attendre compte-tenu de l'environnement et de nos connaissances sur le transfert de l'eau dans le sous-sol.

En considérant que la source de nitrates existe, l'abaissement de teneur par rapport au niveau de concentration attendu peut s'expliquer essentiellement par :

- l'assimilation par la végétation de l'ion nitrate au cours de son transfert vers la nappe,
- la dilution des concentrations au sein de l'aquifère par une eau à faible teneur,
- la dénitrification (transformation -essentiellement par voie biochimique- du nitrate en azote gazeux).

L'objet de l'étude décrite est de déterminer à partir d'observations faites sur le terrain, l'origine de la diminution des concentrations observées et les causes.

Trois sites ont fait l'objet d'une étude approfondie :

- la nappe alluviale plaine de l'Ain,
- la nappe des calcaires de l'Eocène en Brie,
- la nappe de la craie du nord de la France.

.../...

Nappe alluviale de la plaine de l'Ain :

La diminution des teneurs en nitrate observée après passage de la nappe sous un bois a été attribuée à une assimilation par les arbres. Les conditions hydrogéologiques ne permettant pas d'envisager une dilution et les valeurs du δ isotopique $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ excluent une possibilité de dénitrification.

Nappe des calcaires de Champigny et des niveaux aquifères inférieurs :

En nappe libre, que ce soit dans la formation de Brie ou dans le calcaire de Champigny, les concentrations en nitrates sont supérieures à 50 mg/l pour les points d'eau étudiés. Par contre, en nappe captive ou semi-captive, ce taux se situe aux alentours de 20 mg/l. Cette teneur est due à une dilution entre des eaux à l'origine peu chargées (environ 5 mg/l) et des eaux contaminées provenant des niveaux aquifères supérieurs.

Nappe de la craie du Nord de la France à l'interface libre-captif :

Les observations faites sur la craie du Nord de la France ont par contre mis en évidence un phénomène "d'autoépuration" de la nappe captive. D'une manière générale, la nappe libre de la craie qui alimente en grande partie la nappe captive se caractérise par des teneurs élevées en nitrates (souvent supérieures à 50 mg/l). Dès que l'aquifère devient captif, les concentrations chutent rapidement à des valeurs inférieures à 5 mg/l, voire proche de zéro. Compte-tenu de la piézométrie qui définit les sens d'écoulement de l'eau, des importants débits exploités et du tritium détecté sur l'eau de ces ouvrages à faible teneur en nitrates, il ne fait aucun doute que celles-ci sont récentes et proviennent de la nappe libre.

Lorsqu'on dispose de suffisamment d'ouvrages situés à proximité de la limite de captivité, on constate que ces brusques diminutions de concentration s'effectuent sur de très courtes distances. Ainsi sur une distance de 600 mètres, on a observé sur deux points reliés hydrodynamiquement entre eux une chute de 60 mg/l.

L'explication à ceci est l'existence de phénomènes de dénitrification (très certainement d'origine bactériens) dont serait le siège la nappe captive en raison entre autre du caractère réducteur de l'aquifère. Les valeurs mesurées du δ isotopique N15/N14 permettent de corroborer cette hypothèse.

Si l'on considère une réaction simple unidirectionnelle, le calcul prévoit que l'évolution du δ 15N du substrat de cette réaction, soit δ est une fonction simple rapport Q/Q_0 , où Q est la quantité (ou la concentration du substrat) au temps t , Q_0 celle au temps 0, avant que la dénitrification ne débute. Si δ_0 est la composition du substrat à $t = 0$, on a :

$$\delta = \delta_0 + \epsilon \ln (Q/Q_0)$$

Le δ 15N du substrat au cours de la réaction évolue donc proportionnellement au logarithme de sa fraction qui n'a pas réagi (Q/Q_0) et le facteur de proportionnalité, ϵ , est une grandeur importante : c'est le coefficient d'enrichissement isotopique de la réaction, lui-même lié de façon simple au rapport des constantes de vitesse des deux espèces isotopiques. En Géochimie isotopique, cette relation est classiquement dite de Rayleigh. A MARIOTTI a montré que dans les sols, cette réaction théorique s'applique à des processus de dénitrification naturelle. Il a été également observé dans le cadre du travail présenté que là où il était également susceptible de tels phénomènes, cette relation s'appliquait bien.

En nappe libre, les rapports isotopiques sont compris dans leur grande majorité entre + 5 et 10 % indiquant comme origine un mélange entre des nitrates provenant de l'usage des fertilisants minéraux azotés et des nitrates provenant de rejets organiques. Sur les points d'eau à proximité de la limite de captivité et pour lesquels on note une diminution des nitrates, les δ isotopiques s'élèvent à des valeurs comprises entre + 11 et + 30 ‰ selon les ouvrages. Ceci est caractéristique d'un phénomène de dénitrification. Le coefficient d'enrichissement se situe entre -5 et -7 ‰.

Les causes de cette dénitrification ont été recherchées. Les examens bactériologiques effectués sur la formation aquifère (alluvions et craie) et les déterminations minéralogiques et chimiques faites sur le milieu encaissant (présence notable de carbone organique et de sulfures) indiquent une origine biologique due à l'activité de bactéries dénitrifiantes hétérotrophes et autotrophes. Les mesures faites n'ont pas permis de déterminer si l'un des types d'activité dénitrifiante était prépondérant par rapport à l'autre.

La question que l'on peut se poser concerne les raisons pour lesquelles on observe une dénitrification dans la nappe captive de la craie du Nord de la France alors que dans celle des calcaires de Saint-Ouen en Ile de France, on ne note pas ce phénomène.

Les résultats opposés présentés dans les deux situations peuvent s'expliquer par le fait que les circulations d'eau sont beaucoup plus rapides dans le milieu calcaire fissuré que dans la craie. On peut penser que le développement d'une flore bactérienne dénitrifiante nécessite des temps de contacts plus lents avec l'eau et surtout la présence de nombreux sites de fixation. Ces principales conditions se trouvent à priori mieux réunies dans un milieu poreux tel que la craie du Nord de la France.

Ce travail a reçu l'appui financier :

- du Ministère de la Recherche et de l'Industrie,
- du Ministère de l'Environnement, Service de la Recherche, des Etudes et du Traitement de l'Information sur l'Environnement (SRETIE)

. contrat 84 234

. contrat 84 304

REMERCIEMENTS

Au terme de cette recherche, je tiens à exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui, de près ou de loin, se sont senties concernées et ont participé d'une façon ou d'une autre à la parution de ce travail.

Mes remerciements s'adressent à :

- M. R. Létolle, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour avoir accepté de présider ce Jury
- M. A. Mariotti, Directeur du Laboratoire associé INRA "Biogéochimie des isotopes stables", qui m'a proposé ce sujet. Il m'a aidé de ses conseils, a contribué à l'élaboration de ce travail et a bien voulu me consacrer une partie de son temps
- M. A. Landreau, Ingénieur au Service Géologique National (BRGM), qui a suivi le cheminement de cette étude et a accepté de la juger.
- M. G. Martin, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes,
- M.J.C. Germon, Directeur de Recherche à l'INRA de Dijon,
- M. P. Caulier, Ingénieur Hydrogéologue au Service Géologique Régional Nord-Pas-de-Calais (BRGM),

pour s'être intéressés à ce travail et avoir consenti à le juger.

Je remercie vivement l'équipe de l'Institut d'Hydrologie et Climatologie dirigée par M.A. Chesterikoff, et particulièrement :

- Mmes C. Chesterikoff, A.M. Caru, B. Garban

qui ont effectué les nombreuses analyses chimiques,

- M.A. Bianchi, M.J. Garcin et Melle P. Rault,

pour la réalisation de l'étude bactériologique,

- M.F. Mélières qui a effectué les analyses diffractométriques
- M.G. Brossier, (BRGM), pour son aide efficace et sa bonne humeur.

Je tiens tout particulièrement à exprimer ma reconnaissance à

- Mmes J. Guillemot, M. Grably

pour m'avoir si patiemment initiée aux techniques isotopiques et pour leur aide efficace, ainsi qu'à :

- Melle I. Grateloup

pour s'être intéressée de très près à cette étude. Puissent ces quelques mots leur témoigner de mon amitié.

Enfin, je ne peux et surtout ne veux oublier de remercier :

- Melles N. Blaison, D. Champagnat, B. Gaveau

- MM. C Préaux, S Bailly, F. Pernel

pour leur aide amicale.

Je remercie la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (DGRST) pour l'apport financier.

La dactylographie a été réalisée par le Service de traitement de textes du BRGM.

SOMMAIRE

	Page
I - LA DENITRIFICATION : ETAPE DU CYCLE DE L'AZOTE	1
I.1 - La dénitrification chimique	1
I.2 - La dénitrification biologique	3
II - METHODES D'IDENTIFICATION DE LA DENITRIFICATION - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	11
II.1 - Méthode hydrogéochimique	11
II.2 - Méthode basée sur la sursaturation en azote moléculaire dissous	18
II.3 - Méthode isotopique	21
3.1 - Rappels sur les notations isotopiques	21
3.2 - Effets isotopiques associés au phénomène de dénitrification	22
3.3 - Illustration de ces effets isotopiques	25
III - APPLICATION DU TRAÇAGE ISOTOPIQUE SUR L'ION NITRATE A LA CARACTERISATION DE LA DENITRIFICATION, SUR L'EXEMPLE DE QUELQUES AQUIFERES SOUTERRAINS EN FRANCE	31
III.1 - Processus à l'origine de la disparition des nitrates	32
1.1 - Assimilation	32
1.2 - Dilution	34
1.3 - Dénitrification	36
III.2 - Mesure du fractionnement isotopique au cours du processus de dénitrification biologique en milieu aqueux	41
2.1 - Station de dénitrification de Château-Landon (SLEE)	41
2.2 - Pilote de dénitrification in situ de Messac (Bretagne)	43
III.3 - Etude de quelques aquifères souterrains par le traçage isotopique naturel en ^{15}N	47
3.1 - La plaine de l'Ain	47
3.2 - La nappe du calcaire de Champigny	52
3.3 - La nappe de la craie dans le nord de la France	60
CONCLUSIONS	133

	Page
BIBLIOGRAPHIE	141
ANNEXES	149
Annexe 3 - Méthodes d'analyse isotopique en ¹⁵N	151
Annexe 4 - Méthodes d'analyse bactériologique	159
Annexe 5 - Méthodes analytiques utilisées	163

LA DENITRIFICATION : ETAPE DU CYCLE DE L'AZOTE

La dénitrification, étape importante du cycle de l'azote, est une réduction du nitrate en milieu à potentiel rédox faible.

Le terme "dénitrification" recouvre plusieurs processus biologiques ou chimiques, que nous nous proposons, dans un premier temps, de préciser.

1.1 - LA DENITRIFICATION CHIMIQUE

La dénitrification chimique, processus excluant l'activité de microorganismes, repose pour l'essentiel sur l'instabilité et la réactivité des sels de l'acide nitreux en milieu acide.

Cette réduction implique la présence de conditions anoxiques dans le milieu et celle d'éléments réducteurs à potentiel bas (inférieur à + 350 mV).

Martin et al. (1985), dans une récente synthèse bibliographique, examinent la possibilité de réduction de l'ion nitrate par des réducteurs usuels tels que le fer et le soufre.

Chao et Krootje (1966) montrent qu'en milieu basique, l'hydroxyde ferreux peut réduire NO_3^- en NO, N_2O et N_2 .

Dans le sol, **Chalamet (1973)** puis **Chalamet et Bardin (1977)** examinent la réduction de l'acide nitreux par le fer ferreux, en milieu acide. Ils observent simultanément le dégagement de N_2 et de N_2O , conformément aux réactions (1) ou (2).



Chalamet (1973) met en évidence dans l'eau la réduction totale de NO_2^- par Fe^{2+} en 24 heures et montre que l'augmentation du rapport $\text{Fe}^{2+}/\text{NO}_2^-$ favorise le dégagement de N_2O , donc la réduction de NO selon l'équation (2).

De nombreux auteurs, dont **Gunderloy et al., (1968, 1970)**, **Young (1964)**, **Buresh et Moraghan (1976)** ont étudié la réduction de l'ion nitrate en NH_4^+ et ont observé que la présence de catalyseurs comme Cu^{2+} , Ag^+ parfois en concentration relativement élevée, était nécessaire.

Buresh et Moraghan (1976), reprenant les expériences de Gunderloy (1968) au cours desquelles l'auteur rend compte de la réduction de NO_3^- par Fe^{2+} en milieu initialement basique et en présence de Cu^{2+} comme catalyseur, réduction qui après incubation se traduit par une perte d'azote sous forme gazeuse (N_2O ou N_2), mettent en évidence l'effet du pH sur les bilans d'azote (figure 1).

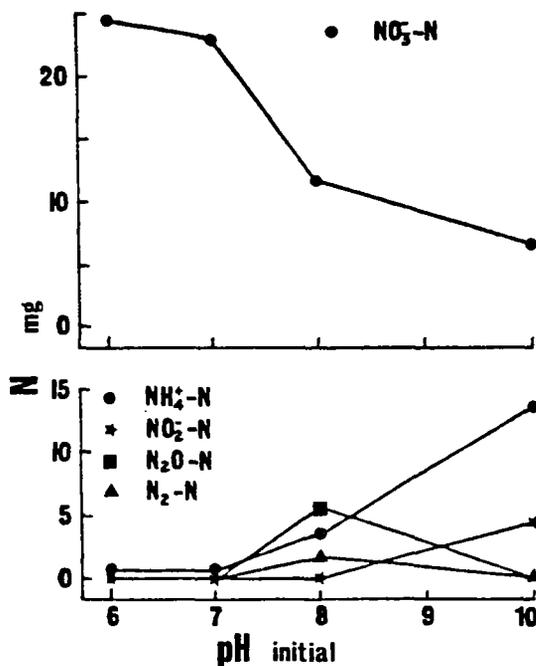
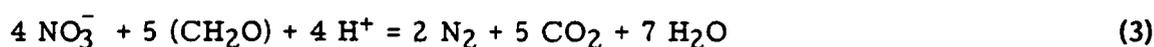


Figure 1 - Effet du pH initial sur la stabilité de NO_3^- dans un milieu contenant initialement 5 mg de Cu^{2+} , 25 mg N-NO_3^- et 800 mg de Fe^{2+} après 24 h d'incubation sous atmosphère d'Hélium (reproduit de Buresh et Moraghan, 1976)

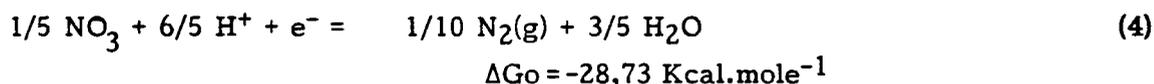
Ghoshal et Larson (1977) reprenant les travaux de Chao et Kroontje (1966), estiment que dans un sol réducteur, Fe^{2+} , FeS et Mn^{2+} sont capables de réduire les nitrates en NO , N_2O et N_2 et que l'efficacité de ces différents éléments pour la réduction de NO_3^- décroît respectivement du fer ferreux au manganèse.

I.2 - LA DENITRIFICATION BIOLOGIQUE

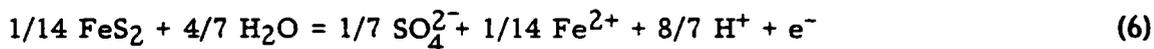
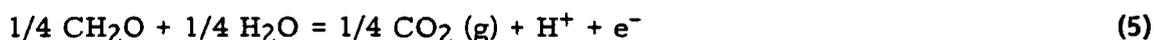
La dénitrification biologique sensu-stricto est la réduction de l'azote nitrique (degré d'oxydation + 5) à l'état d'azote gazeux N_2 (degré d'oxydation 0) ou N_2O , par l'intervention de microorganismes bactériens anaérobies facultatifs ; c'est le mécanisme principal de restitution de l'azote du sol à l'atmosphère sous forme d'azote moléculaire. C'est donc un phénomène respiratoire dans lequel le nitrate en anaérobiose au moins partielle, remplace l'oxygène dans le processus d'oxydation de la matière organique du milieu (dénitrification hétérotrophique), selon la réaction (3), où (CH_2O) symbolise la matière organique :



En terme de potentiel d'oxydo-réduction la dénitrification est une demi-réaction rédox (4) à laquelle correspond un potentiel rédox de 746 mV et une activité de l'électron $p_e = 12,65$ ($p_e = -\log e^-$) pour une eau de pH 7 dans laquelle les activités respectives des oxydants et des réducteurs sont égales à l'unité (Stumm & Morgan, 1981 ; Morel, 1983).



L'autre demi-réaction rédox fait intervenir un élément réducteur. Ce donneur d'électrons est soit la matière organique (5), soit un composé minéral réduit, par exemple un sulfure (6).



Les demi-réactions rédox (5) et (6) sont respectivement catalysées par des bactéries hétérotrophes ou chimiolithotrophes.

Le tableau I d'après Stumm et Morgan (1981), Champ et al. (1979) présente la séquence des différents processus rédox intervenant dans un système clos vis-à-vis de l'entrée de nouvelles espèces oxydées, et dans lequel existe un excès de carbone organique (par exemple un aquifère souterrain confiné).

REDUCTION	ΔG° (kcal.mole ⁻¹)	Eh(w) (mV)	pe°(w)
(A) $1/4O_2 + H^+ + e^- = 1/2H_2O$	- 28,35	813	13,75
(B) $1/5NO_3^- + 6/5H^+ + e^- = 1/10N_2 + 3/5H_2O$	- 28,73	746	12,65
(C) $1/2MnO_2 + 2H^+ + e^- = 1/2Mn^{2+} + H_2O$	- 28,24	396	6,71
(D) $1/8NO_3^- + 5/4H^+ + e^- = 1/8NH_4^+ + 3/8H_2O$	- 20,32	363	6,15
(E) $Fe(OH)_3 + 3H^+ + e^- = Fe^{2+} + 3H_2O$	- 24,37	- 185	- 3,14
(F) $1/8 SO_4^{2-} + 9/8H^+ + e^- = 1/8HS^- + 1/2H_2O$	- 5,80	- 214	- 3,75
(G) $1/8CO_2 + H^+ + e^- = 1/8CH_4 + 1/4H_2O$	- 3,91	- 244	- 4,13
OXYDATION			
(2) $1/4CH_2O + 1/4H_2O = 1/4CO_2 + H^+ + e^-$	- 1,64	- 484	- 8,20
PROCESSUS REDOX		$\Delta G^\circ(w)^a$	
Respiration aérobie (2)+(A) : $CH_2O + O_2 = CO_2 + H_2O$		- 120,0 (6)	
Dénitrification (2)+(B) : $CH_2O + 4/5NO_3^- + 4/5H^+ = CO_2 + 2/5N_2 + 7/5H_2O$		- 113,9 (4)	
Réduction de Mn(IV) (2)+(C) : $CH_2O + 2MnO_2 + 4H^+ = 2Mn^{2+} + 3H_2O + CO_2$		- 81,3 (7)	
Réduction de Fe(III) (2)+(E) : $CH_2O + 4Fe(OH)_3 + 8H^+ = 4Fe^{2+} + 11H_2O + CO_2$		- 27,7 (8)	
Réduction des sulfates (2)+(F) : $CH_2O + 1/2SO_4^{2-} + 1/2H^+ = 1/2HS^- + H_2O + CO_2$		- 25,0 (9)	
Fermentation méthanique (2)+(G) : $CH_2O + 1/2CO_2 = 1/2CH_4 + CO_2$		- 22,2 (10)	

a $\Delta G^\circ(w) = \Delta G^\circ - RT \ln [H^+]^p$, avec $[H^+] = 10^{-7}$ mole.l⁻¹
et p = coefficient stoechiométrique de $[H^+]$

Tableau I - Séquence de processus rédox dans un aquifère clos, contenant initialement de la matière organique et diverses espèces oxydées, dissoutes ou minérales (d'après Stumm et Morgan, 1981 ; Champ et al., 1979)

Il apparaît dans un tel système que l'excès de carbone organique va réduire successivement les différentes espèces oxydées présentes dans le milieu dans l'ordre décroissant du caractère oxydant, à savoir : O_2 (qui va disparaître), NO_3^- (réduit en N_2), Mn^{4+} et Fe^{3+} (réduits respectivement en Mn^{2+} et Fe^{2+} qui apparaissent en solution), SO_4^{2-} (réduit en sulfure). La dénitrification se situe juste après la respiration aérobie, processus entraînant la disparition de l'oxygène dissous et avant l'apparition du $Fe(II)$ et du $Mn(II)$ en solution (si les espèces oxydées existent dans l'aquifère).

Gillham et Cherry (1978) citent les travaux de **Broadbent et Clark (1965)**, **Voltz et al., (1976)** dans lesquels les auteurs décrivent l'existence d'une dénitrification en présence de fortes concentrations en oxygène dissous. L'observation du phénomène en aérobie n'est probablement attribuable qu'à l'hétérogénéité de la consommation en oxygène dans le milieu, entraînant la formation de microsites en anaérobie complète (**Greenwood, 1962**).

Quoiqu'il en soit, en dessous d'une certaine pression partielle d'oxygène dissous dans le milieu, il paraît énergétiquement plus facile à une bactérie d'utiliser l'oxygène du nitrate pour oxyder le substrat et ainsi libérer l'énergie nécessaire à son activité microbienne. En effet l'énergie libre de réaction ($\Delta G^\circ(w)$) libérée lors de la dénitrification (couplage des demi-réactions rédox (7) et (8)) est très proche de l'énergie libre libérée au cours de la respiration aérobie (tableau I).

Dans un système clos vis-à-vis de l'entrée de nouvelles espèces oxydées, par exemple un aquifère captif, une suite de réactions rédox va ainsi prendre place (figure 2) dans la mesure où au sein de l'aquifère existe un excès de carbone organique, ainsi que des formes minérales oxydées correspondantes aux ions Mn^{2+} et Fe^{2+} .

En fonction de la séquence de réactions d'oxydo-réduction, basée sur les principes thermodynamiques et la catalyse microbienne précédemment exposée, **Champ et al., (1979)** définissent dans un système d'écoulement souterrain trois zones rédox successives :

- zone O_2/NO_3^- : oxydante
- zone Fe/Mn : réductrice
- zone Sulfures : très réductrice

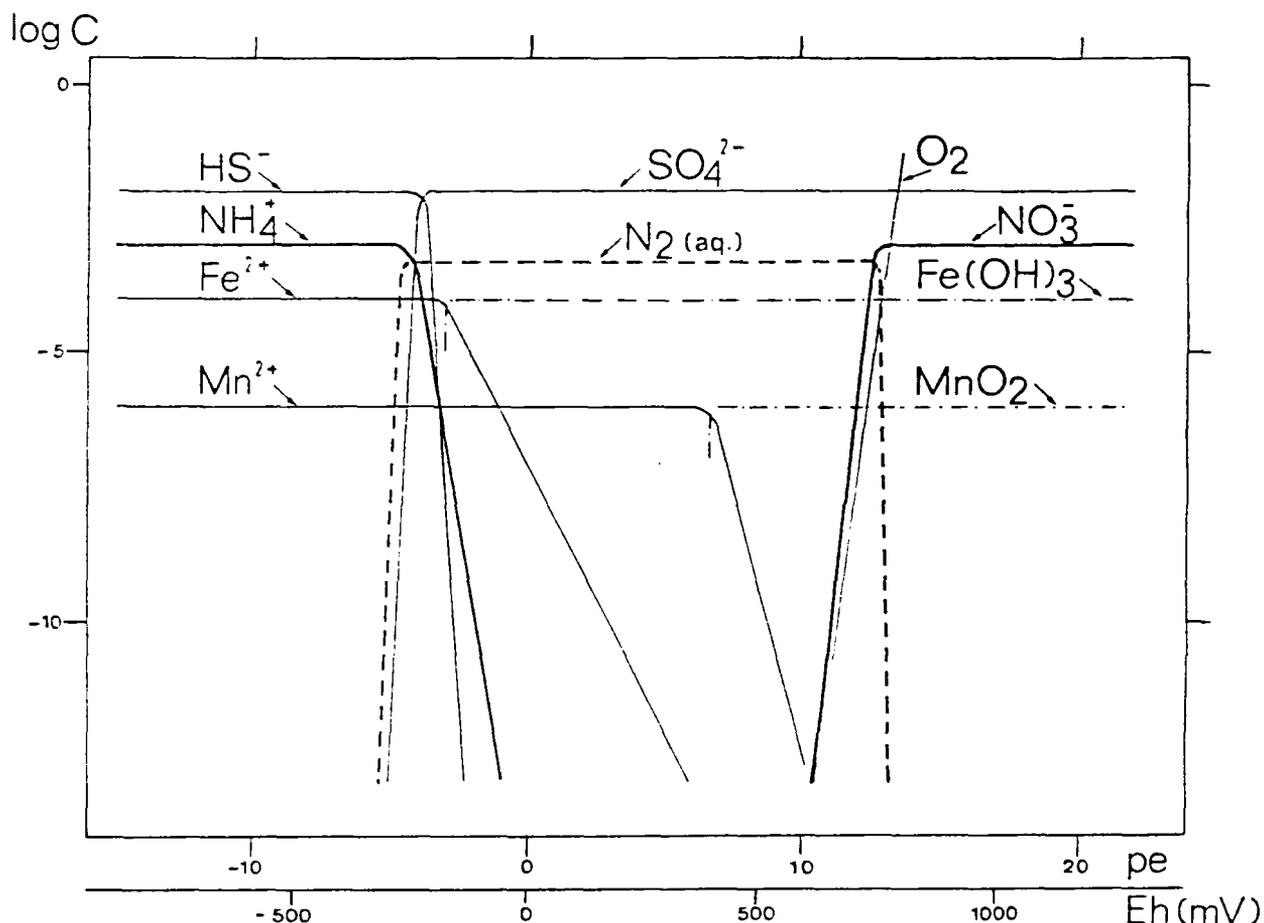


Figure 2 - Séquence de demi-réactions rédox ; diagramme d'équilibre logarithme de la concentration - potentiel d'oxydo-réduction (Eh ou pe), dans une eau de pH 7. Le diagramme est établi pour les concentrations suivantes :

ΣN (concentrations totales des diverses espèces azotées) = $10^{-3}M$, $\Sigma S = 10^{-2}M$, $Fe = 10^{-4}M$, $Mn = 10^{-6}M$
(reproduit de Mariotti, 1986)

Selon la zone considérée (figure 3), ils mettent en évidence les variations de la mobilité et de la concentration de la plupart des ions métalliques de transition et des ions non-métalliques.

Ainsi, dans la zone oxydante oxygène/nitrate, les éléments mobiles rencontrés sont les éléments solubles sous forme oxyanion à valence élevée : N, S, U, Cr. Les éléments immobiles sont ceux qui forment des oxydes métalliques à valence élevée : Fe, Mn.

Comme le carbone organique dissous réduit l'oxygène et ensuite les nitrates, un environnement plus réducteur apparaît : c'est la zone à fer/manganèse (Fe^{2+} et Mn^{2+} en solution).

Dans la solution peuvent apparaître également les éléments de transition tels que Zn, Co, Ni, Cu, s'ils étaient incorporés à l'origine dans les oxydes de fer et de manganèse.

Après réduction du fer et du manganèse, l'eau souterraine est assez réductrice pour permettre la prolifération des bactéries sulfato-réductrices : c'est la zone des sulfures où les éléments immobiles sont ceux qui forment des sulfures métalliques insolubles dans leur état réduit : Fe, Mn, Co, Cr, Ni, Cu, As.

La dénitrification peut également fonctionner par voie autotrophique, le composé oxydable pouvant être soit le soufre réduit (Martin, 1979), soit le fer (Mulder, 1964; Gouy et al., 1984). Les bactéries responsables de la réduction autotrophique du nitrate par le soufre sont du genre *Thiobacillus* et les ferrobactéries susceptibles de transformer le fer ferreux en ferrique, sont du genre *Gallionella*, *Leptothrix*, *Sphaerotilus* et *Ferrobacillus*. Ces différentes bactéries oxydent le substrat (S ou Fe) et libèrent ainsi de l'énergie nécessaire à leur activité métabolique, en utilisant l'oxygène du nitrate, en anaérobiose, selon les réactions (7) et (8).

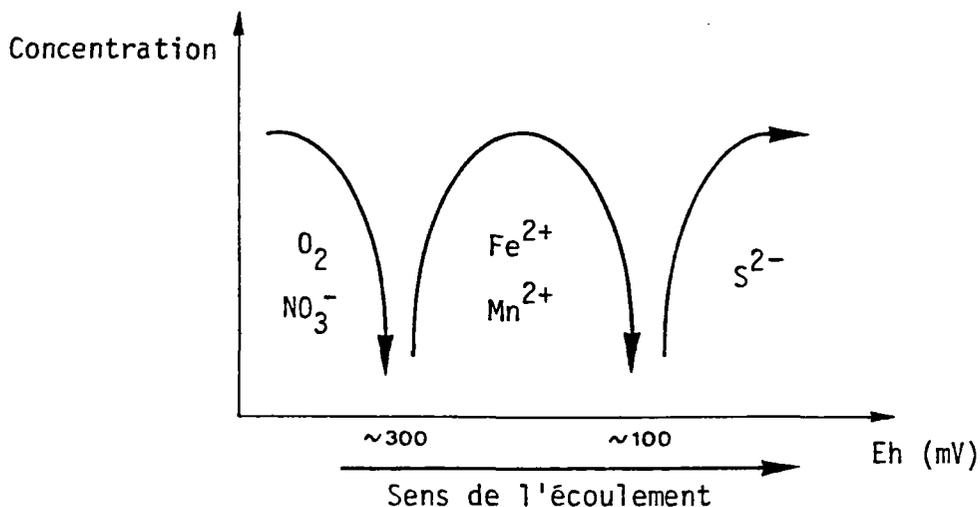
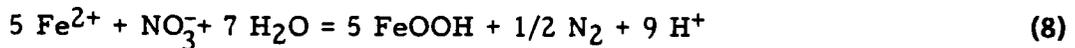
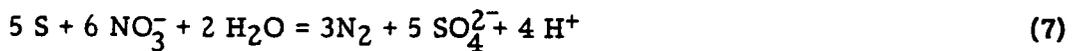
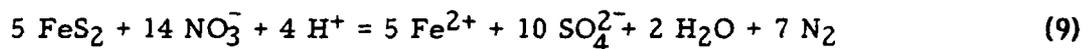


Figure 3 - Séquence de réactions rédox dans un aquifère clos, variations de concentration des principales espèces (reproduit de Champ et al., 1979)

Les travaux de K \ddot{o} lle et Schreeck (1982), puis K \ddot{o} lle et al. (1983) pr \acute{e} sentent une illustration du processus de d \acute{e} nitri- fication par voie autotrophique.

Les auteurs \acute{e} tudiant un aquif \acute{e} re r \acute{e} ducteur du Nord de l'Allemagne (Champ captant de Fuhrberg), mettent en \acute{e} vidence, au sein de la nappe, une d \acute{e} nitri- fication naturelle par la pyrite.

La pyrite microcristalline, pr \acute{e} sente dans la roche r \acute{e} servoir, se trouve oxyd \acute{e} e selon la r \acute{e} action (9).



Cette r \acute{e} action de type m \acute{e} tabolique est due \acute{a} *Thiobacillus denitrificans* qui ne peut respirer en l'absence de soufre mol \acute{e} culaire et de nitrate. Ce *Thiobacillus denitrificans* oxyde le soufre r \acute{e} duit (sulfure, thiosulfate, thiocyanate, soufre \acute{e} l \acute{e} mentaire...) en utilisant l'oxyg \acute{e} ne des nitrates. Les ions ferreux lib \acute{e} r \acute{e} s lors de cette oxydation peuvent \acute{e} tre r \acute{e} utilis \acute{e} s pour r \acute{e} duire \acute{a} nouveau des nitrates selon la r \acute{e} action (8). La simultan \acute{e} it \acute{e} des deux r \acute{e} actions (8) et (9) peut expliquer l'absence de fer ferreux dans les eaux tant qu'oxyg \acute{e} ne dissous et nitrates n'auront pas enti \acute{e} rement disparus.

Des exp \acute{e} riences de laboratoire de r \acute{e} duction des nitrates par la pyrite, conduites par K \ddot{o} lle et al. (1983), ont confirm \acute{e} la r \acute{e} alit \acute{e} de ce ph \acute{e} nom \acute{e} ne.

Des mesures manom \acute{e} triques des teneurs en azote mol \acute{e} culaire dissous dans l'eau de la nappe montrent une sursaturation corr \acute{e} l \acute{e} e positivement avec la teneur en sulfates (figure 4). Sursaturation en N $_2$ dissous et augmentation de la teneur en sulfate doivent normalement accompagner la d \acute{e} nitri- fication selon la r \acute{e} action (9).

La d \acute{e} nitri- fication, qu'elle soit biologique ou chimique est une \acute{e} tape tr \acute{e} s importante du cycle de l'azote. Tr \acute{e} s \acute{e} tudi \acute{e} e dans les sols, elle est beaucoup moins connue dans les eaux souterraines, o \grave{u} elle peut repr \acute{e} senter un syst \acute{e} me d'auto- \acute{e} purat- ion naturel efficace contre la pollution par les nitrates.

La d \acute{e} nitri- fication est un ph \acute{e} nom \acute{e} ne li \acute{e} aux conditions r \acute{e} dox du milieu. La teneur en oxyg \acute{e} ne dissous, le potentiel r \acute{e} dox, le pH, la temp \acute{e} rature, la concentration en \acute{e} l \acute{e} ments r \acute{e} ducteurs potentiels tels que le carbone organique, le fer ferreux, les sulfures..., la pr \acute{e} sence de bact \acute{e} ries d \acute{e} nitri- fiantes, sont autant de facteurs physico- chimiques et biologiques qui doivent \acute{e} tre pris en compte dans toute \acute{e} tude visant la mise en \acute{e} vidence de ce ph \acute{e} nom \acute{e} ne.

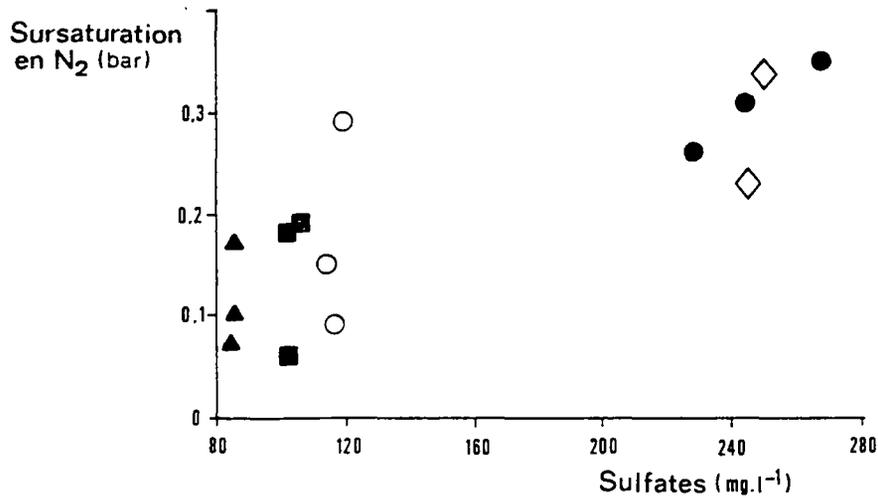


Figure 4 - Diagramme concentration en sulfate-sursaturation en N₂ dissous. Champ captant de Fuhrberg, Allemagne du Nord. (d'après Kölle et al., 1983 ; in Mariotti, 1986).

Dans la bibliographie, différentes méthodes de caractérisation du phénomène de dénitrification sont utilisées. Une synthèse bibliographique a été réalisée par Mariotti (1986). La méthode la plus employée semble-t-il, est celle qui consiste à mettre en évidence un gradient de potentiel rédox dans le sens d'écoulement d'un aquifère souterrain depuis la zone de recharge (affleurement) jusqu'à une zone où celui-ci se trouve confiné.

L'examen des teneurs en azote moléculaire dissous, terme de la dénitrification, est aussi une technique de mise en évidence de ce processus.

Le traçage isotopique naturel en ¹⁵N, méthode qui sera retenue dans cette étude, devrait permettre de caractériser le processus de dénitrification naturel car il s'accompagne d'un fractionnement des isotopes de l'azote (Delwiche et Stein, 1970, Blackmer et Bremner, 1977, Chien et al., 1977, Mariotti, 1982 ; Mariotti et al., 1982).

II

METHODES D'IDENTIFICATION DE LA DENITRIFICATION - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1 - METHODE HYDROGEOCHIMIQUE

L'approche consiste à caractériser les variations de l'état de la nappe (oxydée ou confinée) en terme de potentiel rédox, en considérant la disparition et l'apparition simultanée de divers éléments chimiques tels que l'oxygène dissous, NO_3^- , Fe^{2+} , Mn^{2+} , S^{2-} ...

Edmunds (1973, 1977), Edmunds et Walton (1983) en présentent une illustration.

Ils étudient un aquifère confiné situé dans les calcaires jurassiques du Lincolnshire en Angleterre et décrivent des variations importantes du pH, du Eh, des teneurs en oxygène dissous et en nitrates dans le sens d'écoulement de la nappe (figure 5).

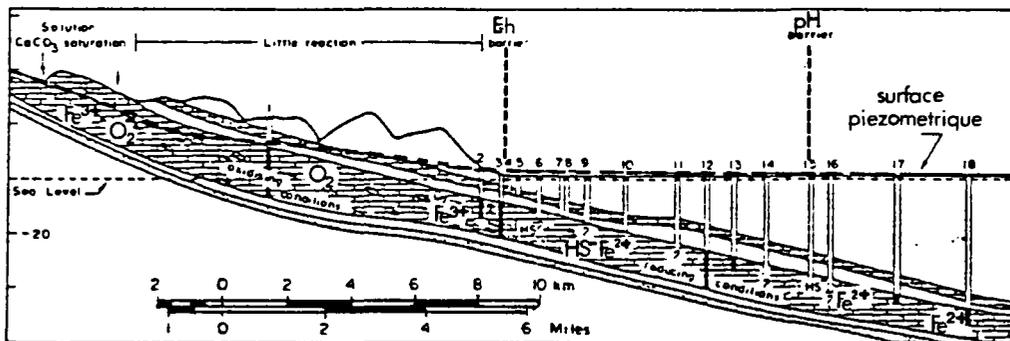


Figure 5 - The Lincolnshire Limestone (d'après Edmunds, 1973)

Sur la figure 6 reproduite des travaux de ces auteurs, on observe une barrière rédox en aval de laquelle l'oxygène dissous et les nitrates disparaissent et apparaissent le fer dissous (Fe(II)) puis des sulfures. En amont de cette barrière, les concentrations en O_2 et NO_3^- sont élevées et, au niveau de la zone de recharge diminuent progressivement jusqu'à zéro (ou presque).

Cette disparition des oxydants s'accompagne d'une chute brutale du potentiel rédox qui, de + 400 mV, passe à + 100 mV. Le pH, quant à lui, ne varie pratiquement pas autour de la valeur 7,2 de la zone d'affleurement à environ 16 km en aval de celle-ci ; au-delà de cette distance, il augmente jusqu'à 8,4.

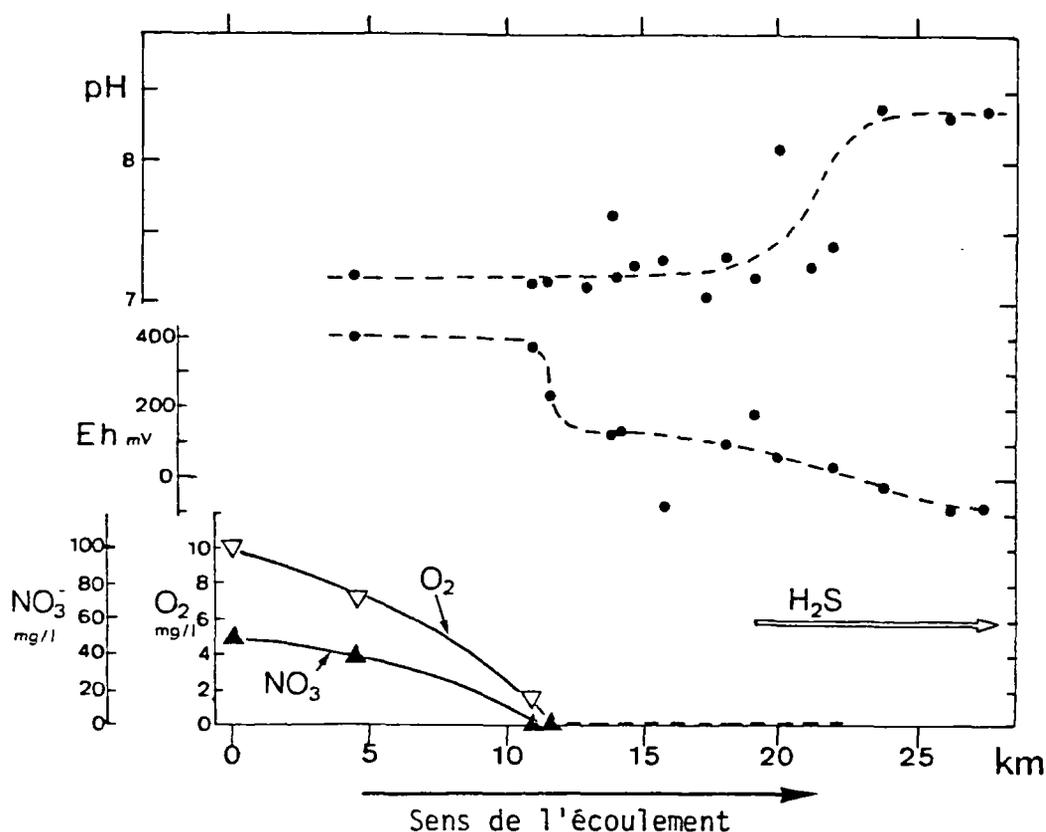


Figure 6 - Aquifère du Lincolnshire Limestone, évolution hydrochimique (reproduit de **Edmunds et Walton**, 1983 ; in **Mariotti**, 1986)

Edmunds (1977) reprenant les travaux de **Ineson et Downing** (1963) qui avaient observé des bactéries dénitrifiantes dans la zone de la chute en nitrates, attribue l'augmentation du pH à la dénitrification et à la réduction des sulfates.

Edmunds et al. (1982) présentent les résultats obtenus sur un autre aquifère (aquifère gréseux triasique de l'Est des Midlands).

Dans le sens présumé d'écoulement de la nappe, ils constatent la coexistence de fortes teneurs en oxygène et nitrates, en amont d'une barrière rédox, puis brusquement, en aval de celle-ci, leur disparition alors que le fer total dissous augmente (figure 7). Les auteurs, constatant que le carbone organique dissous est toujours présent à des teneurs très faibles (< 0,1 mg/l) attribuent la disparition de l'oxygène dissous et du nitrate à l'oxydation couplée de Fe^{2+} apparu lors de la dissolution de dolomie ankéritique.

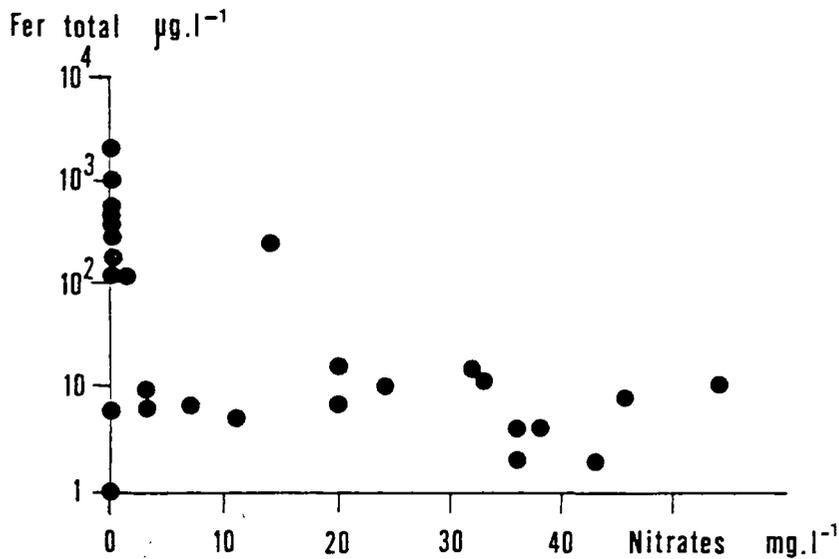


Figure 7 - Aquifère des grès triasiques des Midlands de l'Est. Diagramme semi-logarithmique concentration en nitrates - fer total dissous (d'après les données de **Edmunds** et al., 1982 ; in **Mariotti**, 1986)

Au processus de respiration aérobie (disparition de l'oxygène) succède un processus de dénitrification (disparition du nitrate).

Or, après une étude hydrogéologique détaillée, **Edmunds** et ses collaborateurs sont en fait conduits à distinguer trois zones dans l'aquifère en fonction de l'âge de l'eau (estimé par les teneurs en ^3H et ^{14}C) : une première zone d'eaux récentes (essentiellement inférieures à 100 ans), oxydantes où dominant à la fois la dissolution de dolomie, des apports atmosphériques et des sources anthropogéniques. Les teneurs en oxygène dissous et nitrates y sont importantes. La seconde zone correspond à des eaux anciennes (10^3 à 10^4 ans) et est plutôt réductrice (Eh compris entre 0 et 100 mV ; concentrations en O_2 et NO_3^- faibles, respectivement $< 0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ et $< 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$, à l'exception de deux puits).

La troisième zone, quant à elle, possède des eaux encore plus anciennes (10 000 à 35 000 ans BP), uniformément réductrices dans lesquelles coexistent fer dissous et sulfures et où oxygène dissous et nitrates sont exclus. Ces eaux correspondent à une recharge en conditions périglaciaires.

La figure 8 montre que dans le sens présumé d'écoulement de la nappe, il y a donc juxtaposition d'eaux dont l'origine, l'âge et la nature sont différents.

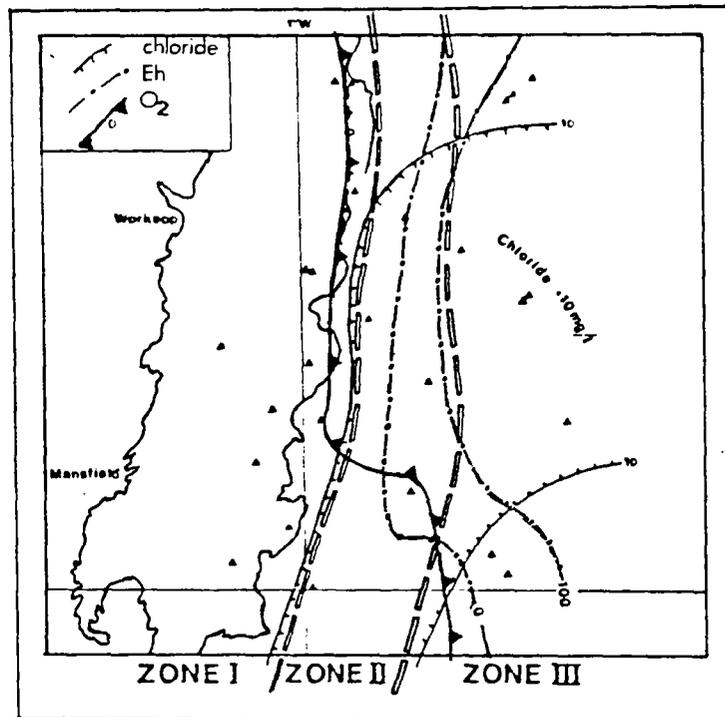


Figure 8 - Zonation hydrogéochimique dans l'aquifère des grès triasiques ; la définition de chaque zone est donnée dans le texte (d'après Edmunds et al., 1982)

Dans ces conditions, ce n'est pas forcément la dénitrification qui explique l'absence de nitrate dans les zones les plus éloignées de l'aire de recharge.

Dans son récent travail sur un aquifère crayeux du centre-est de l'Angleterre, Howard (1985) a été confronté au même problème : lorsque dans un aquifère coexistent plusieurs types hydrochimiques différents d'eaux, la mise en évidence de la dénitrification dans un gradient de potentiel rédox est très difficile et sujette à caution (figure 9).

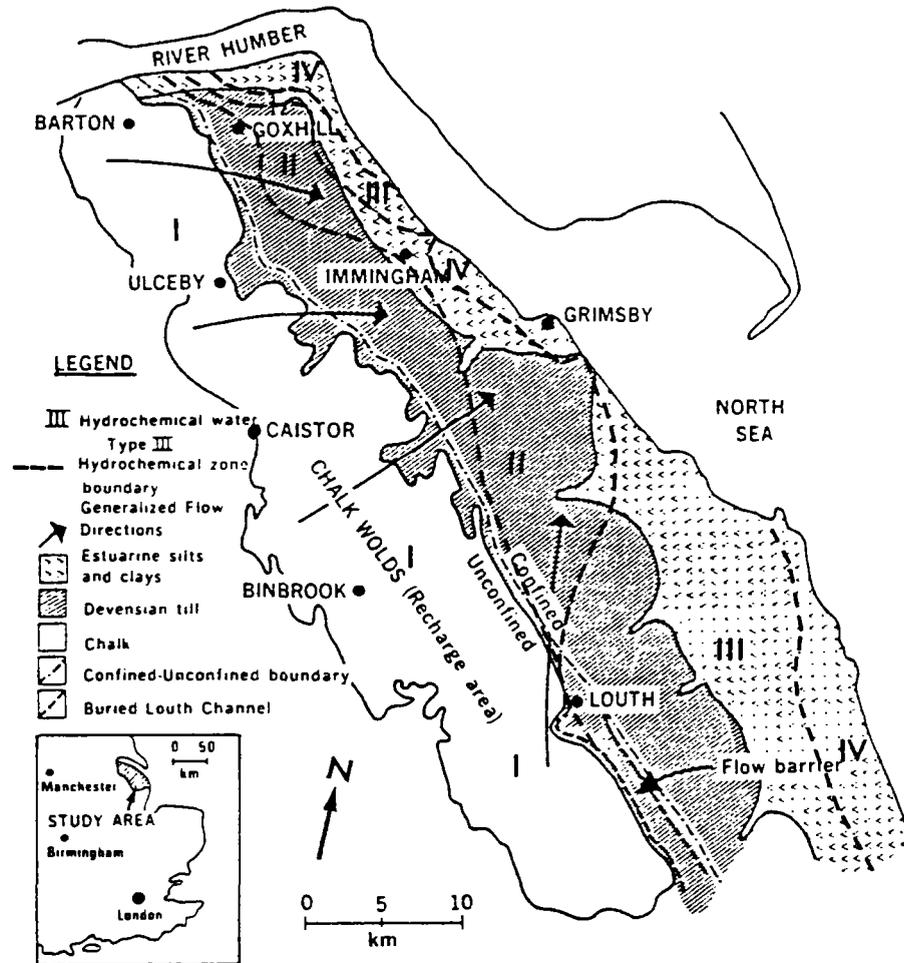


Figure 9 - Carte hydrogéologique d'un aquifère crayeux du Centre-Est de l'Angleterre (d'après Howard, 1985)

Le tableau II, reproduit de ses travaux, montre les différentes unités hydrogéologiques et hydrochimiques qu'il a pu distinguer dans la zone étudiée.

Les quatre types chimiques d'eaux mis en évidence par l'examen des concentrations en ions majeurs (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- et NO_3^-) et les isotopes du milieu (^3H et ^{14}C) ont chacun leur propre histoire, en particulier leur propre concentration initiale en nitrates.

Type d'eau	Origine	Cl ⁻ (mg.l ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mg.l ⁻¹)	Eh (mV)	³ H (U.T.)	Age ¹⁴ C (années)
I	Eaux de recharge récente	25-50	6-18	> 300	17-117	moderne
II	Eaux de recharge récente, mais antérieure au type I	12-20	2-6	200-300	2-6	moderne
III	Eaux de recharge post-glaciaire ancien	15-200	< 1	100	< 2	4 000 à 12 000
IV	Eaux salines, datant de l'interglaciaire Ipswichien (120 000 ans BP)	< 200	< 1	< 100	-	-

Tableau II - Caractéristiques et origines des eaux. Aquifère de la craie, centre-est de l'Angleterre, d'après **Howard** (1985)

Gillham et Cherry (1977), **Hendry et al.** (1983) puis **Egboka** (1984) étudient un petit bassin versant agricole dans l'Ontario, dans lequel circule une nappe superficielle de faible épaisseur située au niveau de sables et argiles glaciaires.

Dans cette nappe, les auteurs constatent une stratification verticale des teneurs en nitrates qui de fortes en surface, deviennent nulles en profondeur. Ces variations s'accompagnent de diminutions en oxygène dissous, de la baisse du potentiel rédox et par l'apparition en profondeur de méthane (figure 10).

Par l'étude des isotopes du milieu (³H, ²H et ¹⁸O), **Hendry et al.** excluent l'hypothèse selon laquelle les parties profondes de la nappe seraient alimentées par un flux latéral d'eaux non chargées en nitrates et concluent à une dénitrification en profondeur.

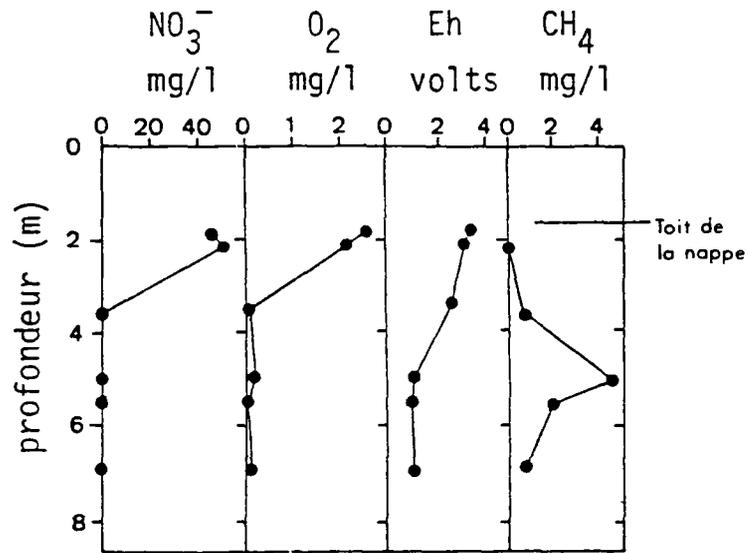


Figure 10 - Profils verticaux de nitrate, oxygène dissous, Eh et méthane dans un aquifère superficiel sous un bassin versant agricole de l'Ontario (reproduit de **Gilham et Cherry, 1978**)

Egboka, obtenant les mêmes variations en fonction de la profondeur, arrive à la même conclusion, il s'agit d'une dénitrification où le carbone organique est le substrat énergétique pour les bactéries dénitrifiantes.

II.2 - METHODE BASEE SUR LA SURSATURATION EN AZOTE MOLECULAIRE DISSOUS

La dénitrification conduit à la formation d'azote gazeux N_2 ; on peut donc envisager une méthode d'identification dans les eaux, basée sur la mesure de la sursaturation en azote moléculaire dissous.

Vogel et al. (1981) étudient une nappe artésienne de l'Ouest du désert du Kalahari. Ils mesurent les concentrations en azote, argon, oxygène et nitrate ainsi que la composition isotopique en ^{15}N de N_2 dissous et estiment l'âge de l'eau par le carbone 14. Nous reviendrons sur les résultats concernant l'azote 15 au paragraphe 3.3.

Ils observent dans le sens d'écoulement de la nappe, une augmentation de l'âge des eaux souterraines, la baisse de la teneur en oxygène dissous, sa disparition puis la diminution de la concentration en nitrates (figure 11).

Par l'étude des concentrations en N_2 et Ar dissous, ils mettent en évidence une quantité d'azote moléculaire dissous en excès (N_{2XS}), qui augmente avec l'âge de l'eau et la baisse de la concentration en NO_3^- (fig. 11).

Cette quantité d'azote provenant vraisemblablement de la dénitrification, vient s'ajouter au gaz dissous dans l'eau en équilibre avec l'atmosphère (WEA = water in equilibrium with atmosphere) et à la quantité de gaz apporté dans l'aquifère par de petites bulles d'air piégées dans les eaux qui percolent à la base de la zone non saturée et qui se dissolvent totalement dans la nappe par augmentation de la pression hydrostatique avec la profondeur ("extra air", Heaton et Vogel, 1981 ; Heaton, 1981).

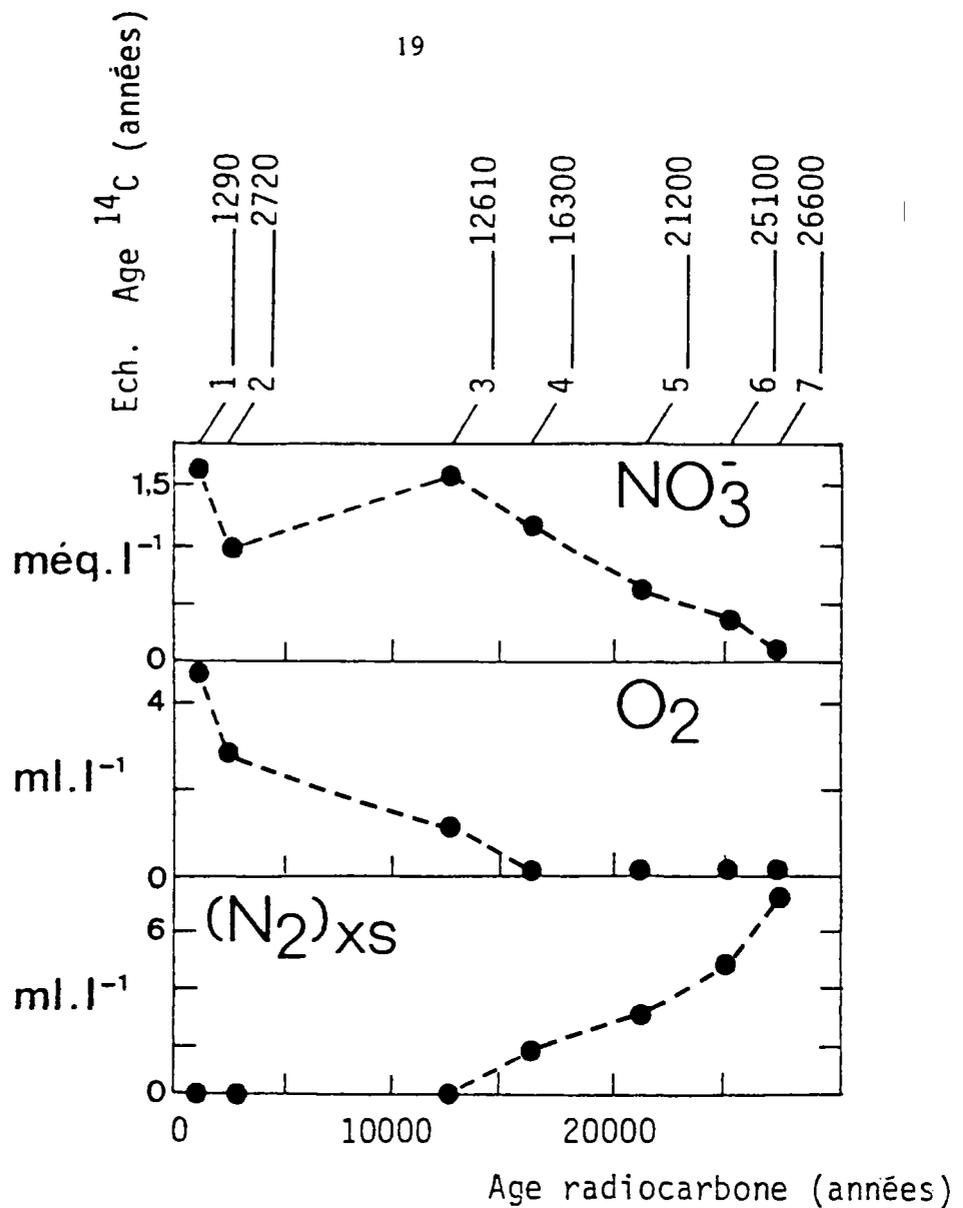


Figure 11 - Variation des teneurs en nitrates, oxygène dissous et azote en excès dans un aquifère du désert du Kalahari, en fonction de l'âge ¹⁴C de l'eau (modifié d'après Vogel et al., 1981)

Ainsi sur la figure 12 sont représentés : une droite (WEA) qui donne les concentrations en azote et argon d'une eau en équilibre avec l'atmosphère en fonction de la température d'équilibre, une seconde droite (WEA = "extra air") correspondant à un rapport N₂/Ar semblable à celui de l'air ("extra air") et enfin les points pour lesquels ils constatent un excès d'azote (N_{2XS}), provenant de la dénitrification.

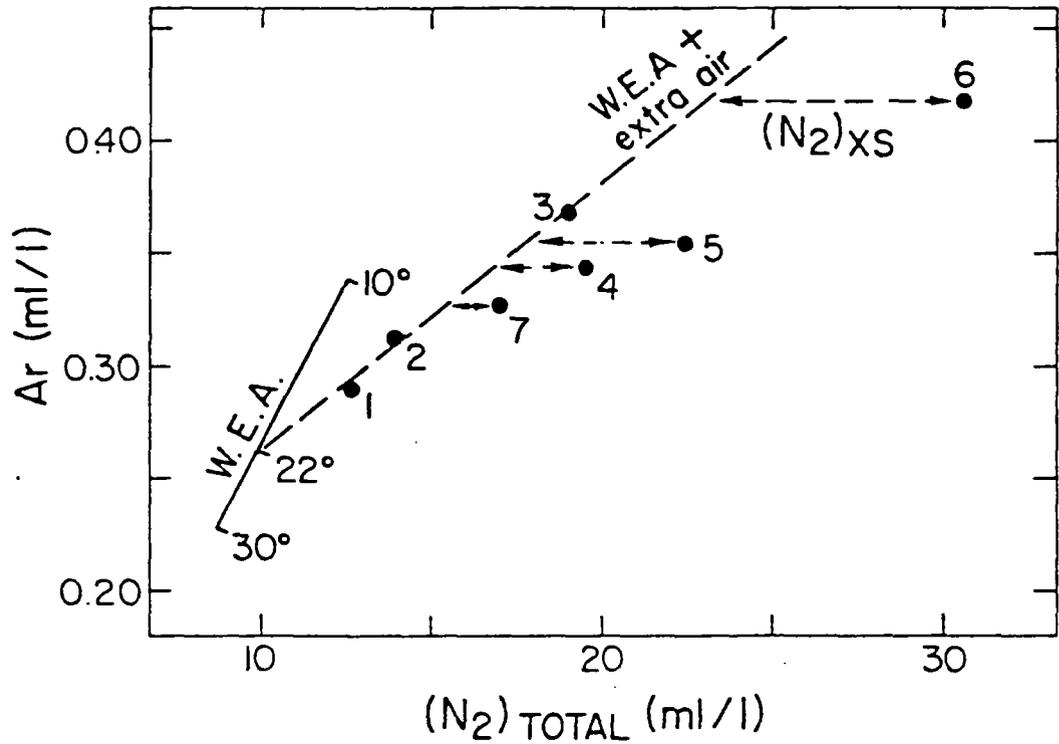


Figure 12 - Concentrations en azote et argon dissous dans un aquifère du désert du Kalahari (d'après Heaton et Vogel, 1981)

Kölle et al. (1983), étudiant la dénitrification dans une nappe du Nord de l'Allemagne estiment la sursaturation en azote moléculaire par manométrie. Les auteurs soulignent les difficultés rencontrées à la fois lors des mesures et aussi pour l'interprétation, qui ne peut être quantitative et interdit tout bilan d'azote (même dans le travail, pourtant très précis, de Vogel et al. (1981), on peut constater que le bilan en azote n'est pas équilibré : tout l'azote nitrique disparu ne se retrouve pas sous forme d'azote dissous en excès dans la nappe).

II.3 - METHODE ISOTOPIQUE

3.1 - RAPPELS SUR LES NOTATIONS ISOTOPIQUES (in Mariotti, 1982)

L'abondance en ^{15}N , exprimée en atome ^{15}N % est définie par :

$$A = \frac{\text{nombre d'atomes } ^{15}\text{N}}{\text{nombre d'atomes } ^{14}\text{N} + \text{nombre d'atomes } ^{15}\text{N}} \times 100$$

L'abondance isotopique de l'azote atmosphérique est de $0,3663 \pm 0,0004$ atome ^{15}N % (Junk et Svec, 1958).

Le spectromètre de masse mesure le rapport des intensités de courants d'ions produits par les deux faisceaux d'ions correspondants aux deux isotopes : il mesure donc un rapport isotopique R qui est celui de $M/e = 29$ ($^{14}\text{N } ^{15}\text{N}^+$) à $M/e = 28$ ($^{14}\text{N } ^{14}\text{N}^+$).

$$R = \frac{[^{14}\text{N } ^{15}\text{N}]}{[^{14}\text{N } ^{14}\text{N}]}$$

On trouve très fréquemment dans la littérature une expression de ce rapport isotopique sous la forme $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, qui n'est qu'une simplification d'écriture.

La précision requise pour mesurer et interpréter les faibles variations d'abondance isotopique dans les milieux naturels a rendu nécessaire la mise au point de techniques analytiques faisant appel à une mesure relative de ces abondances isotopiques.

On est ainsi conduit à l'utilisation d'une unité relative d'expression de la composition isotopique : l'unité δ .

Cette unité, classique en géochimie isotopique, s'écrit, pour l'azote :

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{R_{\text{échantillon}} - R_{\text{étalon}}}{R_{\text{étalon}}}$$

Compte tenu des faibles variations d'abondance isotopique dans les milieux naturels, δ sera petit, ce qui conduit à l'utilisation pratique d'une expression en part pour mille :

$$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰} = \left[\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{étalon}}} - 1 \right] \times 1000$$

C'est cette dernière expression qui sera utilisée dans l'ensemble de l'exposé, l'étalon choisi étant l'azote atmosphérique, dont on sait (Mariotti, 1983) que la composition isotopique est rigoureusement stable, bien que l'on sache (Mariotti, 1984) que sa mesure est rendue complexe par la présence d'argon.

3.2- EFFETS ISOTOPIQUES ASSOCIES AU PHENOMENE DE DENITRIFICATION

La réaction de dénitrification qui voit la rupture d'une liaison N-O de l'ion nitrate entraîne un fractionnement des isotopes de l'azote : les liaisons établies par l'isotope léger étant plus facilement et plus rapidement brisées que celles faisant intervenir l'isotope lourd, ceci provoque une très légère différence de vitesse de réaction des deux isotopes : les molécules contenant l'isotope lourd réagiront généralement moins vite que celles contenant l'isotope léger (fractionnement isotopique dit normal).

De nombreux auteurs sur l'exemple de cultures de bactéries (Wellman et al., 1968 ; Delwiche et Steyn, 1970 ; Bryan et al., 1983) ou dans le sol (Blackmer et Bremner, 1977 ; Mariotti et al., 1982 ; Leclerc, 1983) ont observé et quantifié ce fractionnement isotopique.

Lors de la dénitrification, l'azote moléculaire qui apparaît est donc enrichi en isotope léger alors que le nitrate résiduel, lui, s'enrichit en isotope lourd.

Le $\delta^{15}\text{N}$ du substrat au cours d'une réaction simple unidirectionnelle est une fonction simple de l'état d'avancement de la réaction (équation (a)) :

$$\delta_s = \delta_{s,0} + \epsilon \text{ Ln } (Q/Q_0) \quad (\text{a})$$

Cette équation est une approximation de l'expression (b), le terme $10^{-3}\delta$ étant généralement petit devant 1 lorsque δ n'est pas trop grand ($\delta < 20 \text{ ‰}$) ce qui est le cas généralement dans les systèmes naturels.

$$10^3 \cdot \text{Ln} \frac{10^{-3} \delta_s + 1}{10^{-3} \delta_{s,0} + 1} = \epsilon \text{ Ln } f \quad (\text{b})$$

Le rapport Q/Q_0 (équation (a)) représente l'état d'avancement de la réaction, Q et Q_0 étant respectivement la quantité du substrat au temps t et au temps $t = 0$. δ_s et $\delta_{s,0}$ sont les compositions isotopiques du substrat au temps t et au temps $t = 0$. ϵ est le coefficient d'enrichissement isotopique de la réaction qui est lié de façon simple (Mariotti et al., 1981) au rapport des constantes de vitesse des 2 espèces isotopiques.

Ce rapport $\alpha = \frac{k^{15N}}{k^{14N}}$ est le facteur de fractionnement isotopique toujours très proche de 1. Le coefficient d'enrichissement isotopique s'en déduit :

$$\epsilon = (\alpha - 1) \times 1000$$

La composition isotopique du nitrate en cours de dénitrification, conformément à l'équation ci-dessus (a), doit augmenter proportionnellement au logarithme de la fraction du substrat qui n'a pas réagi : cette équation classique en géochimie isotopique est celle de la distillation de Rayleigh (figure 13).

Mariotti et al. (1982) étudiant le processus de dénitrification dans les sols, ont observé que cette relation théorique s'appliquait parfaitement à un tel phénomène, malgré sa complexité (réaction à plusieurs étapes).

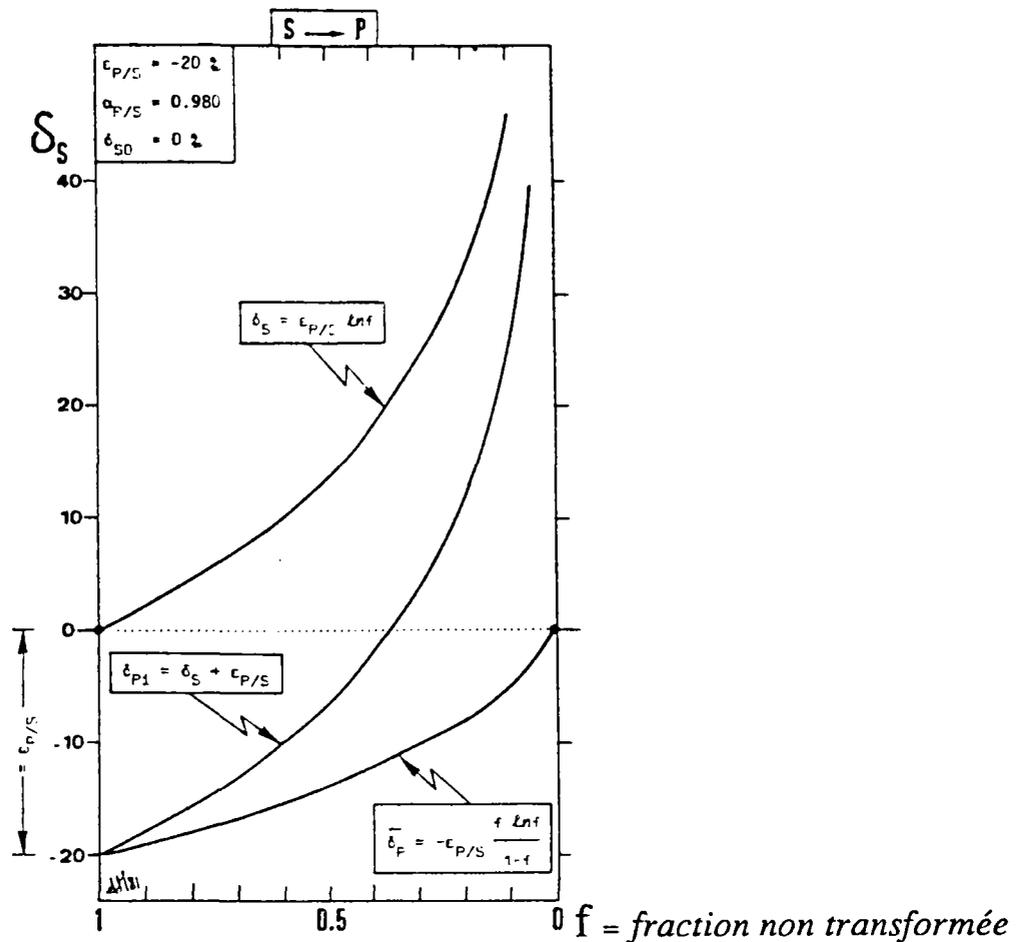


Figure 13 - Distillation de Rayleigh dans un système ouvert et un système clos (cas théorique où $\epsilon_{P/S} = -20 \text{ ‰}$, $\delta_{S,0} = 0 \text{ ‰}$) (in Mariotti, 1982)

- Le système ouvert décrit la composition isotopique du produit apparu instantanément, δ_{pi} et l'évolution de la composition isotopique du réservoir de substrat, δ_S , dans l'hypothèse du parfait mélange. Dans ce cas, la différence en ‰ des compositions isotopiques du substrat et du produit instantané est constante ($\approx \epsilon$): cette différence est seulement le reflet de la différence de réactivité des deux variétés isotopiques: autrement dit, l'enrichissement isotopique ne témoigne que de l'effet du fractionnement isotopique.

On pourra mettre sous cette rubrique le cas des réservoirs infinis: dans ce cas, δ_S est constant, δ_{pi} différant de δ_S de la valeur ϵ .

- Dans un système fermé, le produit apparu s'accumule et présente, dans l'hypothèse du parfait mélange, une composition isotopique $\bar{\delta}_p$: dans ce cas, la différence en ‰ de composition isotopique entre substrat et produit reflète, outre la réactivité différentielle des espèces isotopiques, le degré d'avancement f de la réaction. De plus on a: $\bar{\delta}_p = \delta_{S,0}$ pour $f = 0$.

3.3 - ILLUSTRATIONS DE CES EFFETS ISOTOPIQUES

La mise en évidence de la dénitrification dans les aquifères souterrains par le traçage isotopique naturel par l'azote 15 apparaît être une méthode de choix.

Elle peut être appliquée soit par la mesure de la composition isotopique de l'azote moléculaire dissous apparu en excès : celle-ci devant être appauvrie en azote 15 ; soit en suivant la composition isotopique du nitrate résiduel qui doit être enrichi en ^{15}N .

Mais il faut souligner que si le prélèvement de l'échantillon de nitrate ne demande aucune précaution particulière par rapport au prélèvement pour l'analyse hydrochimique classique, il n'en est pas de même pour celui de l'azote moléculaire dissous, qui nécessite en particulier une absence totale de contact avec l'air ; précaution souvent impossible à respecter au niveau des forages d'alimentation en eau potable.

Vogel et al. (1981), dans leurs travaux sur la dénitrification ont mesuré la composition isotopique de l'azote moléculaire dissous dans l'eau, qui est un mélange : WEA + extra-air + $(\text{N}_2)_{\text{XS}}$; connaissant la composition isotopique à la fois de l'azote dissous dans l'eau en équilibre avec l'atmosphère (WEA ; Benson et Parker, 1961) et celle de l'extra air, ea (par définition égale à 0 ‰ , puisqu'il s'agit d'azote de l'air), ils peuvent calculer la composition isotopique de l'azote en excès (xs) par une classique équation de bilan isotopique :

$$Q_t \times \delta_t = (Q_{\text{wea}} \times \delta_{\text{wea}}) + (Q_{\text{ea}} \times \delta_{\text{ea}}) + (Q_{\text{xs}} \times \delta_{\text{xs}})$$

Q et δ désignent respectivement les quantités d'azote moléculaire dissous et les compositions isotopiques correspondantes des différentes formes d'azote en solution (cf. paragraphe II.2). Les $\delta^{15}\text{N}$ de l'azote en excès obtenus sont compris entre -2 ‰ et -20 ‰ (figure 14) ; plus la fraction dénitrifiée est importante, moins la composition isotopique est appauvrie : pour $f = 0,92$, c'est-à-dire une dénitrification presque totale, le $\delta^{15}\text{N}$ est de -2 ‰ .

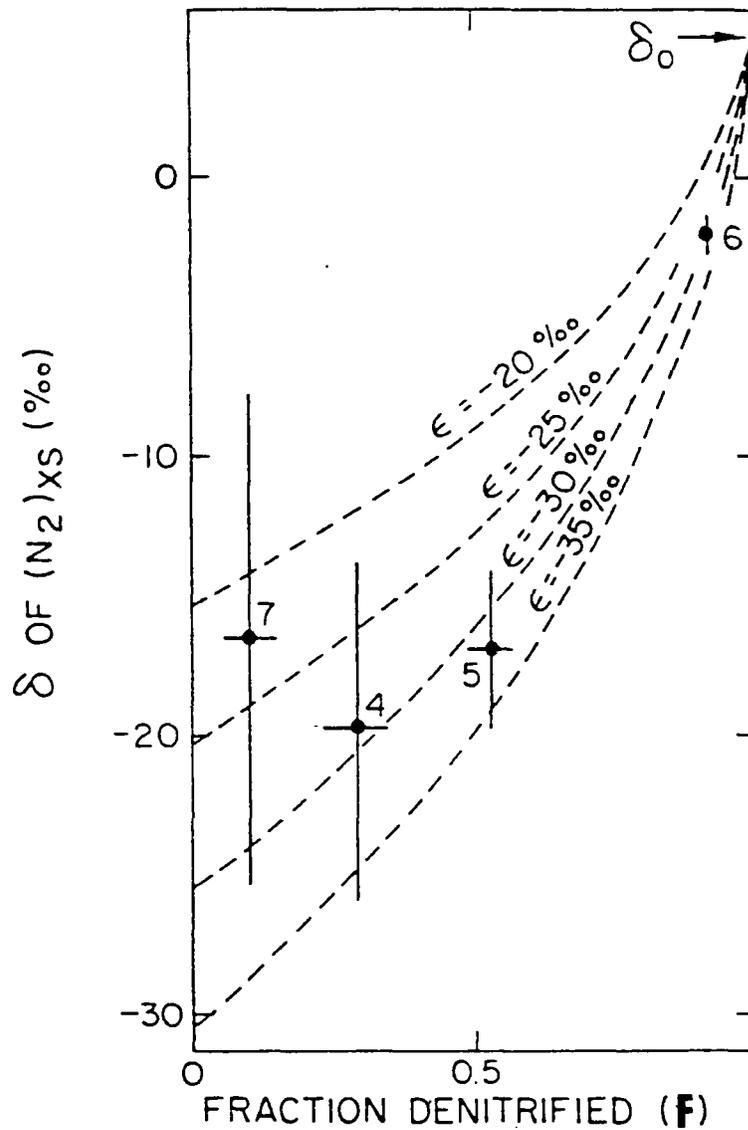


Figure 14 - Graphique $\delta^{15}N-N_{2XS}/F$; F représentant sur cette figure la fraction transformée (notre $(1-f)$), alors que sur la figure 13, il s'agit de la fraction non transformée (f).

Les lignes en pointillé montrent l'évolution d'un nitrate de $\delta^{15}N = +5,1$ ‰ au cours de la dénitrification pour des valeurs de fractionnement différentes. Les barres d'erreur représentent les écart-type calculés sur les erreurs de mesure de N_2 , Ar, NO_3^- , $\delta^{15}N$ et l'incertitude existant sur la quantité d'argon radiogénique (reproduit de Vogel et al., 1981)

Heaton et al. (1983) ont mesuré la composition isotopique du nitrate résiduel. Si l'on porte l'ensemble de leurs résultats (composition isotopique en ^{15}N de l'azote en excès (N_2) et du nitrate résiduel) en fonction de la fraction non réagie du substrat ($1-f$), f étant la fraction dénitrifiée, on constate que l'évolution isotopique est tout à fait conforme à celle d'un processus du type distillation de Rayleigh (figure 15). Le coefficient de fractionnement isotopique est de $-30 \pm 6 \text{ ‰}$.

Les auteurs expliquent la faible vitesse de dénitrification (14 000 ans) par la faible disponibilité en nutriments organiques dans l'eau.

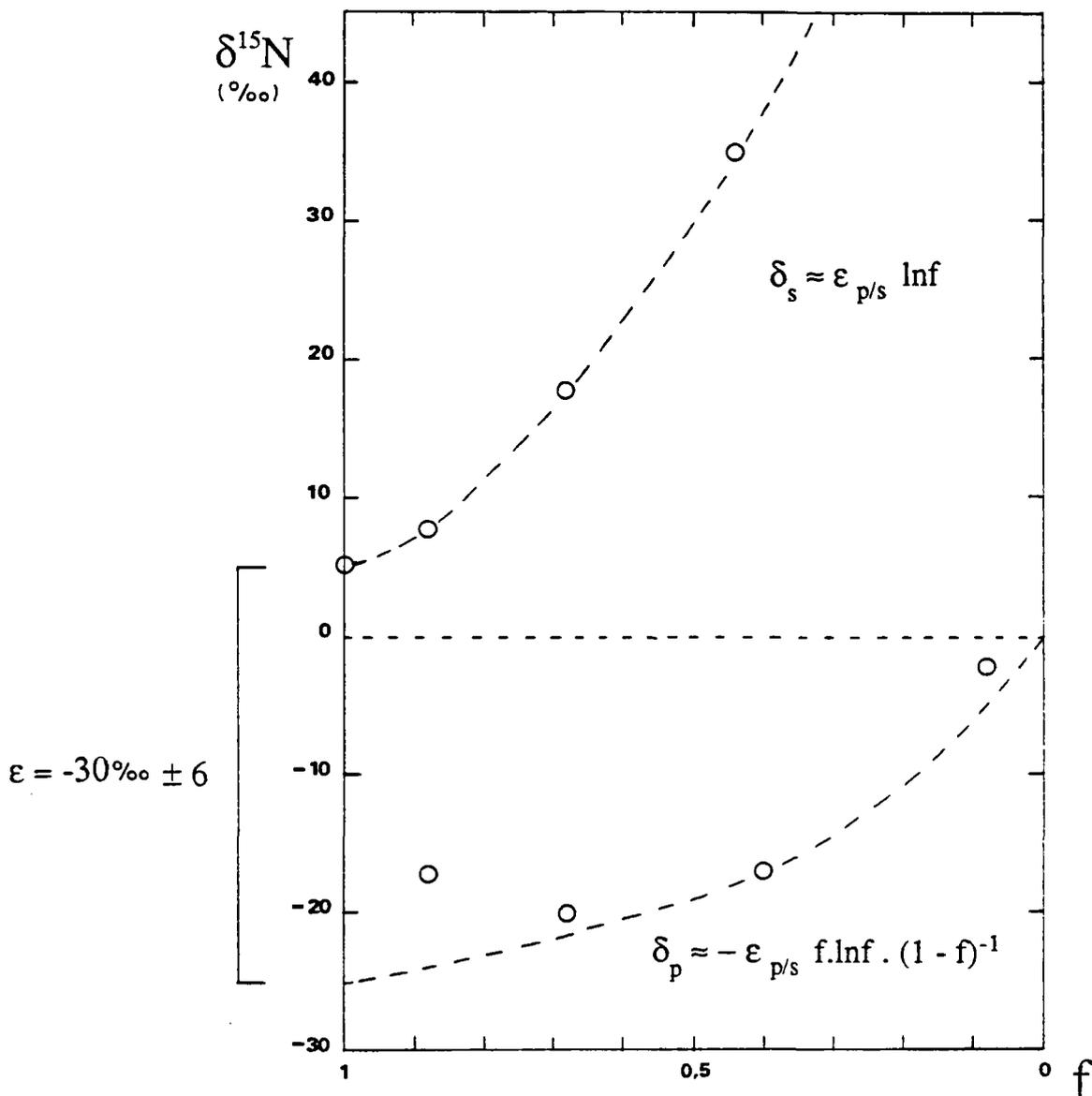


Figure 15 - Evolution isotopique selon un processus de Rayleigh (d'après les données de Heaton et al., 1983)

Hendry et al. (1984), dans leurs travaux sur l'origine et l'évolution de la concentration en nitrates dans l'eau d'un till glaciaire du Sud de l'Alberta (Canada), mettent en évidence une dénitrification.

Ils effectuent un certain nombre d'analyses dont les mesures de potentiel rédox, de concentration en NO_3^- , NH_4^+ et de composition isotopique en azote 15 et en tritium. Les auteurs constatent qu'il existe une stratification au niveau des teneurs en nitrates correspondant aux deux unités hydrogéologiques qu'ils ont distingué dans le till (figure 16). Dans le till supérieur, celles-ci sont supérieures à 4 mg/l et forment, pour les très fortes teneurs ($> 140 \text{ mg/l}$ de N-NO_3^-), des enclaves isolées et parallèles au sens d'écoulement de la nappe ; alors que dans l'unité inférieure, la concentration en nitrates est inférieure à 2,2 mg/l.

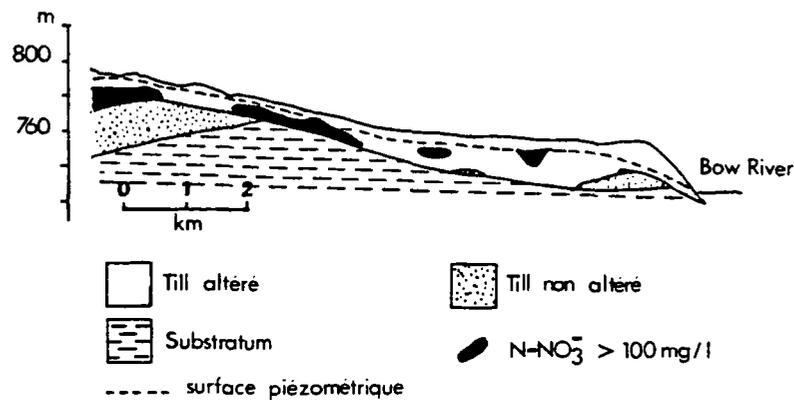


Figure 16 - Coupe hydrogéologique du till glaciaire (Alberta sud, Canada) dans lequel se rencontrent des "enclaves de nitrates" (d'après **Hendry et al., 1984**)

L'enrichissement isotopique en azote 15 observé sur les nitrates du till supérieur en dehors des enclaves (dans la zone à moindre concentration en nitrates : $< 35 \text{ mg/l}$ de N-NO_3^-) d'une part, les Eh inférieurs à 0,3 V et la présence de bactéries dénitrifiantes d'autre part, conduisent les auteurs à envisager un processus de dénitrification naturel.

Des expériences de dénitrification en laboratoire sur le till, en anaérobiose, confirment la réalité du phénomène.

Létolle et al. (1985) étudient la dénitrification dans un aquifère mixte (alluvions-craie) de la vallée de la Seine (champ captant d'Aubergenville) par le traçage isotopique naturel en ^{15}N .

Les auteurs observent de forts enrichissements isotopiques dans des eaux à faibles teneurs en nitrates (figure 17). Ils obtiennent confirmation de la réalité du phénomène par diverses analyses chimiques, bactériologiques et traceurs biogéochimiques bactériens. Cette dernière méthode pourrait dans l'avenir, après évaluation, devenir une méthode de choix pour attester de l'activité bactérienne en l'absence de résultats purement microbiologiques.

Cette approche de l'activité bactérienne consiste à doser les acides gras et les hydrocarbures non aromatiques présents dans l'eau. En effet, certaines structures de molécule attestent de cette activité étant spécifiquement d'origine bactérienne (structures moléculaires dites ramifiées : acides methyl-13 et methyl-12 tétradécanoïques et methyl-14 et methyl-15 hexadécanoïque).

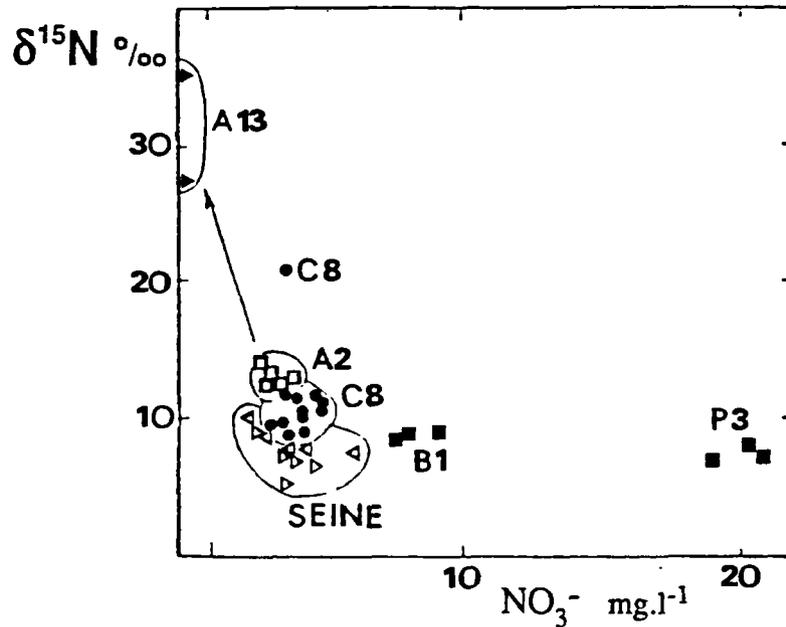


Figure 17 - Variation de la composition isotopique des nitrates de la Seine au puits A13 (d'après Létolle et al., 1985)

III

APPLICATION DU TRAÇAGE ISOTOPIQUE SUR L'ION NITRATE A LA CARACTERISATION DE LA DENITRIFICATION, SUR L'EXEMPLE DE QUELQUES AQUIFERES SOUTERRAINS EN FRANCE

La contamination des eaux souterraines par les nitrates, en France, est une des préoccupations sérieuses des gestionnaires de la qualité de l'eau d'alimentation.

La dénitrification naturelle, processus conduisant à la formation d'azote gazeux (N_2O ou N_2), apparaît très importante à prendre en considération puisqu'elle est à l'origine de la diminution, voire même de la disparition des nitrates dans les eaux.

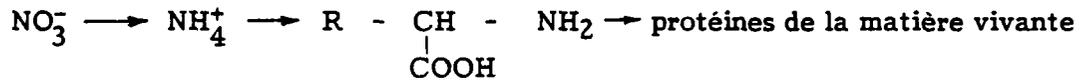
Cependant, il nous paraît important de souligner que la simple constatation de la baisse en azote nitrique dans un aquifère ne peut en aucun cas être suffisante pour démontrer la présence d'un tel phénomène d'autoépuration naturel et que d'autres mécanismes comme l'assimilation par les végétaux ou encore la dilution, peuvent également expliquer de telles diminutions.

Nous allons donc, dans un premier temps, envisager ces différents processus responsables des diminutions en nitrate et les modifications de composition isotopique qu'ils sont susceptibles d'entraîner sur l'azote de ce composé, puisque c'est cette méthode d'investigation que nous avons principalement utilisé au cours de notre recherche.

III.1 - PROCESSUS A L'ORIGINE DE LA DISPARITION DES NITRATES

1.1 - ASSIMILATION

L'assimilation est une étape du cycle de l'azote au cours de laquelle la matière azotée minérale est transformée en matière vivante :



L'azote minéral sous forme NO_3^- , préférentiellement assimilé par la plupart des végétaux supérieurs, est au préalable réduit sous forme NH_4^+ afin d'être par la suite incorporé dans les acides aminés, constituants des protéines de la matière vivante.

La théorie voudrait que ce phénomène s'accompagne d'un fractionnement isotopique en azote 15 comparable à celui de la dénitrification, dans la mesure où les premières étapes du processus d'assimilation consistent également en une réduction du nitrate (de NO_3^- en NH_4^+) : dès la première étape, on assiste à la rupture d'une liaison N-O qui devrait s'accompagner d'un fort effet isotopique.

Or Mariotti et al. (1980) ont montré que cet effet isotopique ne s'observait que dans des conditions particulières où le rapport du substrat (NO_3^-) à l'enzyme (nitrate réductase) permet la saturation de l'étape de la réduction enzymatique : ceci ne se produirait que pendant une très brève période (quelques jours) de la vie de la plante après germination.

En tout état de cause pour des plantes à maturité, le facteur d'enrichissement isotopique à l'assimilation de l'ion nitrate est proche de zéro (tableau III, reproduit de Mariotti et al., 1980).

Par conséquent, dans le cas d'un processus d'assimilation par des végétaux (par exemple une nappe d'eau souterraine peu profonde située sous une forêt), la diminution de la teneur en nitrates lors du passage sous cette forêt, ne doit pas s'accompagner d'un enrichissement isotopique important. Les compositions isotopiques en ^{15}N des nitrates doivent rester constantes.

Famille	Plante	Nombre de pieds	Date de la récolte	Poids sec (g)	Floraison	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	ϵ
Graminacées.....	<i>Zea mays</i> L.	3	23/06	114	F	3,4	-0,1
	<i>Avena sativa</i> L.	14	13/06	49	F	2,8	-0,7
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	16	13/06	50	F	2,7	-0,8
	<i>Pennisetum americanum</i> K. Schum.	12	02/08	148	F	3,5	0,0
	<i>Sorghum vulgare</i> Pers.		20/06			3,2	-0,3
Liliacées.....	<i>Allium porrum</i> L.	11	02/08	22		3,1	-0,4
Urticacées.....	<i>Urtica urens</i> L.	5	13/06	20	F	3,4	-0,1
Polygonacées.....	<i>Rumex acetosa</i> L.	4	04/07	37		3,8	+0,3
Euphorbiacées.....	<i>Ricinus communis</i> L.	1	23/06	43	F	3,3	-0,2
Caryophyllacées.....	<i>Gypsophila</i> sp.	97	09/06	24	F	2,8	-0,7
Papavéracées.....	<i>Eschscholtzia californica</i> Scham.	33	20/06	31	F	3,3	-0,2
Crucifères.....	<i>Raphanus sativus</i> L.	18	19/05	10		2,8	-0,7
	<i>Brassica oleracea</i> L.	4	04/07	101		3,5	0,0
	<i>Brassica napus</i> L.	5	04/07	109		3,6	+0,1
Énothéracées.....	<i>Clarkia elegans</i> Dougl.	9	20/06	78	F	3,7	+0,2
Linacées.....	<i>Linum usitatissimum</i> L.	15	13/06	29	F	1,3	-2,2
Tropaeolacées.....	<i>Tropaeolum majus</i> L.	4	20/06	65	F	3,2	-0,3
Ombelliféracées.....	<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm.	140	20/06	16		2,7	-0,8
	<i>Apium graveolens</i> L.	5	10/08	20		3,8	+0,3
	<i>Cerfolium sativum</i> Bess.	76	20/06	30	F	3,4	-0,1
	<i>Daucus carota</i> L.	2	20/06			2,4	-1,1
	<i>Cobaea scandens</i> Cav.	5	02/08	113	F	3,4	-0,1
Borraginacées.....	<i>Myosotis alpestris</i> Sch.	12	23/08	36		3,4	-0,1
Solanacées.....	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	4	13/06	48	F	4,0	+0,5
	<i>Capsicum annuum</i> L.	6	22/06			4,5	+1,0
Labiées.....	<i>Mentha piperata</i> L.	6	10/08	39		3,5	0,0
	<i>Salvia officinalis</i> L.	3	10/08	47	F	3,0	-0,5
Valérianacées.....	<i>Valeriana</i> sp.	33	22/06			3,8	+0,3
Cucurbitacées.....	<i>Citrullus vulgaris</i> Schrader	2	26/06	26	F	3,0	-0,5
	<i>Cucumis melo</i> L.	3	13/06	25	F	3,4	-0,1
	<i>Cucumis sativus</i> L. (Concombre)	2	13/06	51	F	3,6	+0,1
	<i>Cucumis sativus</i> L. (Cornichon)	6	13/06	47	F	3,9	+0,4
	<i>Cucurbita Pepo</i> L.	2	13/06	60	F	3,7	+0,2
	<i>Lactuca sativa</i> L.	3	05/06	10		1,8	-1,7
Composées.....	<i>Tagetes patula</i> L.	12	08/06	13	F	3,0	-0,5
	<i>Helianthus annuus</i> L.	2	23/06	94	F	3,8	+0,3
	<i>Dahlia</i> sp.	1	02/08	59		4,1	+0,6
	<i>Aster</i> sp.	2	02/08	7		1,8	-1,7

\bar{m}	-0,25
σ	0,65

Tableau III - Composition isotopique et facteur d'enrichissement isotopique (ϵ) de non légumineuses (organes aériens) cultivées sur solution nutritive azotée (NO_3^-) de composition isotopique constante :

$$\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^- = 3,5 \text{ ‰}$$

Lorsque le stade de floraison de la plante a été atteint, un "F" est porté dans la colonne Floraison. Les semis ont été effectués le 2.5.1979.

(Reproduit de Mariotti et al., *Physiol. Vég.*, 1980).

1.2 - DILUTION

Comme autre mécanisme pouvant être responsable de la diminution de la teneur en nitrates, la dilution soit par des eaux sans nitrate (des eaux très anciennes par exemple), soit par des eaux nettement moins chargées en azote nitrique que les eaux de départ, peut être envisagée.

Lors du mélange avec une eau ne contenant pas de nitrates, la teneur en azote nitrique va diminuer alors que la composition isotopique en ^{15}N reste stable.

Par contre, la dilution des eaux d'une nappe par mélange avec des eaux moins concentrées en nitrates, aura pour effet d'abaisser la concentration en azote nitrique et en outre de faire varier la composition isotopique en ^{15}N de cet azote du mélange si les compositions isotopiques des deux sources en présence sont différentes.

Dans ce cas, si δ et Q représentent respectivement les compositions isotopiques et les quantités de nitrate (soit V , volume d'eau multiplié par C , concentration), si A et B se réfèrent aux deux sources en présence, M au mélange, on a :

$$Q_M = Q_A + Q_B$$

$$Q_M \delta_M = Q_A \delta_A + Q_B \delta_B$$

$$\delta_M = \frac{Q_A (\delta_A - \delta_B)}{Q_M} + \delta_B$$

Ainsi le mélange progressif d'une eau diluante de type A avec une eau de type B se traduira par une évolution hyperbolique de la composition isotopique du mélange, en fonction de la concentration de celui-ci.

Si les eaux diluantes présentent par exemple des nitrates à composition isotopique nettement plus élevée que l'eau considérée au départ (B), la concentration du mélange va baisser et sa composition isotopique augmenter. Considérons ainsi l'exemple théorique suivant : une eau B, de concentration 10 mg/l en azote dont la composition isotopique est de $+4 \text{ ‰}$, se trouve diluée par une eau A très faiblement concentrée (0,2 mg/l) et dont la composition isotopique est très élevée : $+20 \text{ ‰}$.

On fait intervenir les volumes d'eau mis en jeu, V_A et V_B et le mélange progressif permet de calculer les paramètres : composition isotopique et concentration en azote de ce mélange (tableau IV).

V_B/V_A	C_M mg/l	δ_M ‰
eau B seule	10,0	4,0
100	9,9	4,0
20	9,5	4,0
10	9,1	4,0
5	6,7	4,2
1	5,1	4,3
0,2	1,8	5,5
0,1	1,1	6,7
0,02	0,4	12,0
0,01	0,3	14,7
eau A seule	0,2	20,0

Tableau IV - Evolution de la concentration en azote et de la composition isotopique en ^{15}N au cours d'un mélange théorique progressif

En reportant les compositions isotopiques versus les concentrations, on obtient la figure 18, illustrant parfaitement l'évolution hyperbolique de la composition isotopique au cours du mélange.

Si nous voulons obtenir par mélange, dans cet exemple théorique, des eaux à très faible concentration en azote, il nous faut prendre en compte des eaux diluantes à très faible concentration (ici 0,2 mg/l).

Le tableau IV nous montre alors qu'il est nécessaire que le rapport de la masse d'eau diluante à la masse d'eau initiale soit supérieur à cinq pour que la variation de la composition isotopique soit supérieure à $1,5 \delta^{15}\text{N}$ ($\Delta\delta = 5,5 - 4,0$), c'est-à-dire commence à peine à être significative, dans un milieu naturel forcément variable.

Pour une telle proportion du mélange des eaux, la concentration en azote est déjà réduite d'un facteur 5,5 (10/1,8).

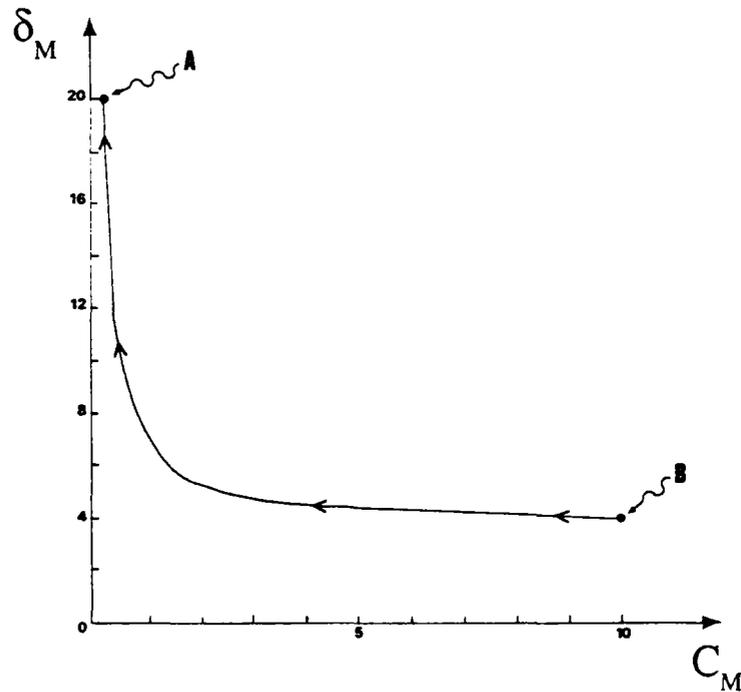


Figure 18 - Evolution de la composition isotopique au cours du mélange progressif de deux eaux de concentration et composition isotopique différentes (A et B).

1.3 - DENITRIFICATION

Nous avons vu dans la synthèse bibliographique (chapitre II.3.2) que la réaction de dénitrification s'accompagne d'un fractionnement isotopique de l'azote qui peut être important. Au cours du processus, qui se suit par la baisse des concentrations en nitrate, la composition isotopique de ce composé s'enrichit en ^{15}N proportionnellement au logarithme de la concentration (ou de la quantité) du substrat. On a en effet :

$$\delta - \delta_0 = \epsilon \ln C / C_0$$

d'où

$$\delta = \epsilon \ln C + \text{cste}$$

Aussi, peut-on imaginer, a priori, une ressemblance entre l'évolution isotopique caractéristique de ce processus de réduction et le processus précédent, mélange avec une eau diluante contenant des nitrates à composition isotopique élevée.

Sur la figure 19, nous reprenons l'évolution théorique du mélange avec dilution, observé sur la figure 18, à laquelle nous superposons une évolution théorique calculée de la composition isotopique en fonction de la concentration, correspondant à un processus de dénitrification et telle que les compositions isotopiques et les concentrations de départ (avant dénitrification) et d'arrivée (après dénitrification) soient les mêmes que dans l'exemple du mélange avec dilution ; ainsi :

$$C_0 = 10 \text{ mg/l}, \delta_0 = + 4 \text{ ‰}$$

et nous imposons à la courbe de passer par le point

$$C = 0,2 \text{ mg/l}, \delta = + 20 \text{ ‰}$$

Il vient alors :

$$20 = 4 + \epsilon \ln \frac{0,2}{10}$$

soit $\epsilon = - 4,1 \text{ ‰}$

L'évolution isotopique du nitrate en cours de dénitrification obéit, dans ce cas théorique, à l'équation :

$$\delta = - 4,09 \ln C + 13,42$$

Il paraît donc évident que les deux types d'évolution isotopique, si aucun autre événement ne vient les perturber, ne peuvent être confondus, se différenciant aisément dans un diagramme $\delta^{15}\text{N}$ - concentration.

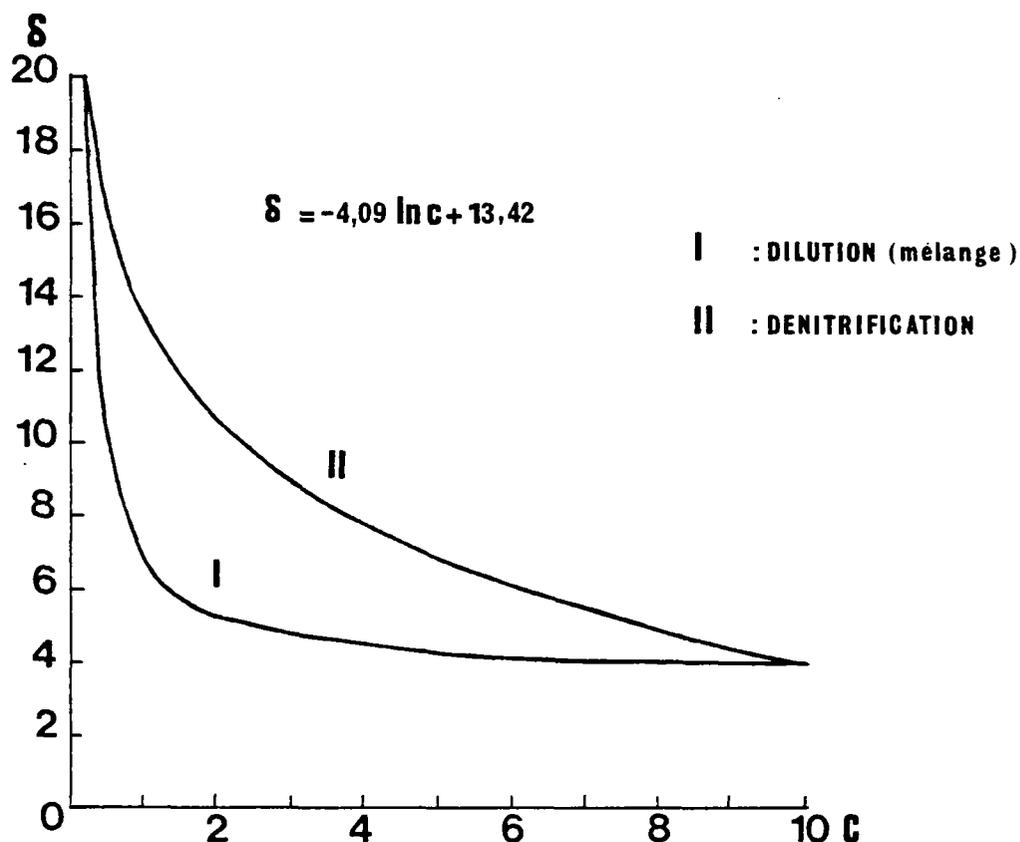


Figure 19 - Evolution théorique de la composition isotopique lors d'une dilution et d'une dénitrification.

I représente l'évolution hyperbolique de la composition isotopique de l'azote du nitrate au cours de la dilution d'une eau de départ à concentration 10 mg/l et $\delta^{15}\text{N} = 4 \text{ ‰}$, par des eaux très peu minéralisées en nitrate et de $\delta^{15}\text{N}$ élevé (20 ‰).

II représente l'évolution exponentielle de la composition isotopique de l'azote qui serait celle accompagnant une dénitrification, avec des points de départ et d'arrivée identiques à ceux du cas I. Dans ce cas théorique, le facteur d'enrichissement isotopique (ϵ) serait de $-4,1 \text{ ‰}$.

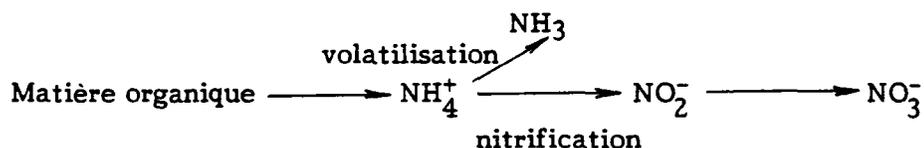
La dénitrification entraîne une baisse de la concentration en nitrate et un enrichissement exponentiel en ^{15}N de sa composition isotopique, mais la dilution dans les conditions théoriques définies ci-dessus peut également entraîner une élévation du $\delta^{15}\text{N}$, si les nitrates des eaux diluantes sont fortement enrichis en ^{15}N .

Quels peuvent être de tels nitrates ?

- Ce sont soit des nitrates préalablement dénitrifiés, ce qui nous ramène en tant que processus à la simple dénitrification.

- Soit des nitrates provenant d'une pollution d'origine organique.

En effet, lors de la minéralisation de la matière organique selon le schéma suivant :



Si la nitrification est totale, le nitrate final se trouve enrichi en ^{15}N (Kreitler, 1975).

Cet enrichissement isotopique se produit lors de la volatilisation partielle de l'ammonium, l'ammoniac isotopiquement le plus léger se volatilisant plus rapidement que celui contenant l'isotope lourd.

NH_4^+ (produit de départ de la volatilisation) s'enrichit en azote 15, alors que NH_3 , (produit final de la volatilisation) est appauvri.

Dans le cas où succède à la volatilisation un processus de nitrification au cours duquel on verra apparaître successivement les formes oxydées de l'azote (NO_2^- puis NO_3^-) et si la transformation est totale, le nitrate final a la même composition isotopique en ^{15}N que l'ammonium de départ, qui a entièrement disparu et qui, comme nous venons de le signaler, était fortement enrichi en ^{15}N (tableau V).

Kreitler (1975) qui a mesuré la composition isotopique de nitrates d'origine organique (provenant de déjections animales), obtient des $\delta^{15}\text{N}$ dans la gamme + 14 à + 24 ‰.

Heaton et al. (1983) dans une nappe phréatique contaminée par des nitrates provenant de rejets animaux mesurent des $\delta^{15}\text{N}$ compris entre +9 et +19 ‰.

D'autres auteurs (Bergé, 1983 ; Ben Halima, 1977 ; Kreitler et al., 1983 ; Mariotti, 1982, 1984) obtiennent des valeurs de composition isotopique en ^{15}N de nitrates d'origine organique du même ordre de grandeur : entre +10 ‰ et +24 ‰.

Provenance de l'échantillon (Auteurs)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰
CGE Rouen : égout CGE Rouen : égout (Mariotti, Comm. personn.)	12,7 13,5
Melarchez : égout à ciel ouvert (Ben Halima, 1977)	10,2 11,0 11,5 10,6 12,3
Bergé (1983)	13,3 à 23,5
Heaton et al. (1983)	9 à 19
Kreitler (1975)	14 à 24

Tableau V - Compositions isotopiques de nitrates provenant de pollution d'origine organique

Dans un premier temps, il nous est apparu opportun de définir, sur des systèmes où l'on maîtrise la réalité du processus de dénitrification en milieu aqueux, des paramètres qui nous seront utiles lors de notre étude sur le terrain. En particulier nous avons mesuré les facteurs de fractionnement isotopique au cours de la dénitrification biologique dans des systèmes quasi expérimentaux : station ou pilotes de dénitrification.

III.2 - MESURE DU FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE AU COURS DU PROCESSUS DE DENITRIFICATION BIOLOGIQUE EN MILIEU AQUEUX

Elle a été effectuée à la station de dénitrification biologique de Château-Landon (SLEE), destinée à l'alimentation en eau potable, ainsi que sur le pilote de dénitrification in situ de Messac en Bretagne. Dans ces deux exemples, il s'agit de dénitrification biologique provoquée.

2.1 - STATION DE DENITRIFICATION DE CHATEAU-LANDON (SLEE)

Nous avons effectué des mesures de composition isotopique en ^{15}N sur les nitrates contenus dans l'eau qui entre dans la station et sur ceux qui en sortent après traitement (tableau VI).

L'eau dans la station passe dans un réacteur à biolite, matériaux de faible granulométrie favorisant l'accrochage des bactéries dénitrifiantes, dans lequel sont introduits de l'acide acétique (source carbonée) et de l'acide phosphorique (figure 20).

L'eau dénitrifiée est ensuite réoxygénée et filtrée sur filtre à charbon pour être, en fin de traitement, chlorée.

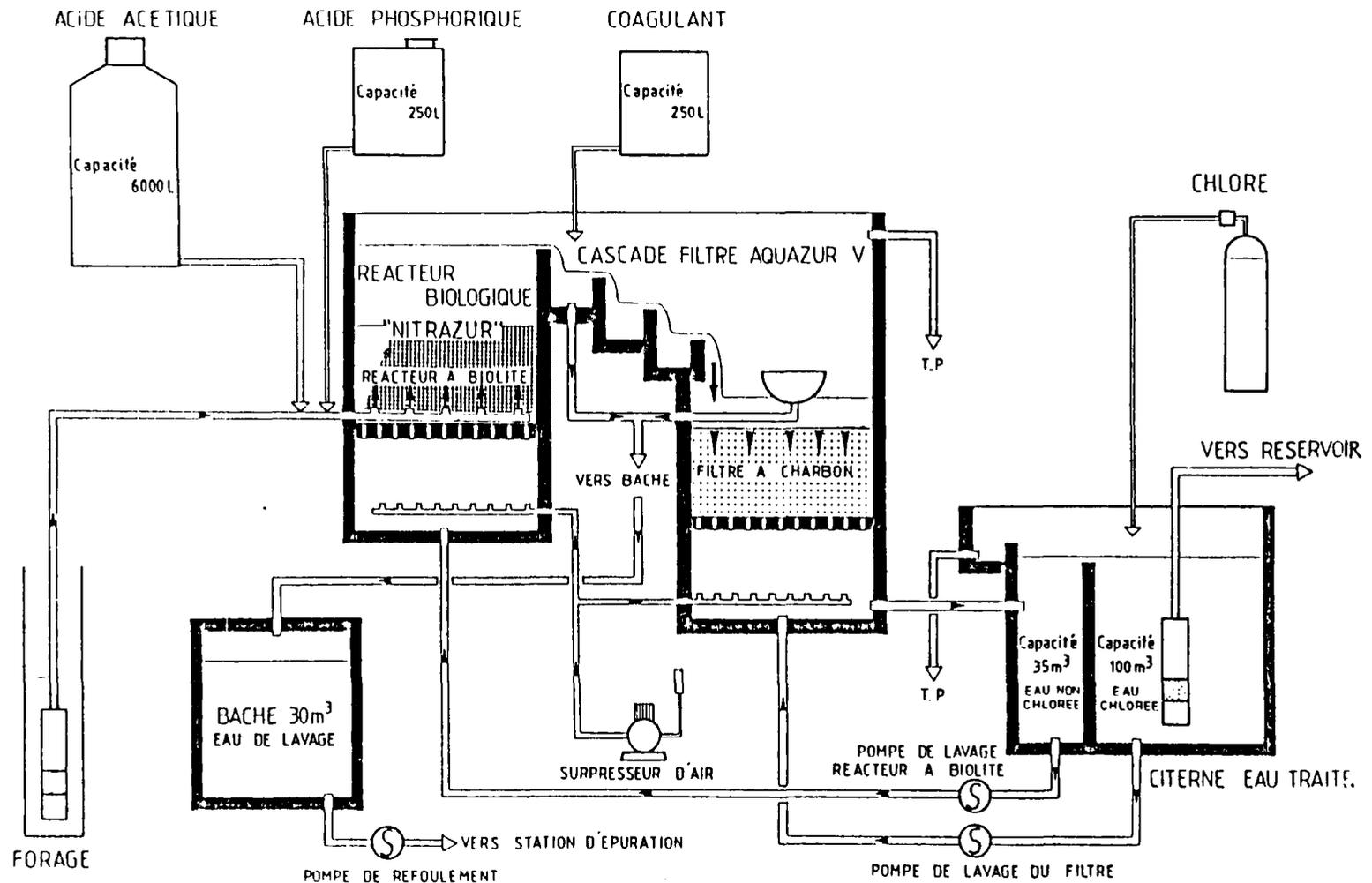
Nous obtenons un coefficient de fractionnement isotopique de $-6,5 \text{ ‰}$, nettement inférieur à celui calculé par Vogel et al. (environ -30 ‰); en effet d'après les valeurs du tableau VI, on a :

$$14,9 = 6,6 + \epsilon \ln \frac{22,0}{79,3}$$

soit $\epsilon = -6,5 \text{ ‰}$

Situation du prélèvement	NO_3^- mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ en ‰
Avant dénitrification	79,3	+ 6,6
Après dénitrification	22,0	+ 14,9

Tableau VI - Mesures des compositions isotopiques en ^{15}N des nitrates à l'entrée et à la sortie de la station de Château-Landon (S.L.E.E.)



POMPAGE EAU BRUTE - DENITRIFICATION - AERATION - FILTRATION - STERILISATION - DISTRIBUTION

Figure 20 - Schéma de la station de dénitrification biologique d'eau potable de Château-Landon (document de la S.L.E.E.)

2.2 - PILOTE DE DENITRIFICATION IN SITU DE MESSAC (BRETAGNE)

Le BRGM en collaboration avec l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, met au point un procédé rustique permettant la dénitrification d'une eau souterraine. Le principe de ce procédé est expliqué sur la figure 21.

L'eau pompée dans la nappe passe dans des réacteurs constitués de paille broyée et de sable marin calcaire (maërl) et est ensuite filtrée sur filtre à sable avant d'être réinjectée dans la nappe.

Nous avons analysé la composition isotopique en ^{15}N des nitrates de l'eau de la nappe avant et après son passage dans le pilote (tableau VII).

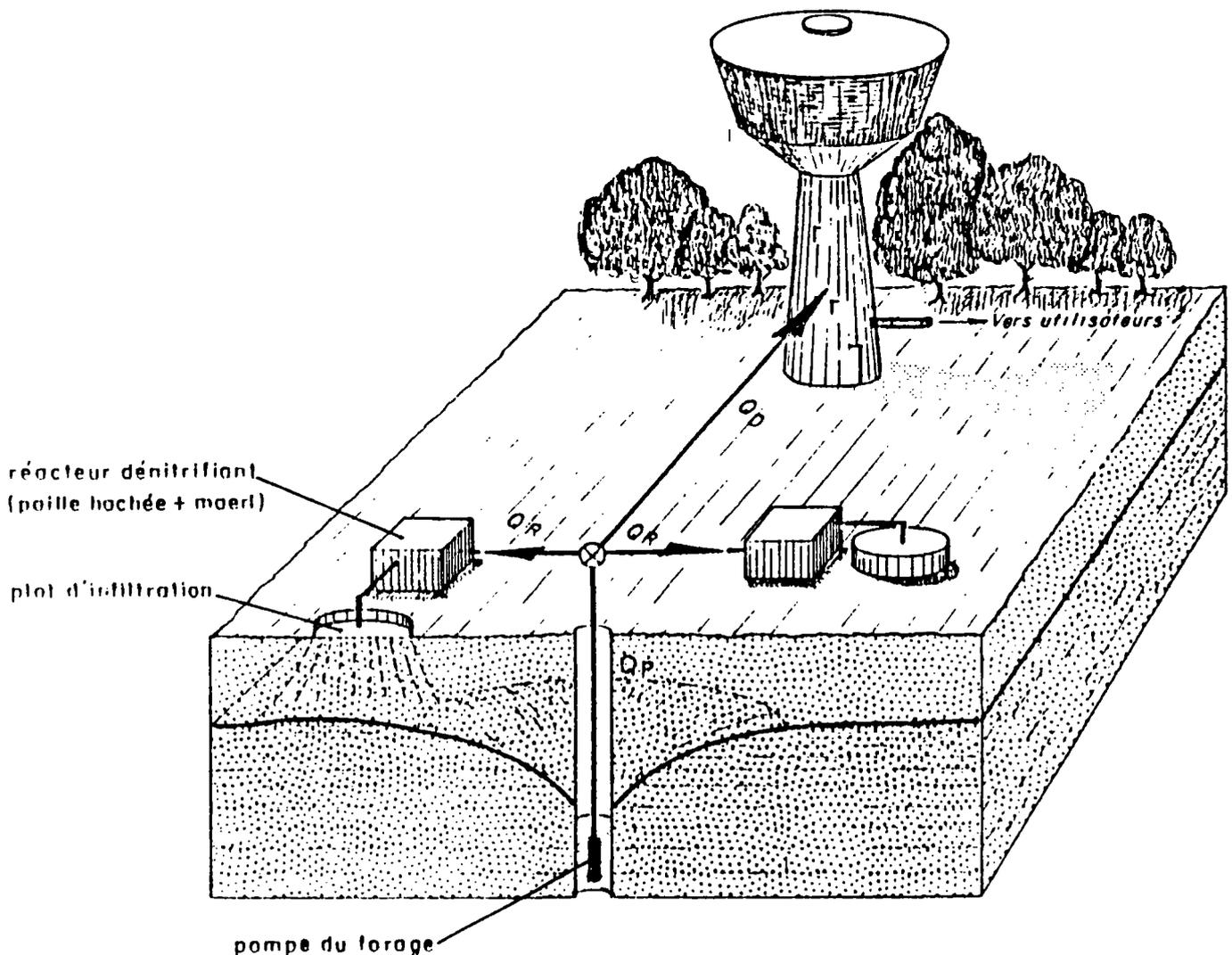


Figure 21 - Principe du procédé de dénitrification expérimenté
d'après le rapport 86 SGN 091 EAU

Situation du prélèvement	T°C	Rh mV	pH	Conduc. μ S.cm ⁻¹	O ₂ % Saturat.	NO ₂ ⁻ mg/l	Oxyda- bilité mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	Mn ²⁺ mg/l	Fe _T mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	δ ¹⁵ N-NO ₃ ⁻ ‰
Eau de la nappe	13,2	187	6,1	348	53	0,03	0,07	5	0,09	0,20	62,9	+ 7,1
Eau de la nappe	13,9	285	5,9	304	54	0	0,06	6	< 0,006	0,03	48,8	+ 7,1
Eau de la nappe	13,4	167	6,6	280	49	0,05	0,16	6	0,1	1,40	44	+ 6,7
Sortie du réacteur	12,6	200	6,8	570	18	0,4	3,69	6	0,1	0,16	32,6	+ 9,9

Tableau VII - Résultats des analyses chimiques et isotopiques effectuées sur les eaux, avant et après passage dans le pilote de dénitrification de Messac

Le coefficient de fractionnement isotopique calculé à partir des valeurs du tableau VII est de - 6,6 ‰. La nappe montrant quelques variations de sa teneur en nitrates, nous avons utilisé la valeur moyenne de la concentration, ainsi que celle de la composition isotopique.

Il vient :

$$9,9 = 7 + \epsilon \ln \frac{32,6}{50,6}$$

soit $\epsilon = - 6,6 \text{ ‰}$

On peut rapprocher ces valeurs de celle obtenue par **Ben Halima (1977)** et **Mariotti (1982)** sur un puits atteignant une nappe superficielle dans les limons de Brie (Bassin de Mélarchez, Orgeval) et où ces auteurs ont identifié une dénitrification liée semble-t-il à la présence d'une pompe en métal ferreux, immergée dans le puits.

Ils obtiennent une évolution caractéristique de la composition isotopique des nitrates, qui s'élève jusqu'à 31 ‰ (figure 22).

Le facteur d'enrichissement isotopique est de l'ordre de $-7 \pm 1 \text{ ‰}$.

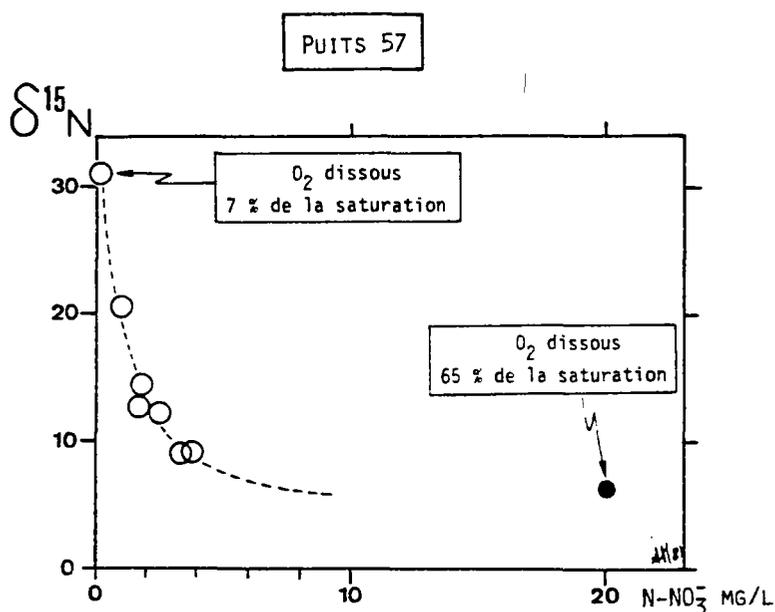


Figure 22 - Evolution de la composition isotopique du nitrate dissous dans un puits atteignant la nappe superficielle des limons de Brie, en fonction de sa concentration (reproduit de Mariotti, 1982)

Ces valeurs très homogènes obtenues en milieu hydrique, voisines de -6 à -7 ‰ , contrastent avec la grande variation des valeurs calculées lors de la dénitrification des nitrates ou des nitrites dans différents types de sols (Mariotti et al., 1981) : on peut ainsi obtenir des valeurs de facteurs d'enrichissement isotopique dans la gamme -33 à -5 ‰ et corrélés à la constante de vitesse de dénitrification (1er ordre) : plus la vitesse est importante, moins le fractionnement isotopique est élevé (fig. 23).

A la lumière de ces résultats, nous allons examiner quelques situations observées par certains organismes impliqués dans les problèmes de qualité d'eaux souterraines (principalement le BRGM) où on décrit, en nappe, des diminutions des concentrations en nitrates que l'on serait tenté a priori d'imputer à la dénitrification.

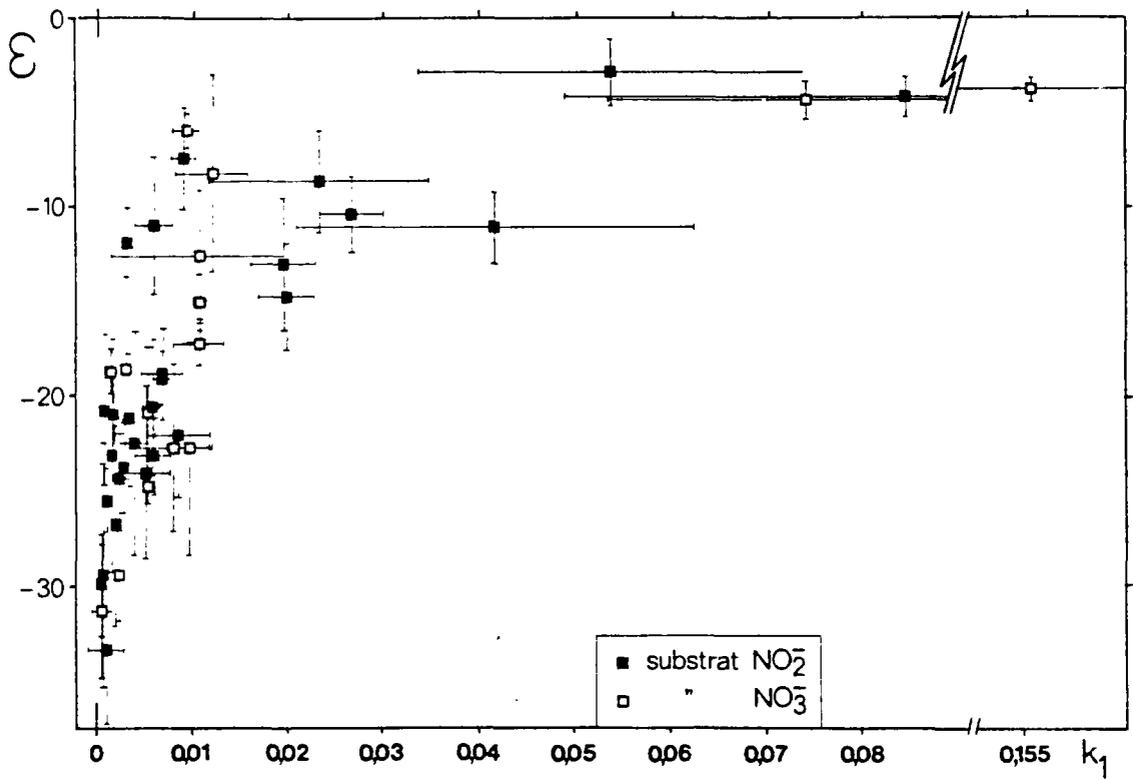


Figure 23 - Relation facteur d'enrichissement isotopique-constante de vitesse de dénitrification (1er ordre).

L'erreur sur k_1 augmente avec les valeurs de k_1 :

ceci est dû au fait que lorsque la vitesse globale de dénitrification augmente, cette réaction est plutôt d'ordre zéro (d'après Mariotti, 1982)

III.3 - ETUDE DE QUELQUES AQUIFERES SOUTERRAINS PAR LE TRAÇAGE ISOTOPIQUE NATUREL EN ^{15}N

3.1 - LA PLAINE DE L'AIN

Située à 35 km au NE de Lyon, la plaine de l'Ain s'étend entre Saint-Vulbas au Sud-Est et Chazey-sur-Ain au Nord-Ouest (figure 24). Elle est limitée par deux cours d'eau : l'Ain et le Rhône. Cette plaine environnée de champs de céréales et de quelques bois est à vocation essentiellement industrielle.

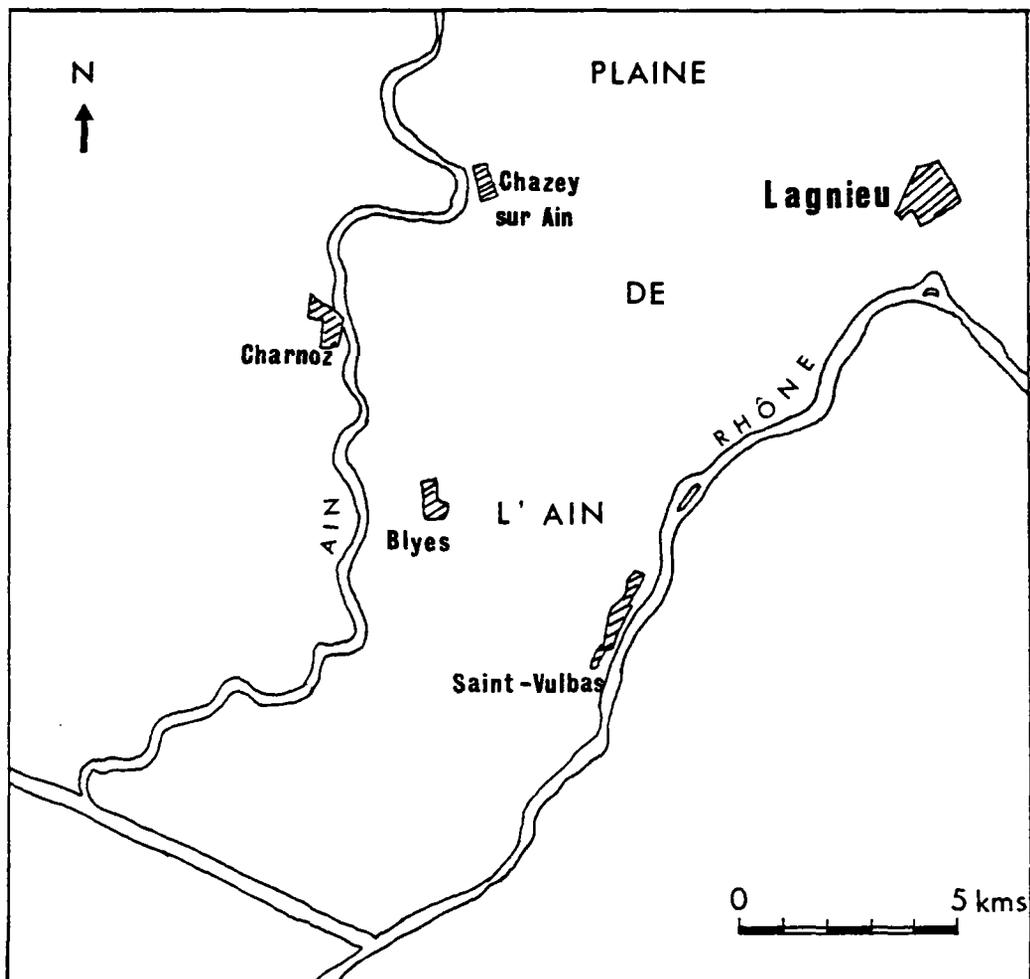


Figure 24 - Situation du secteur d'étude

A - Contexte hydrogéologique

La géologie de la région étudiée est étroitement liée au phénomène glaciaire. Les dépôts quaternaires reposent directement sur la molasse miocène à faciès de sables.

Le système aquifère quaternaire est essentiellement constitué de quatre types de dépôts (Rousselot, 1978).

- * **matériaux glaciaires morainiques non remaniés** : ce sont des matériaux glaciaires d'épaisseur très variable qui reposent directement sur la paleo-surface érodée de la molasse miocène.
- * **argiles glacio-lacustres** : formation sédimentaire argileuse constituant le substratum de la nappe située au-dessus dans les cailloutis fluvio-glaciaires.
- * **cailloutis fluvio-glaciaires** : formation de cailloutis polygéniques à composition de galets, graviers, sables bien lavés, perméables qui constitue la formation aquifère.
- * **alluvions fluviales du Rhône et de l'Ain**

L'ensemble de ces horizons aquifères forme un système complexe dont le Rhône et l'Ain constituent les niveaux de base. Le système aquifère est alimenté par les eaux de pluies, par les collines glaciaires au Nord et par l'Ain à l'Ouest qui réalimente temporairement la nappe.

La carte piézométrique montre un écoulement N.NW-S. SE (figure 25).

La position altimétrique élevée du substratum d'argiles glacio-lacustres et la rupture de pente topographique entraîne la formation à l'Est d'une ligne de sources dominant la vallée du Rhône. La surface piézométrique se situe à environ quatre mètres sous le niveau du sol.

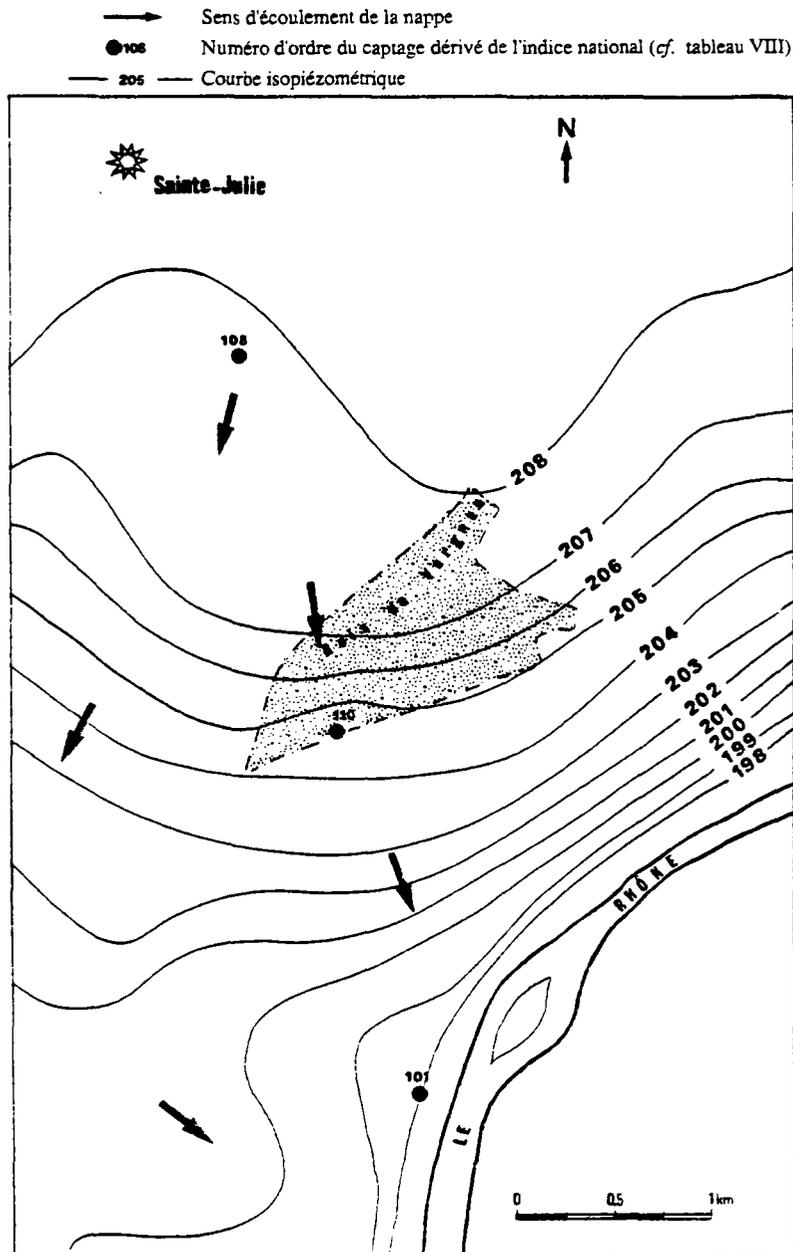


Figure 25 - Carte piézométrique d'une partie de la plaine de l'Ain
 (reproduite de Rousselot, 1978)

B - Résultats

Lors d'une première série d'analyses de la concentration en azote nitrique (avril 1983), d'importantes variations étaient apparues dans le sens d'écoulement de la nappe du Nord vers le Sud.

En effet, la teneur en azote nitrique dans le forage 110 sous le bois de Vergnes (figure 25) est très nettement inférieure à celle mesurée plus au Nord dans le 108 ($\Delta N = 5,7 \text{ mg/l}$; " ΔN " représente la perte d'azote entre le 108 et le 110). A la source de l'ancien moulin de la Serre (captage 101), la concentration réaugmente et est comparable à celle du point 108 (tableau VIII).

La seconde campagne de prélèvement (avril 1985) a fourni les mêmes résultats : diminution de la teneur en azote nitrique dans le forage 110 situé dans une zone boisée ($\Delta N = - 4,8 \text{ mg.l}^{-1}$ par rapport au point 108 situé au Nord).

Il est net que cette diminution brutale de la teneur en azote s'observe au passage de la nappe peu profonde (environ à 3-4 mètres sous la surface du sol) sous le bois de Vergnes (figure 25).

Les compositions isotopiques des nitrates sont comprises entre + 1,5 et 4,7 ‰ sur l'ensemble des deux campagnes de mesure et varient peu d'un point à un autre, notamment dans le sens d'écoulement de la nappe, entre les puits 108 et 110 (tableau VIII, figure 26) ; elles attestent de l'absence de dénitrification puisqu'elles ne présentent pas de forts enrichissements en ^{15}N (cf. paragraphe III.1.3).

Il semble plus vraisemblable d'attribuer cette diminution des teneurs en nitrates à un phénomène d'assimilation par des végétaux chlorophylliens tel que nous l'avons décrit au paragraphe III.1.1. L'absence de variation de composition isotopique accompagnant la chute de la teneur en azote nitrique, la présence du bois de Vergnes dans la zone où disparaissent des nitrates, sont deux éléments en faveur de cette hypothèse (figure 26).

La nappe du fluvio-glaciaire, dont la zone de recharge se situe au Nord, s'écoule vers le SE, vers la vallée du Rhône où se localisent ses exutoires (sources de débordement).

N° Forage BRGM (date)	N-NO ₃ mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3$ ‰
699-3-108 (21/4/83) (25/4/85)	8,4 8,4	+ 3,8 + 4,7
699-3-110 (21/4/83) (25/4/85)	2,7 3,6	+ 4,0 + 3,5
699-3-101 (21/4/83) (25/4/85)	9,3 9,3	+ 2,4 + 1,5

Tableau VIII - Résultats des analyses faites sur la nappe du fluvio-glaciaire (Plaine de l'Ain)

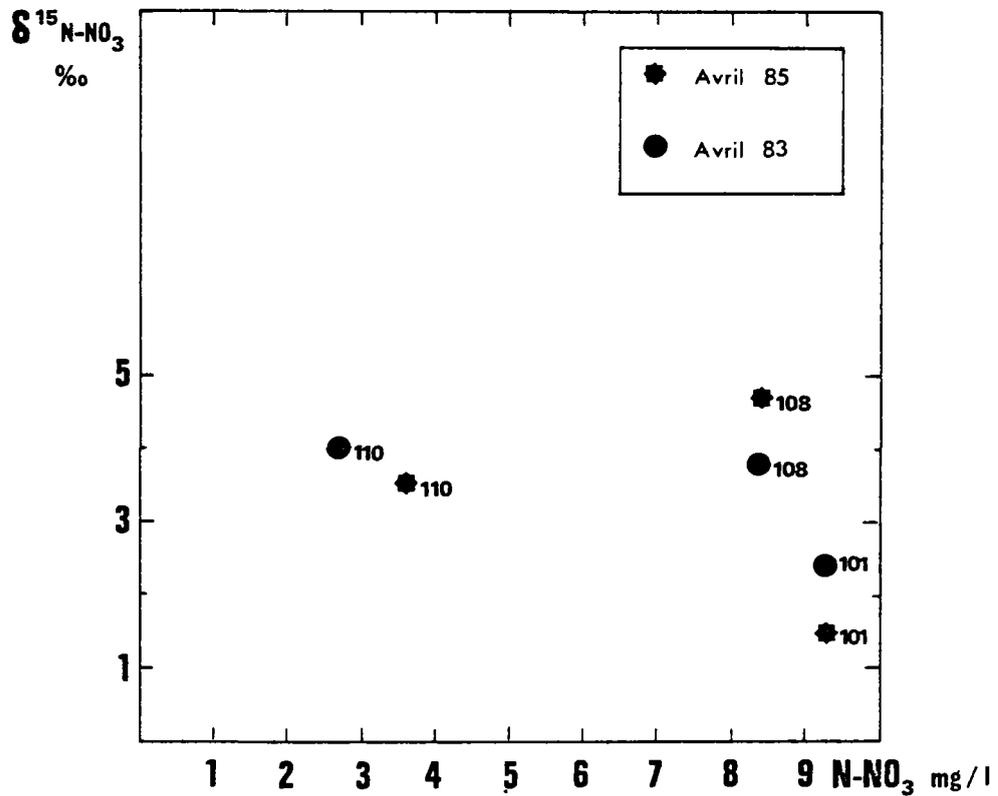


Figure 26 - Composition isotopique des nitrates de la Plaine de l'Ain

Au niveau du bois de Vergnes, les végétaux supérieurs puisent l'azote minéral (sous forme NO_3^-) nécessaire à leur métabolisme dans la nappe située à environ 3 mètres sous le sol. Ce phénomène naturel, sans doute à l'origine de la disparition d'une partie des nitrates contenus dans l'eau de la nappe, ne s'accompagne pas d'un fractionnement des isotopes de l'azote comme c'est le cas dans la dénitrification.

3.2 - LA NAPPE DU CALCAIRE DE CHAMPIGNY

Depuis plusieurs années, la contamination de la nappe du calcaire de Champigny par les nitrates se fait de plus en plus préoccupante. Or, il a été constaté, dans certains secteurs, particulièrement au passage nappe libre - nappe captive, des diminutions notables de ces teneurs en nitrates.

Cette observation peut conduire a priori à envisager l'existence possible d'un processus de dénitrification au sein de la nappe. Nous avons donc sélectionné et étudié un secteur déterminé de la Brie française où les teneurs en nitrates diminuent considérablement au sein de la nappe.

3.2.1 - Situation générale

Le secteur d'étude se situe en Brie française, région naturelle du Bassin parisien au NE de Paris.

La plateforme structurale des calcaires de l'Oligocène, légèrement inclinée d'Est en Ouest est drainée par deux ruisseaux temporaires affluents de l'Yerres, le ru d'Avon et l'Yvron.

Sur la figure 27 sont représentées les différentes formations géologiques constituant le plateau briard.

Du point de vue hydrogéologique, cet empilement de niveaux calcaires (Brie, Champigny s.s., Saint-Ouen, Lutétien) entre lesquels s'intercalent des marnes et des argiles imperméables (marnes vertes, marnes infraludiennes, "sables de Beauchamp" à faciès argileux, Yprésien), constitue un aquifère multicouche. L'absence locale de certains niveaux argileux a pour conséquence de favoriser la communication entre les différentes parties calcaires de l'aquifère et la propagation de la pollution azotée des nappes superficielles vers les nappes plus profondes en est facilitée.

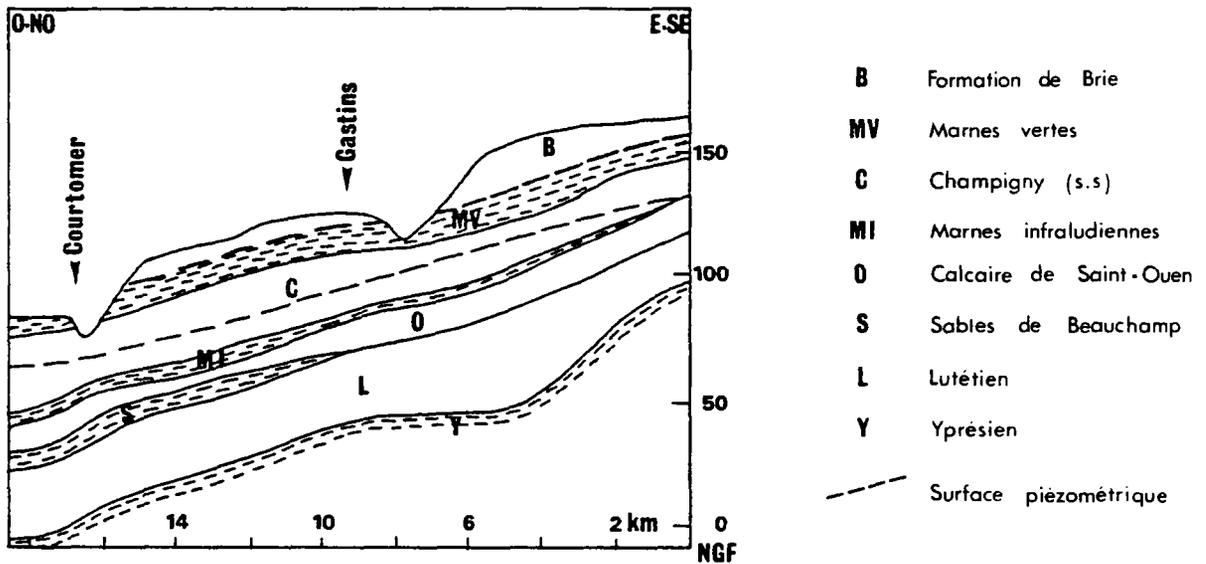
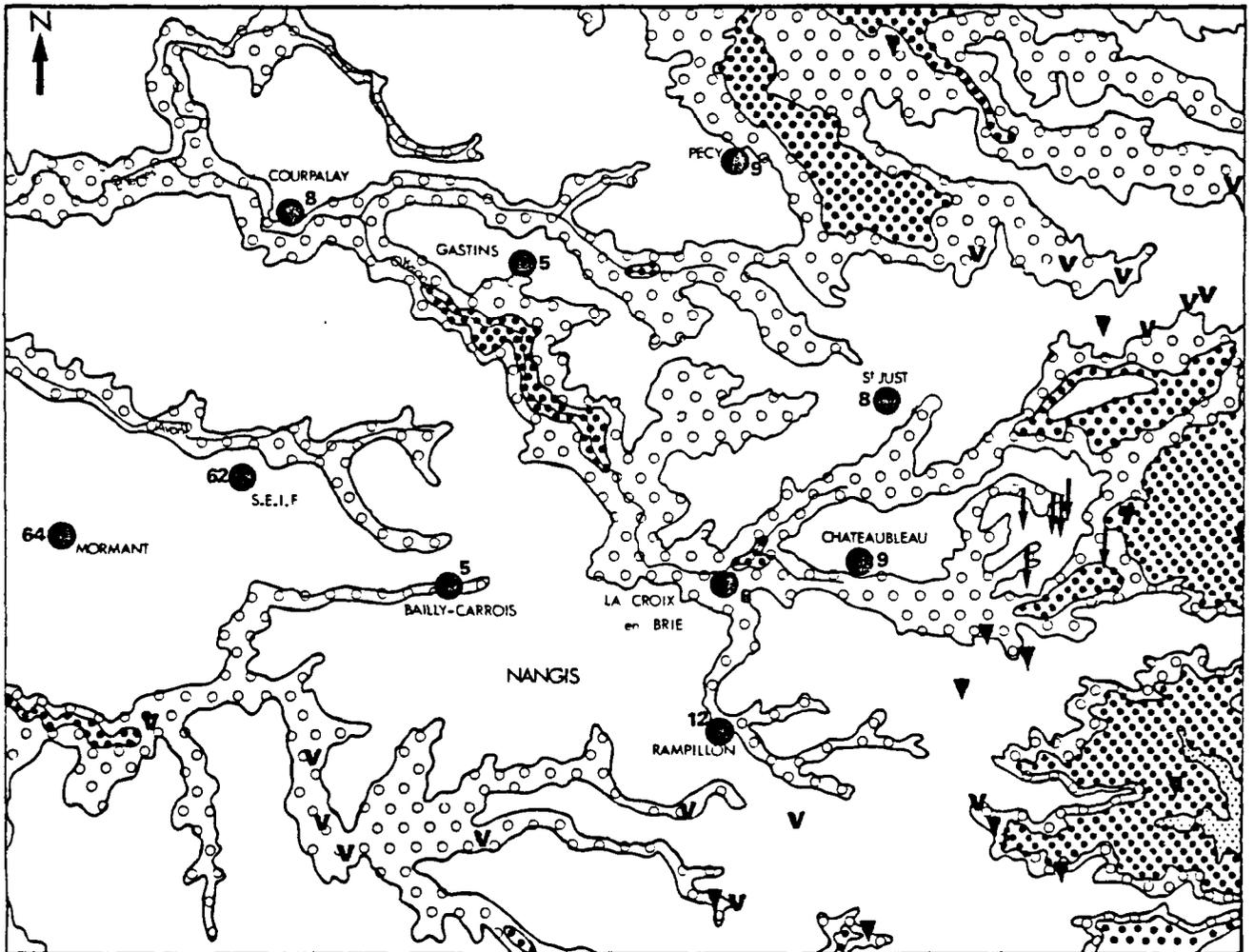


Figure 27 - Coupe géologique à travers le secteur d'étude
(d'après Berger et al., 1983)

Sur la carte géologique simplifiée (figure 28) sont reportés les différents points de prélèvement qui sont pour la plupart des captages d'adduction d'eau potable.

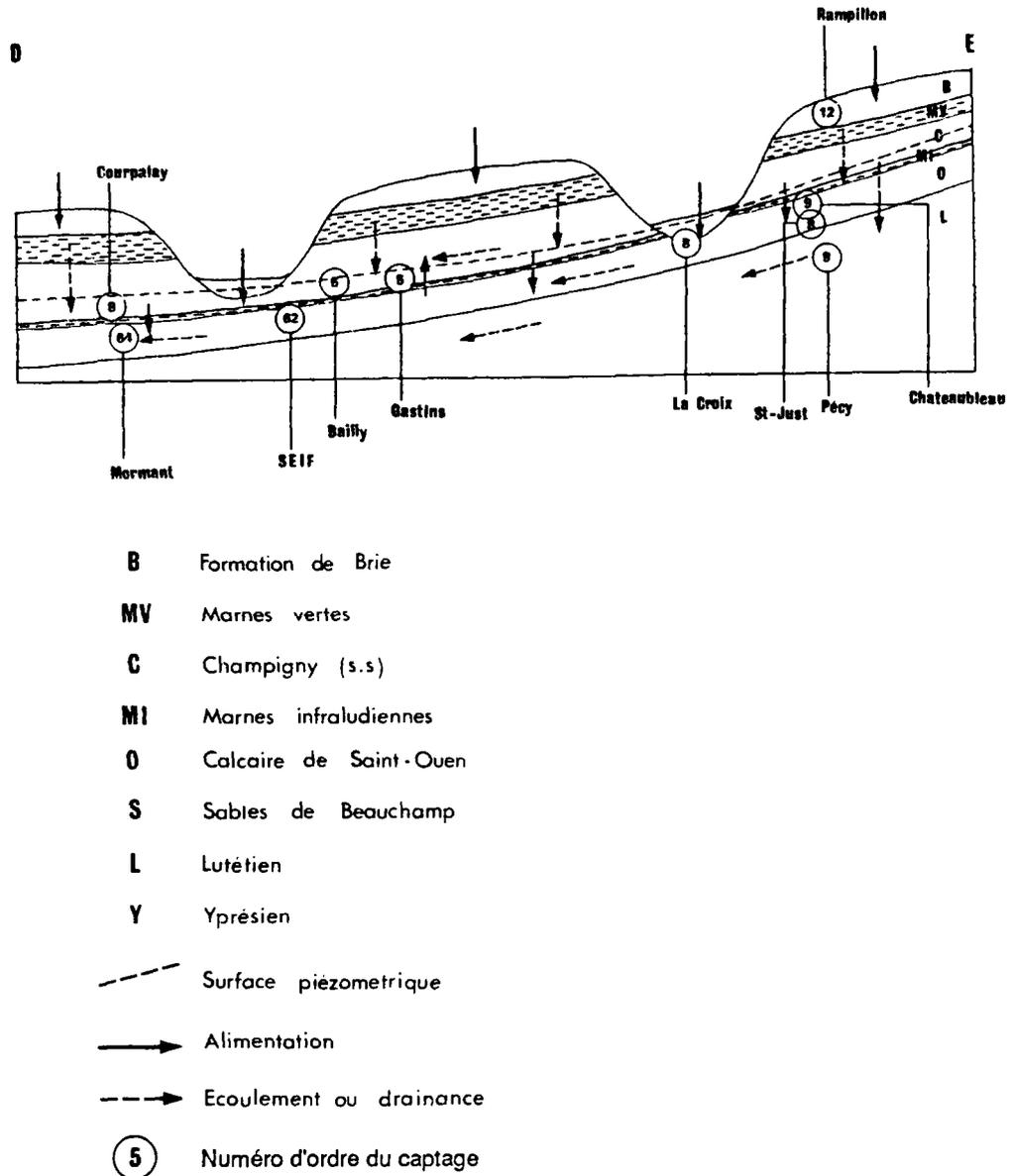
Les ouvrages qui ont fait l'objet de cette étude ont également été mentionnés sur la coupe hydrogéologique schématique, afin de mieux situer la formation aquifère qu'ils sollicitent (figure 29).



1/200 000 ème

-  Marnes vertes et supragypseuses
-  Calcaire de Champigny
-  Marnes infraludiennes
-  5 ● Numéro d'ordre du captage d'après l'indice national (cf. tableau IX)
-  V Gouffre existant
-  ↓ Puits ou forage absorbant
-  ▼ Dépression absorbante

Figure 28 - Carte géologique simplifiée du secteur d'étude ; localisation des points de prélèvement étudiés (modifiée de Berger et al., 1983)



**Figure 29 - Coupe hydrogéologique schématique du secteur d'étude.
 Localisation des points de prélèvement étudiés**

3.2.2 - Résultats

Le secteur d'étude se situe dans une zone de grandes cultures (blé - maïs - betterave). Au Sud, l'occupation des sols est surtout forestière alors qu'au Nord et à l'Est, elle est essentiellement rurale, exception faite de la forêt domaniale de Jouy-le-Châtel.

Le tableau IX regroupe les résultats d'analyses chimiques et isotopiques effectuées sur les différents points.

N° BRGM commune	Date	Niveau capté	T°C	pH	Eh mV	Conductivité $\mu\text{S.cm}^{-1}$	O ₂ % saturation	Oxydabilité mgO ₂ consommé.l ⁻¹	Fe total mg/l	Cl ⁻ mg/l	N-NO ₃ ⁻ mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰	3H U.T (BRGM)
259-3-12 RAMPILLON	12/83	BRIE (Libre)	9,5	7,3	207	800	29	0	0,04	47,3	10,6	6,2	25 ± 3
259-2-5 BAILLY- CARROIS	12/83	CHAMPIGNY (Libre)	8,8	7,1	146	752	31	0,03	0,04	36	9,2	7,7	31 ± 4
221-6-5 GASTINS	12/83	"	9,2	7,4	164	745	50	0,04	0,04	37	12,9	6,2	106 ± 9
221-5-8 COURPALAY	12/83	"	5,4	7,4	444	713	39	0,11	0,03	41,5	10,3	8,1	47 ± 5
259-3-8 LA CROIX- EN-BRIE	12/83	ST-OUEN (Libre)	7,9	7,1	144	797	39	0,10	0,03	45,8	11,4	7,7	61 ± 6
259-1-64 MORMANT- LADY	12/83	ST-OUEN (semi- captif)	9	7,3	106	663	32	0,14	0,09	35	3,6	10,5	32 ± 4
259-1-62 S.E.I.F.	12/83	ST-OUEN (semi- captif)	11,2	7,3	149	642	42	0,03	0,11	32	6,1	8,3	57 ± 5
259-3-9 CHATEAUBLEAU	12/83	ST-OUEN (captif)	10,4	7,2	539	569	31	0,0	0,02	20	4,8	5,1	48 ± 5
221-7-8 SAINT-JUST	12/83 01/85	ST-OUEN (captif)	10,6 -	7,5 -	167 -	557 -	49 -	0,03 -	0,07 -	20 -	2,4 2,6	6,6 7	< 1 -
221-7-9 PECY	12/83 01/85	LUTETIEN (captif)	7,3 -	7,7 -	147 -	480 -	41 -	0 -	0,05 -	~ 10 -	0 0,1	- 1,1	< 1 -

TABLEAU IX - Résultats d'analyses chimiques et isotopiques, dans le secteur nord de Nanterre (Brie)

Des variations des teneurs en nitrate, chlorures et de la minéralisation globale (évaluée par la mesure de conductivité) apparaissent entre les différents niveaux captés. La minéralisation des eaux souterraines (d'après un historique effectué par le BRGM : Berger et al., 1983) augmente constamment depuis 1947 aussi bien dans les nappes libres (Brie et Champigny s.s.) que dans les nappes captives (St-Ouen, Lutétien) : cette constatation semble indiquer que l'alimentation des différents aquifères s'effectue verticalement et latéralement des zones libres vers les captives.

Les eaux les plus chargées en nitrates (tableau IX) sont celles captées dans la nappe libre du calcaire de Champigny s.s. (la teneur en azote nitrique atteint 13 mg/l) ; par contre en ce qui concerne les aquifères inférieurs (St-Ouen, Lutétien), captifs dans leur majeure partie, la concentration en azote est inférieure à 6 mg/l (au forage de Pécy, C = 0) : la perte d'azote entre la nappe supérieure du calcaire de Champigny et celle du calcaire de St-Ouen est donc d'environ 7 mg/l.

Les mesures de composition isotopique en ^{15}N effectuées sur les nitrates des eaux prélevées dans les différents niveaux aquifères montrent que ce n'est pas la dénitrification qui est responsable de la perte d'azote mentionnée ci-dessus. En effet, les $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$ apparaissent relativement constants (figure 30). D'une façon générale, la composition isotopique des nitrates ne varie pas beaucoup d'un aquifère à l'autre : dans le Champigny, les $\delta^{15}\text{N}$ sont compris entre 6,2 et 8,1 ‰ ($\bar{m} = 7,3$; $\sigma = 1,0$) et sont conformes à ceux mesurés par Mariotti (1982) lors d'une étude sur l'origine des pollutions azotées dans les aquifères de la Brie si l'on excepte les valeurs très élevées du val de l'Yerres liées à une contamination d'origine organique domestique. La composition isotopique est celle de nitrates naturels de sols cultivés avec une faible contribution de nitrates d'engrais (pour les valeurs les plus basses).

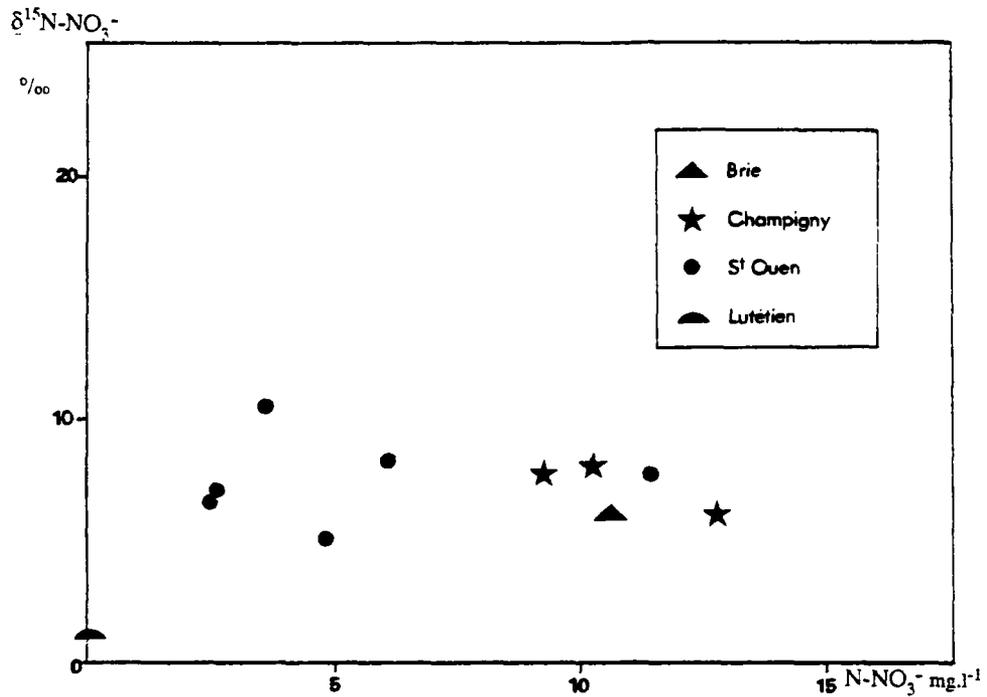


Figure 30 - Composition isotopique des nitrates des différents aquifères de Brie

La composition isotopique en ^{15}N des nitrates dans l'aquifère de Saint-Ouen varie de 5,1 à 8,3 ‰ ($\bar{m} = 6,9$; $\sigma = 1,2$) pour des teneurs en azote nitrique beaucoup plus basses que dans le Champigny, mis à part le forage de La-Croix-en-Brie, situé dans la vallée de l'Yvron et au niveau duquel la nappe est libre et la concentration en azote voisine de celle rencontrée dans le Champigny et le Brie.

La valeur élevée de $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ mesurée au captage de Mormant-Lady (+ 10,5 ‰) pourrait correspondre à une pollution locale de nature organique (cf. paragraphe 1.3).

Dans le Lutétien, les nitrates ont une composition isotopique beaucoup plus basse ($\delta^{15}\text{N-NO}_3 = + 1,1$ ‰) et la concentration en azote nitrique est proche de zéro.

Ce résultat est à rapprocher de ceux obtenus sur le site du camp militaire de Mailly en Champagne. On trouvera au chapitre III, § III.3.3.1.D, une explication concernant la présence dans des milieux où une forte pollution par des nitrates de synthèse industrielle est peu probable, de nitrate à $\delta^{15}\text{N}$ aussi bas.

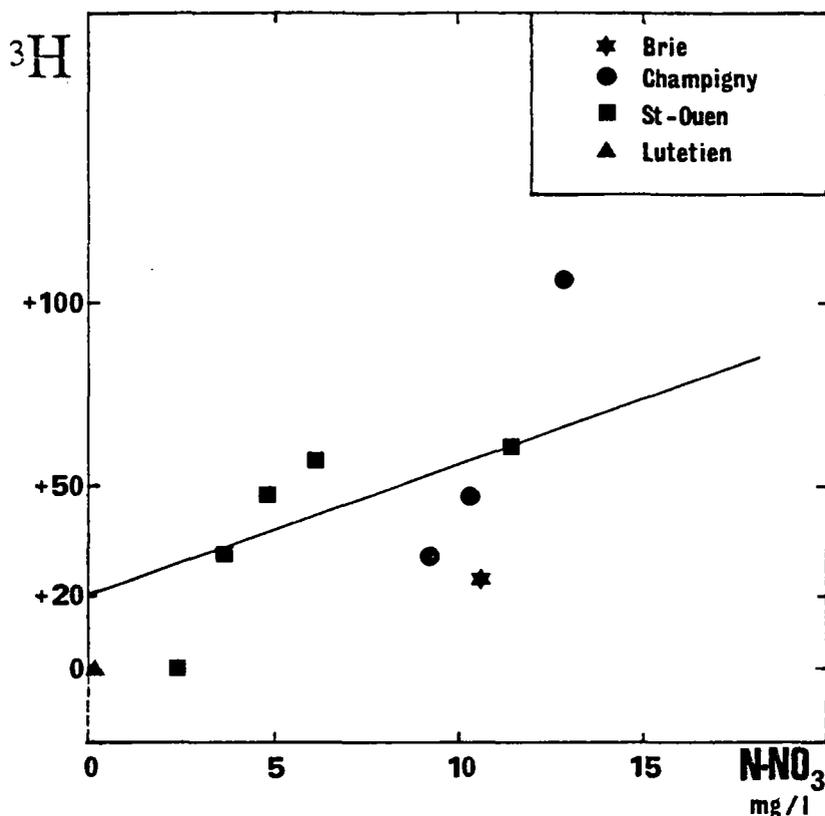


Figure 31 - Relation Tritium-concentration en azote nitrique dans les aquifères de la Brie

Sur la figure 31 sont portées les valeurs de tritium en fonction de la teneur en azote nitrique. Il apparaît que les faibles concentrations en nitrates correspondent à des eaux anciennes (^3H inférieure à 1 U.T.), Olive (1970), Létolle et Olive (1983). Par contre, les eaux du calcaire de St-Ouen sont des eaux récentes, proches de celles du calcaire de Champigny, ce qui souligne les relations existantes entre les deux nappes.

Comme les diminutions des teneurs en azote nitrique ne s'accompagnent d'aucune variation significative du contenu en ^{15}N , il paraît plus vraisemblable d'en attribuer la responsabilité à un phénomène de dilution avec des eaux peu ou pas chargées en nitrates.

3.3 - LA NAPPE DE LA CRAIE DANS LE NORD DE LA FRANCE

3.3.1 - Présentation générale

A - Situation

Le secteur d'étude se situe au NE de Paris, dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais, entre Lille au Nord et Douai au Sud (figure 32).

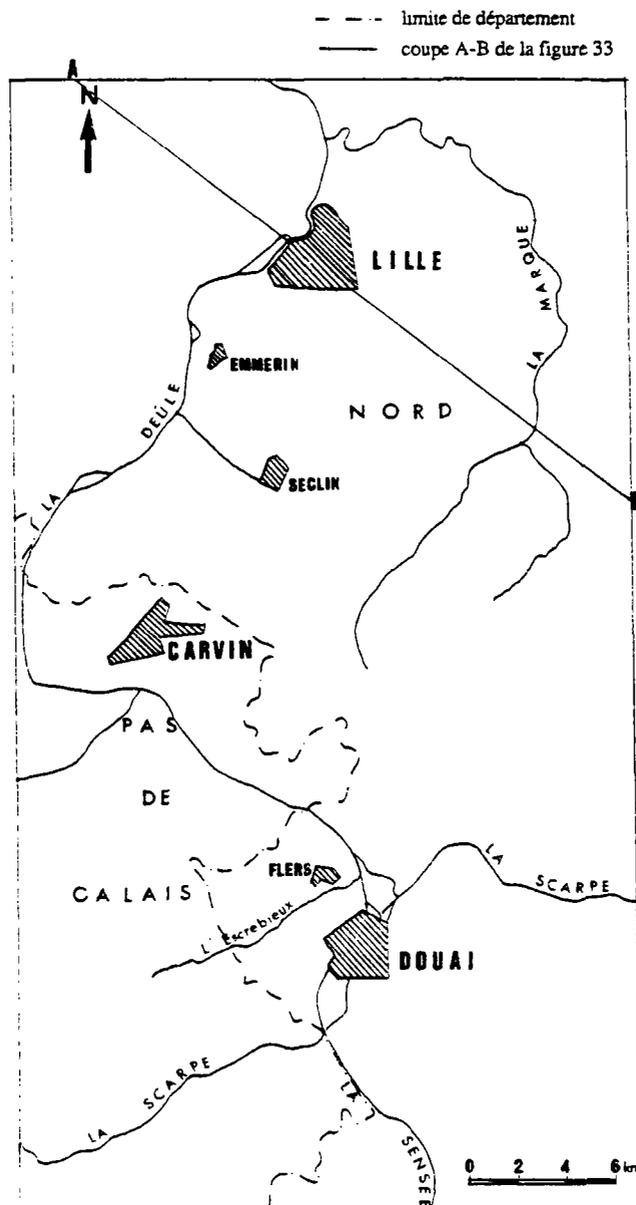


Figure 32 - Carte de localisation du secteur d'étude

Cette région, à vocation à la fois agricole et industrielle, est drainée essentiellement par trois principaux cours d'eau : la Deûle, la Scarpe et la Sensée qui sont en majeure partie canalisés.

B - Contexte géologique

La coupe géologique (figure 33) montre les différentes formations constituant le sous-sol de cette région, successivement :

**** Formations quaternaires :**

Matériaux sablo-argileux avec localement des passées de tourbe et des lits de graviers crayeux.

Lorsque les alluvions reposent sur les formations tertiaires, il y a passage vertical ou latéral progressif de celles-ci aux terrains tertiaires. Ces sables argileux sont parfois glauconieux.

**** Formations tertiaires :**

- Yprésien argileux : argiles plastiques bleu-noir présentant de petits lits sableux vers la base et pouvant contenir de la pyrite. A la base, se rencontre parfois un mince niveau de sables limoniteux de couleur fauve à stratification entrecroisée ("Oldhaven beds" du bassin de Londres).

-Landenien :

+ au sommet les sables d'Ostricourt sont des sables fins gris ou verdâtres, glauconieux, teintés en jaune par altération. Ils sont de plus en plus glauconieux vers la base et renferment des nodules pyriteux (20 à 30 m d'épaisseur).

+ à la base, les argiles de Louvil, argiles plastiques gris-noir ou verdâtres, présentant quelques nodules phosphatés, des lignites et parfois des niveaux de sables fins glauconieux plus ou moins consolidés par un ciment d'opale (Tuffeau de Valenciennes). Leur puissance est de 10 à 12 m au maximum.

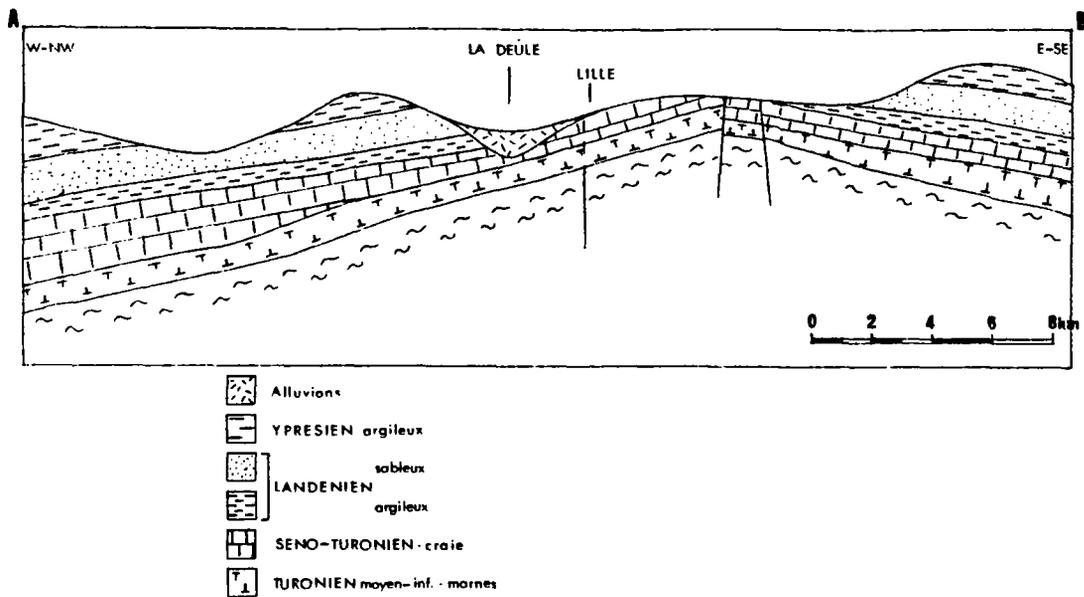


Figure 33 - Coupe schématique à travers le secteur d'étude (l'épaisseur des différentes formations n'a pas été respectée)

** Formations secondaires

- Sénonien - Turonien supérieur : la craie sénonienne est une craie blanche tendre, en bancs de 0,3 m environ et à rares silex. Le passage à la craie grise glauconifère du Turonien sup. (craie légèrement phosphatée et à nombreux silex) s'effectue par une alternance de craie tendre et de bancs de "tun" et "meule" composés, soit de rognons de craie durcie et phosphatée, auréolés de glauconie et enfermés dans une pâte de craie blanche parfois glauconieuse, soit de craie dure compacte et homogène.

- Turonien moyen - inférieur : marnes compactes gris-bleues où s'intercalent parfois des bancs de craie. C'est le substratum imperméable de la nappe de la craie séno-turonienne sup. susjacent.

C - Hydrogéologie

Par sa facile exploitabilité (débits importants à faible profondeur), la craie du Séno-Turonien supérieur représente dans cette région le principal aquifère.

La nappe circule dans le réseau de fissures de la craie, qui est surtout développé dans les vallées où sont implantés de grands champs captants.

Son alimentation se fait par impluvium direct sur les zones d'affleurement et par infiltration des eaux à travers la zone non saturée, là où le recouvrement argileux, tertiaire ou quaternaire imperméable fait défaut.

La nappe de la craie est tantôt libre (dôme anticlinal du Mélantois) dans les zones sans recouvrement argileux et lorsque la surface piézométrique est située en-dessous de la base du recouvrement, tantôt captive (bassin d'Orchies et bassin des Flandres) sous recouvrement argileux alluvionnaire ou tertiaire, lorsque la surface piézométrique est au-dessus de la base du recouvrement (figure 34).

La piézométrie de la nappe reprise de **Caulier et Préaux (1983)** montre que le bassin d'Orchies en bordure SW duquel se situe le champ captant de Flers-en-Escrebieux, est principalement alimenté par le secteur S-SW de la zone d'étude (figure 34). Au nord, un écoulement divergent provenant du dôme du Mélantois alimente à la fois le bassin d'Orchies au Sud et le bassin des Flandres au Nord et à l'Ouest où sont implantés les grands champs captants des Ansereuilles, d'Emmerin, d'Houplin-Ancoisne et de la Carnoye.

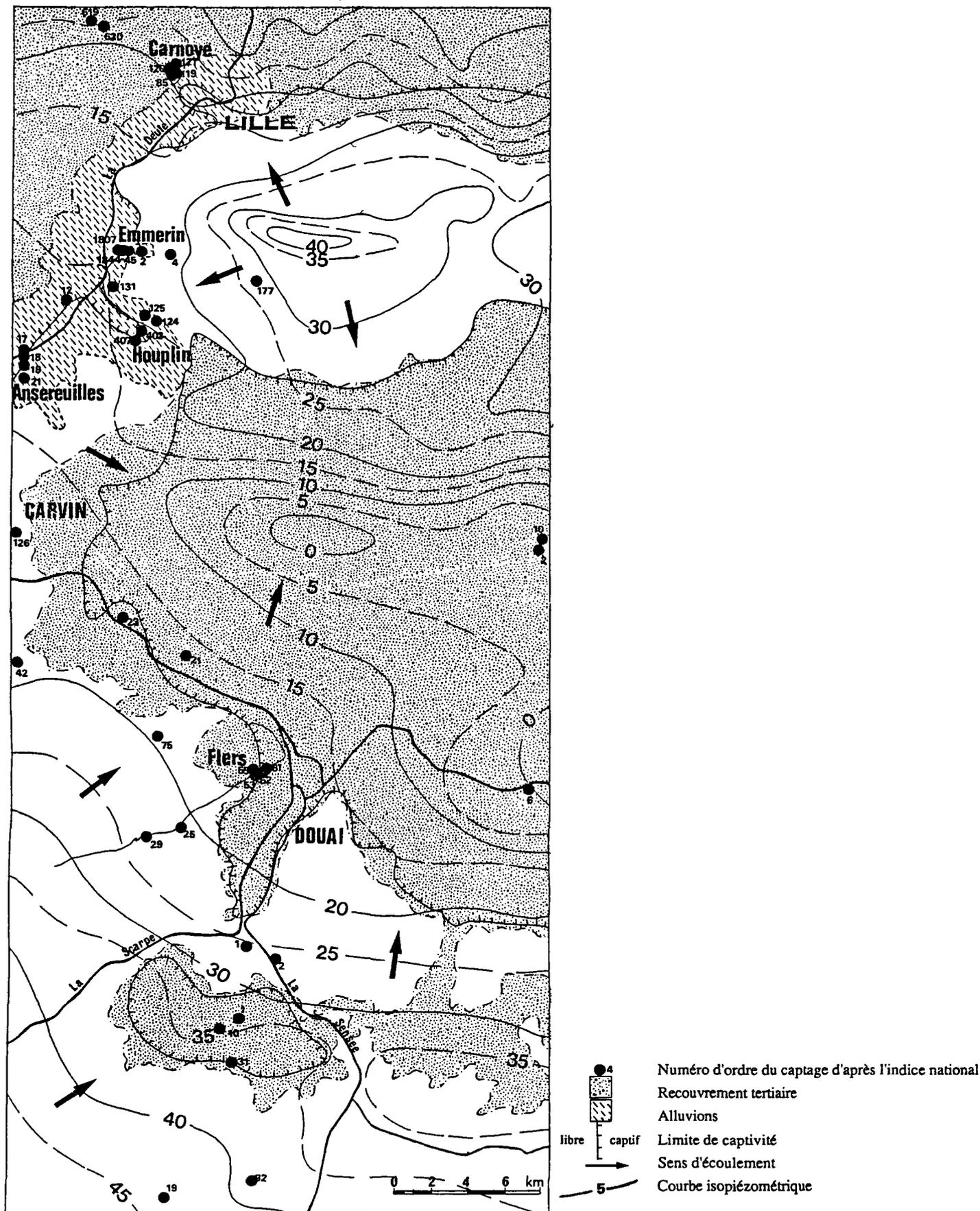


Figure 34 - Carte hydrogéologique du secteur d'étude

D - Résultats généraux

Un récent rapport sur la nappe de la craie dans le Nord de la France (Caulier et Préaux, 1983) fait état de diminutions importantes des teneurs en nitrates lors du passage de la nappe de l'état libre à l'état captif.

On remarque en effet dans certains cas particuliers et pour de grands champs captants (La Carnoye au NW de Lille, Emmerin, les Ansereuilles et Houplin-Ancoisne au Nord de Carvin, Flers-en-Escrebieux au NW de Douai ; figure 34), une évolution très rapide des teneurs en nitrates de valeurs supérieures à 50 mg/l à des valeurs inférieures à 10 mg/l. Cette diminution, qui se situe dans les zones de passage en captivité de la nappe, est bien mise en évidence sur la coupe de l'annexe 1, par le profil des teneurs en nitrates.

A quel(s) phénomène(s) peut-on attribuer de telles diminutions : dénitrification ou dilution ?

Pour essayer de répondre à cette question, nous avons effectué des analyses isotopiques en ^{15}N sur les nitrates des différents points de prélèvement (choisis pour la plupart sur le profil de l'annexe 1) qui se situent dans trois types de secteur (figure 34 et annexe 1), lors de quatre campagnes successives.

L'ensemble des résultats isotopiques est porté sur la figure 35 en fonction de la teneur en azote nitrique.

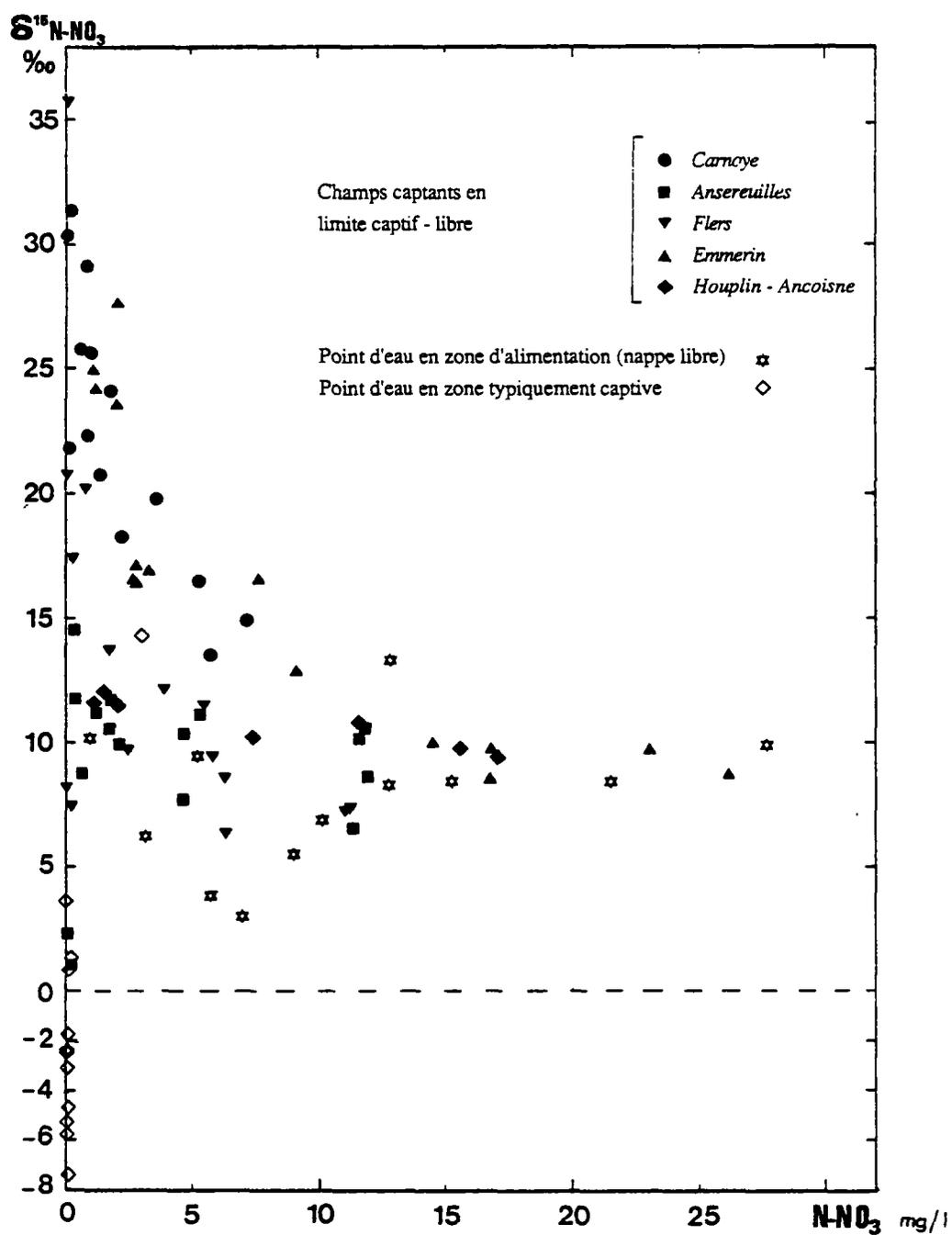


Figure 35 - Composition isotopique des nitrates de la nappe de la craie dans le Nord de la France

On constate sur cette figure :

1) En zone d'alimentation (nappe libre) : les teneurs en azote sont toujours élevées et les compositions isotopiques comprises entre + 3 et + 10 ‰ pour la plupart ; seule une valeur atteint + 13,3 ‰ (tableau X).

En fait, les valeurs se répartissent suivant deux zones distinctes correspondant à des occupations du sol différentes :

- une zone sud, à vocation agricole, où les compositions isotopiques sont comprises entre + 3 et + 7 ‰ ; une valeur à 10,1 ‰ fait exception.
- une zone nord, urbanisée, avec des compositions isotopiques qui varient entre + 7 et + 10 ‰ ; une valeur atteint + 13,3 ‰.

Commune	Indice national du captage (désignation)	Date	N-NO ₃ ⁻ mg/l	δ ¹⁵ N-NO ₃ ⁻ ‰
Templemars	20-3-177(F1)	novembre 83	21,6	8,4
		février 84	27,7	9,9
Annay-sous-Lens	20-5-1 (F1)	novembre 83	15,3	8,4
Estevelles	20-5-126 (F1)	novembre 83	5,2	9,4
Montigny-en-Gohelle	20-5-42	février 84	12,8	13,3
Courcelles-lès-Lens	20-6-75	" "	3,1	6,2
Esquerchin	27-2-25 (F2)	novembre 83	9,0	5,5
Quiéry-la-Motte	27-2-29	février 84	10,1	6,9
Dury	27-6-19	mars 83	5,8	3,8
Ecourt-St-Quentin	27-6-32	novembre 83	7,0	3,0
Corbehem	27-2-1	mars 84	1	10,1
Férin	27-3-2	" "	0	-

Tableau X - Composition isotopique des nitrates en nappe libre

Cette observation est cohérente avec les résultats concernant l'application du traçage isotopique naturel à l'identification des sources de pollution en nitrates (Mariotti, 1982, 1984).

La zone sud correspond à une zone agricole avec des compositions isotopiques en ^{15}N plus ou moins basses en fonction du pourcentage d'engrais ($\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3$ compris entre 0 et 2 ‰).

La zone Nord, plus urbanisée présente des nitrates à composition isotopique plus élevée (le pourcentage d'azote nitrique d'origine domestique est plus ou moins important). Cet enrichissement en ^{15}N provient du processus de volatilisation de l'ammoniac (cf. paragraphe III.1.3) ; la valeur maximale mesurée est de + 13,3 ‰.

2) Dans les champs captants situés au passage nappe libre - nappe captive (tableau XI ; fig. 37) : nous constatons qu'à partir du "niveau de base" de composition isotopique en azote 15, variable selon le type d'occupation des sols, les teneurs en nitrates diminuent et leur composition isotopique augmente considérablement, pouvant atteindre + 35,6 ‰.

Nom du champ captant	Commune	Indice national du captage	Désignation
La Carnoye	Lambersart	14-6-85	F1
		14-6-119	F3
		14-6-120	F4
		14-6-121	F5
Emmerin	Wattignies	14-6-4	F4
		14-6-2	F2
		14-6-1807	Pz 24
		14-6-1844	Pz 26
		14-6-1845	Pz 27
Houplin-Ancoisne	Houplin Ancoisne	20-2-124	F3
		20-2-125	F4
		20-2-131	F10
		20-2-407	F11
		20-2-403	Pz 21
Les Ansereuilles	Wavrin	20-1-12	F12
		20-1-17	F17
		20-1-18	F18
		20-1-19	F19
		20-1-21	F21
Flers-en-Escrebieux	Flers-en-Escrebieux	27-3-51	F1
		27-3-52	F2
		27-3-53	F3
		27-3-55	F5

Tableau XI - Dénomination des forages des différents champs-captants concernés par cette étude

En fait, cet enrichissement isotopique apparaît bien à la Carnoye, Emmerin et Flers-en-Escrebieux. Aux Ansereuilles et à Houplin-Ancoisne (figure 36), l'enrichissement isotopique en ^{15}N est faible ou inexistant.

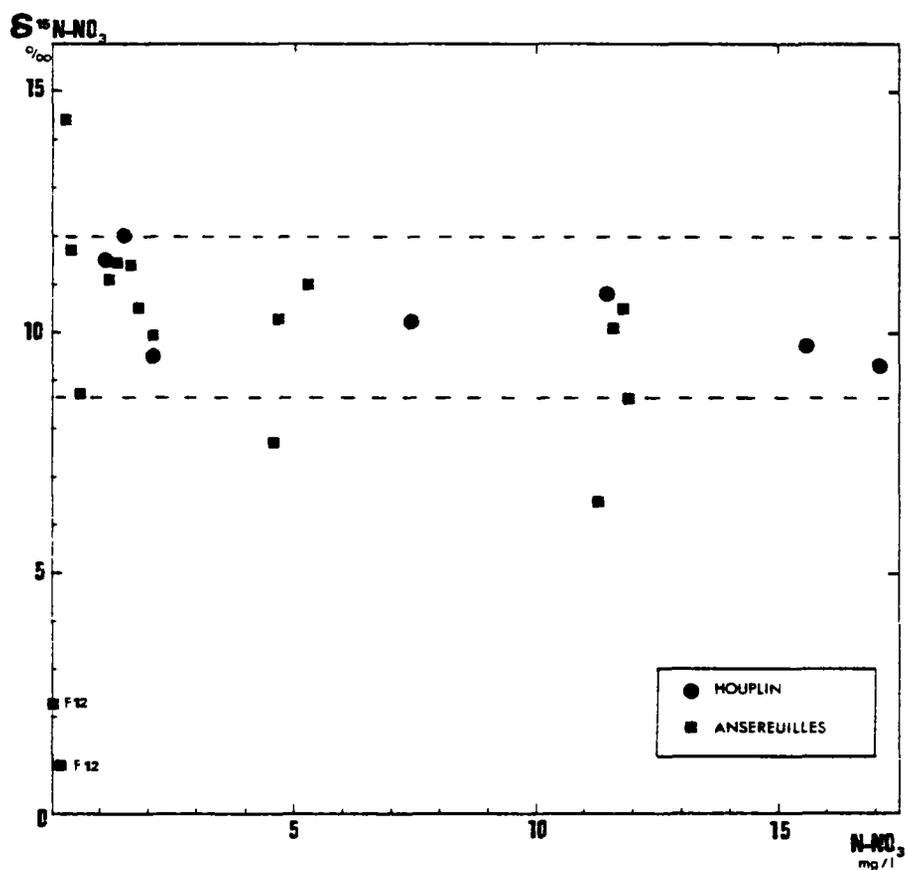


Figure 36 - Composition isotopique des nitrates des champs captants d'Houplin-Ancoisne et des Ansereuilles

La dénitrification est très probable pour les trois premiers champs captants précédemment cités. Une étude détaillée de ces différents sites sera effectuée (§ 3.3.2).

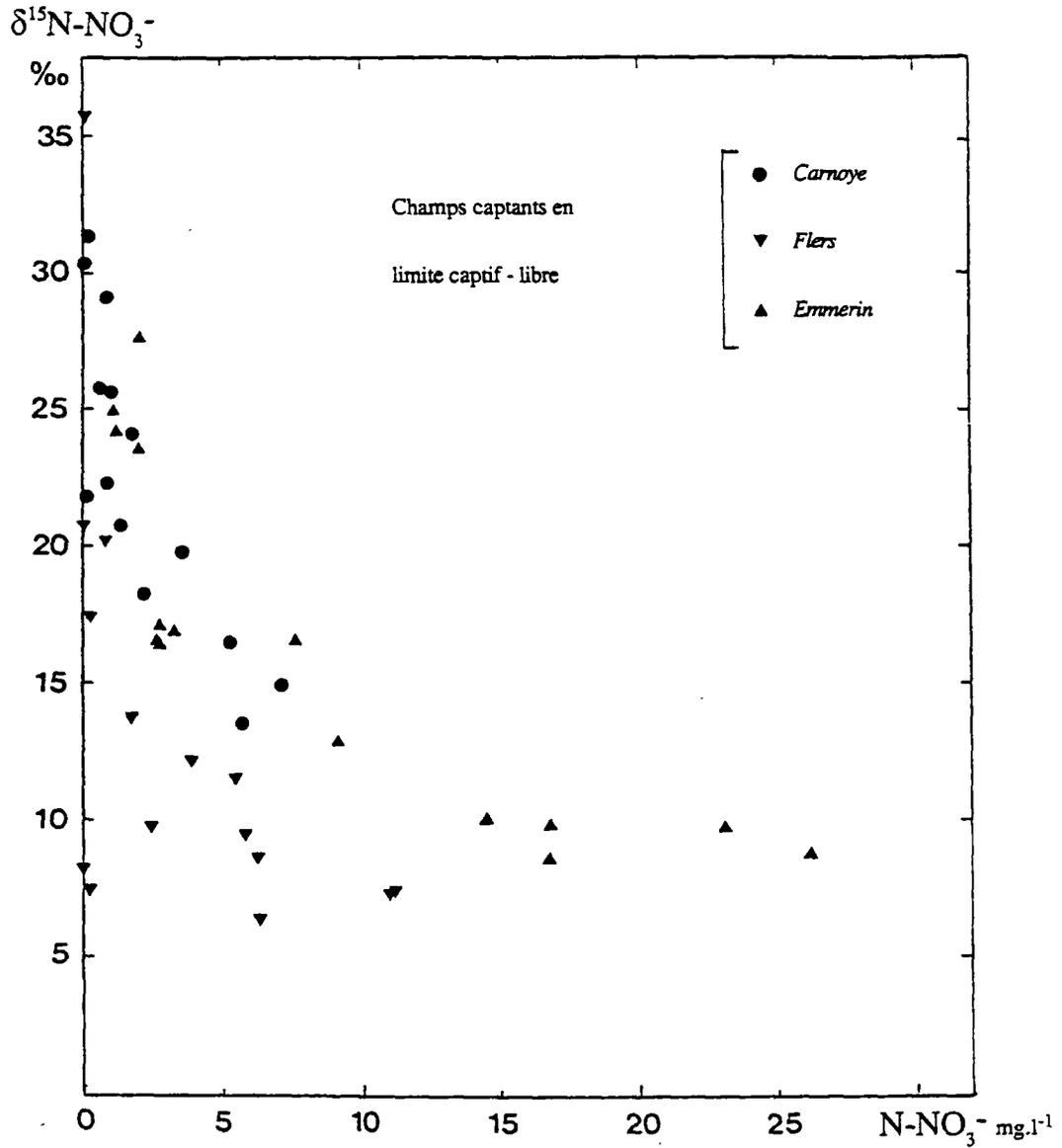


Figure 37 - Composition isotopique des nitrates des champs captants de La Carnoye, d'Emmerin et Flers

- 3) En zone typiquement captive (recouvrement tertiaire argileux épais de 30 à 60 mètres, la surface piézométrique étant entre - 10 et - 30 mètres sous la surface du sol) : la teneur en azote nitrique est toujours très faible (tableau XII ; $\bar{m} = 0,05$) et la composition isotopique en ^{15}N très basse, souvent négative.

Commune	Indice national du forage (désignation)	Date	N-NO_3^- mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰
Pérenchies	14-6-619 (F1)	novembre 83	0,04	+ 3,6
		février 84	0	-
		novembre 84	0,05	- 1,8
Pérenchies	14-6-620 (F2)	mai 85	0,10	- 7,4
Auchy-les-Orchies	10-8-10 (F2)	novembre 83	0,05	- 2,4
Auchy-les-Orchies	20-8-2 (F1)	février 84	0,07	- 2,7
		mai 84	0,08	- 3,1
Evin-Malmaison	20-6-21	mars 84	0,23	+ 1,3
Pecquencourt	27-4-6 (FB1) Abri 6	novembre 83	0,02	-
		mars 84	0,02	- 2,4
		mai 84	0,05	- 5,8
Gouy-sous-Bellonne	27-6-1	novembre 83	0,04	-
		mars 84	0,01	- 2,3
		mai 84	0,01	- 5,2
Bellonne	27-6-10	mars 84	0,01	+ 0,9
Moyenne $\bar{m} =$			0,05	

Tableau XII - Variations de la composition isotopique des nitrates en zone typiquement captive

Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus au camp militaire de Mailly situé sur la craie en Champagne par M. Mariotti et Muller (INRA Châlons/Marne), lors d'une étude de la migration des nitrates dans la zone non saturée en pays de craie (Coniacien).

C'est un milieu naturel, jamais cultivé (camp militaire) et dont la végétation se compose exclusivement de friche et du savar (steppe à graminées).

Les compositions isotopiques ont été analysées sur les nitrates contenus dans l'eau de carottes prélevées en sondage par M. Muller (INRA Châlons-sur-Marne).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau XIII.

Profondeur (cm)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3$ ‰
0-25	- 4,4
25-50	- 4,6
50-75	- 4,7
100	- 5,6
200	- 4,7
300	- 6,2
400	- 4,6
500	- 7,5
600	- 4,4
700	- 5,1
800	- 6,0

Tableau XIII - Résultats des compositions isotopiques mesurées sur les nitrates prélevés au camp de Mailly (Mariotti et Muller, comm. personn.)

Il s'agit de nitrates synthétisés naturellement par minéralisation de la matière organique de ces sols vierges sur craie. Il paraît vraisemblable d'attribuer la même origine naturelle (minéralisation de la matière organique de sols sur craie non transformés par la mise en culture) aux nitrates présents en zone typiquement captive de la nappe de la craie dans le Nord de la France ; en effet les compositions isotopiques en ^{15}N sont tout à fait comparables.

3.3.2 - Etude détaillée des champs captants

A - Champs captants des Ansereuilles et d'Houplin-Ancoisne

A1 - Présentation

Ces deux champs captants sont situés respectivement en bordure du canal de la Deûle et du canal de Seclin (figure 34).

La vallée de la Deûle, creusée dans la craie du Séno-Turonien supérieur, est remblayée par des alluvions argilo-sableuses provenant du démantèlement des dépôts tertiaires.

*** Contexte hydrogéologique**

Ce qui caractérise ce secteur d'étude, ce sont les relations hydrauliques qui existent entre la nappe de la craie et les canaux.

La carte figurant en annexe 2 (reprise de Talbot et al., 1985) souligne le fait que la Deûle est en position d'alimentation par rapport à la nappe de la craie, notamment au Sud des Ansereuilles.

Sur cette carte, on observe une très nette dépression piézométrique au niveau des champs captants des Ansereuilles et d'Houplin-Ancoisne, engendrée par l'importance des prélèvements, ce qui de surcroît accentue les relations entre les nappes et les canaux.

D'autre part, un certain nombre de piézomètres doubles (l'un captant la nappe des alluvions, l'autre la craie) ont été réalisés par le BRGM.

L'examen lithologique de ces sondages n'a pas suffi pour apprécier la qualité des communications verticales existant entre les deux nappes.

Cependant, il est intéressant de noter que la nappe des alluvions présente systématiquement une charge plus importante que celle de la nappe de la craie (tableau XIV).

Ouvrages de référence	ΔH (en m)
Pz 32 A/Pz 32 C	0,02
Pz 34 A/Pz 34 C	1,48
Pz 37 A/P 37 C	0,05
Pz 38 A/Pz 38 C	0,05
Pz 39 A/Pz 39 C	0,76
Pz 43 A/F9	16,72
Pz 45 A/F22	8,90

Tableau XIV - Différences de charge mesurées entre les différents piézomètres aux alluvions (Pz 32 A) et à la craie (Pz 32 C)- Situation des piézomètres sur la carte de l'annexe 2 (repris de Talbot et al., 1985)

Cette différence de charge est commandée pour l'essentiel par la position des ouvrages par rapport à la dépression piézométrique des Ansereuilles et d'Houplin-Ancoisne et par l'épaisseur et la nature de la couverture quaternaire, et accessoirement par les profondeurs de pénétration dans les niveaux aquifères alluviaux et crayeux (Talbot et al., 1985).

*** Contexte hydrochimique**

Afin de vérifier s'il existait réellement des différences de qualité d'eau entre les deux nappes (alluviale et de la craie), des analyses ont été effectuées dans les piézomètres doubles (Talbot et al., 1985).

La comparaison des résultats (tableaux XV et XVI, figure 38) montre qu'en règle générale, il règne des conditions plus réductrices dans les alluvions : les teneurs en fer et manganèse, pour la plupart des piézomètres considérés, sont supérieures à celles mesurées dans la nappe de la craie.

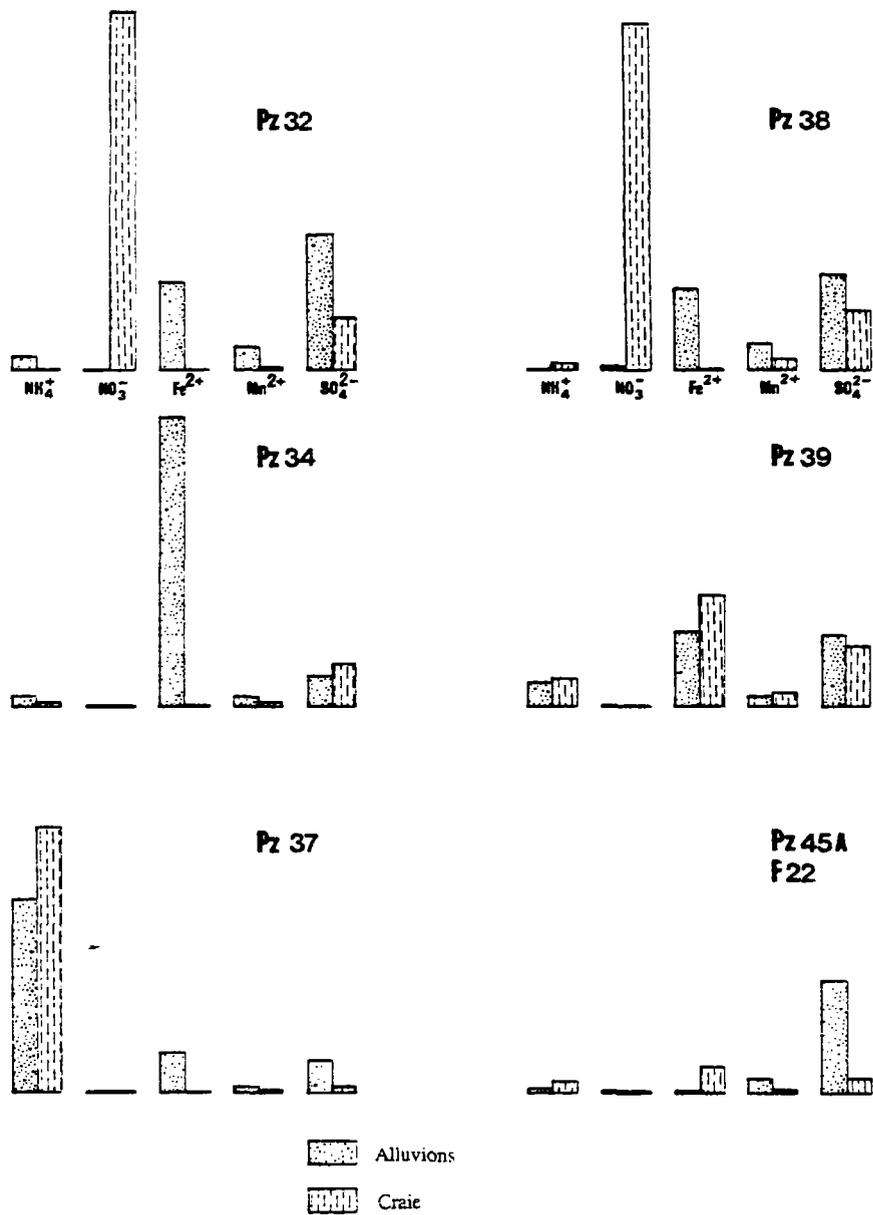


Figure 38 - Comparaison du chimisme des deux nappes au niveau des piézomètres doubles (d'après les données de Talbot et al., 1985)

SO_4^{2-} : 1 cm = 300 mg/l

Fe^{2+} , Mn^{2+} , NH_4^+ , NO_3^- : 1 cm = 3 mg/l

L'ammonium, quant à lui, est le plus souvent présent ; il peut apparaître en forte concentration, que ce soit dans la nappe alluviale ou dans celle de la craie. Les nitrates lorsqu'ils sont présents apparaissent uniquement dans la nappe de la craie et en forte concentration. La teneur en sulfates semble assez systématiquement (sauf dans le piézomètre double 34) plus importante dans les alluvions.

Indice national	RS mg/l	RO ohm/cm	TH oF	Cl mg/l	SO4 mg/l	Fe mg/l	Mn mg/l	NH4 mg/l	NO2 mg/l	NO3 mg/l	N total mg/l
Désignation	mg/l de N										
20 1C0447Pz32A	725	565	120	96	547	3.6	0.940	0.55 0.45	<0.05 <0.02	<0.10 <0.03	0.45
20 1C0449Pz34A	900	865	66.4	57	131	12	0.380	0.35 0.28	<0.05 <0.02	<0.10 <0.03	0.28
20 1B0451Pz35A	830	910	58.4	66	120	0.5	0.293	3.9 3.05	<0.05 <0.02	<0.10 <0.03	3.05
20 5A0330 P37A	685	1110	38.8	64	127	1.6	0.178	8.0 6.2	<0.05 <0.02	<0.10 0.03	6.2
20 1C0454 P38A	1135	740	78.8	65	395	3.4	1.05	<0.05 <0.04	<0.05 <0.02	0.10 0.03	0.03
20 1B0456 P39A	910	870	64.4	81	293	3.1	0.480	1.05 0.80	<0.05 <0.02	<0.10 <0.03	0.80
20 1B0457 P42A	1095	770	79.6	91	300	3.9	0.448	1.7 1.32	<0.05 <0.02	0.44 0.10	0.42
20 1B0458 P43A	755	950	53.2	64	200	3.3	0.958	1.55 1.20	<0.05 <0.02	<0.10 <0.03	1.20
20 1B0459 P44A	540	1150	32.2	66	90	0.6	0.180	11.0 8.55	0.08 0.02	1.5 0.33	8.90
20 1B0460 P45A	1275	740	84	114	460	0.1	0.450	<0.05 <0.04	0.15 0.11	<0.10 <0.03	0.11

**Tableau XV - Résultats des analyses effectuées sur la nappe des alluvions
(d'après Talbot et al., 1985)**

Indice national	RS mg/l	RO ohm/cm	TH °F	Cl ⁻ mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	Fe mg/l	Mn ²⁺ mg/l	NH ₄ ⁺ mg/l	NO ₂ ⁻ mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l
Désignation										
20-1C6446 Pz 32 C	964	950	61,8	46	217	< 0,05	0,110	< 0,05 < 0,04	< 0,05 < 0,02	14,9 3,38
20-1C-448 Pz 34 C	889	960	61,6	49	176	< 0,05	0,153	0,10 0,08	< 0,05 < 0,02	< 0,10 < 0,03
20-5x-329 Pz 37 C	458	1305	27,2	64	20	< 0,05	0,150	11,0 8,56	0,12 0,04	< 0,10 < 0,03
20-1C-453 Pz 38 C	907	890	58,6	70	254	< 0,05	0,50	0,32 0,25	< 0,05 < 0,02	14,4 3,23
20-1B-455 Pz 39 C	1173	755	72,0	70	254	4,60	0,536	1,08 0,84	< 0,05 < 0,02	< 0,1 < 0,03
20-1B-22 F22		1315	39,6	52	53,8	1,0	0,045	0,35 0,27	< 0,05 < 0,02	< 0,1 < 0,03

Tableau XVI - Résultats des analyses chimiques effectuées sur les ouvrages captant la nappe de la craie (données de Talbot et al., 1985)

En fait, d'après Talbot et al. (1985), la Deûle et sa nappe alluviale joueraient un rôle prépondérant, les eaux véhiculées par ce canal (tableau XVII) étant très chargées en ammoniacque. Au niveau des alluvions se développe un milieu très réducteur dans lequel les formes oxydées de l'azote sont absentes (NO₃⁻ et NO₂⁻).

	NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l
D1 Pont SNCF à Dourges	1.87	0.79	21.90
D2 Pont D46 à Courrières	3.03	1.71	23.90
D3 2000 Logements Courrières Sud	8.65	< 0.01	1.46
L1 Pont CD 919 à Courrières	25.9	3.94	19.60
D4 Pont n° 17 à Estevelles	7.10	1.63	17.6
D5 Pont CD 165 à Meurchin	7.38	1.52	17.7
D6 PK 52.85 Bauvin	8.84	1.43	19.3
D7 Pont SNCF à Don	8.63	2.49	16.9
D8 Pont Route des Ansereuilles	6.91	0.24	36.8
D9 Pont D62 à Gondecourt	2.56	0.81	40.1
S1 Canal de Seclin	1.34	0.94	33.0
D10 Pont 63	0.66	0.94	36.0
D11 Pont route A 25	1.57	1.50	32.6

Tableau XVII - Résultats d'analyses chimiques effectuées sur les eaux superficielles (d'après Talbot et al., 1985)

D'autre part, vu l'importance des débits extraits par le champ captant des Ansereuilles, il semble plausible d'envisager que l'eau prélevée par les ouvrages situés notamment en zone captive provient pour une bonne part de la nappe alluviale de la Deûle et de la nappe libre contaminée par les nitrates.

A.2 - Résultats des analyses isotopiques

L'ensemble des mesures isotopiques en ^{15}N en fonction de la concentration en azote nitrique est reporté sur la figure 36.

La majorité des compositions isotopiques se situe dans la gamme + 7 à + 12 ‰ pour des teneurs en azote très variables : (comprises entre 17 mg $\text{N-NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ et 0) une seule valeur atteint + 14,4 ‰ (forage 18 des Ansereuilles) et deux autres apparaissent très basses (+ 1 et 2,3 ‰ dans le forage 12 des Ansereuilles) : elles ne sont pas immédiatement explicables.

Ces faibles variations de composition isotopique (gamme de l'ordre de 3 ‰) ne permettent pas d'attribuer les diminutions des teneurs en nitrates à un processus de dénitrification. Il semble plus probable qu'il s'agisse d'une simple dilution avec des eaux pratiquement exemptes d'azote nitrique, les eaux de la nappe alluviale par exemple ; la proportion de ces eaux dans le mélange diminuant avec l'éloignement du canal de la Deûle ou de Séclin, selon la figure 39. Les compositions isotopiques élevées (+ 10 à + 14,4 ‰) proviendraient de nitrates d'origine organique, véhiculés par les canaux. L'ensemble des résultats d'analyses hydrochimiques (tableaux XVIII et XIX) ne nous permet pas de vérifier cette hypothèse. Toutefois, la possibilité d'une dilution avec des eaux sans nitrates (ou à très faibles teneurs) provenant de la zone captive n'est pas à exclure : les très faibles concentrations en nitrates de ces eaux, nitrates caractérisés par des compositions isotopiques nettement négatives (tableau XII) pourraient contribuer à expliquer des $\delta^{15}\text{N}$ bas (+ 1,0 et + 2,3 ‰) observés sur le forage 12 des Ansereuilles (voir ci-dessus).

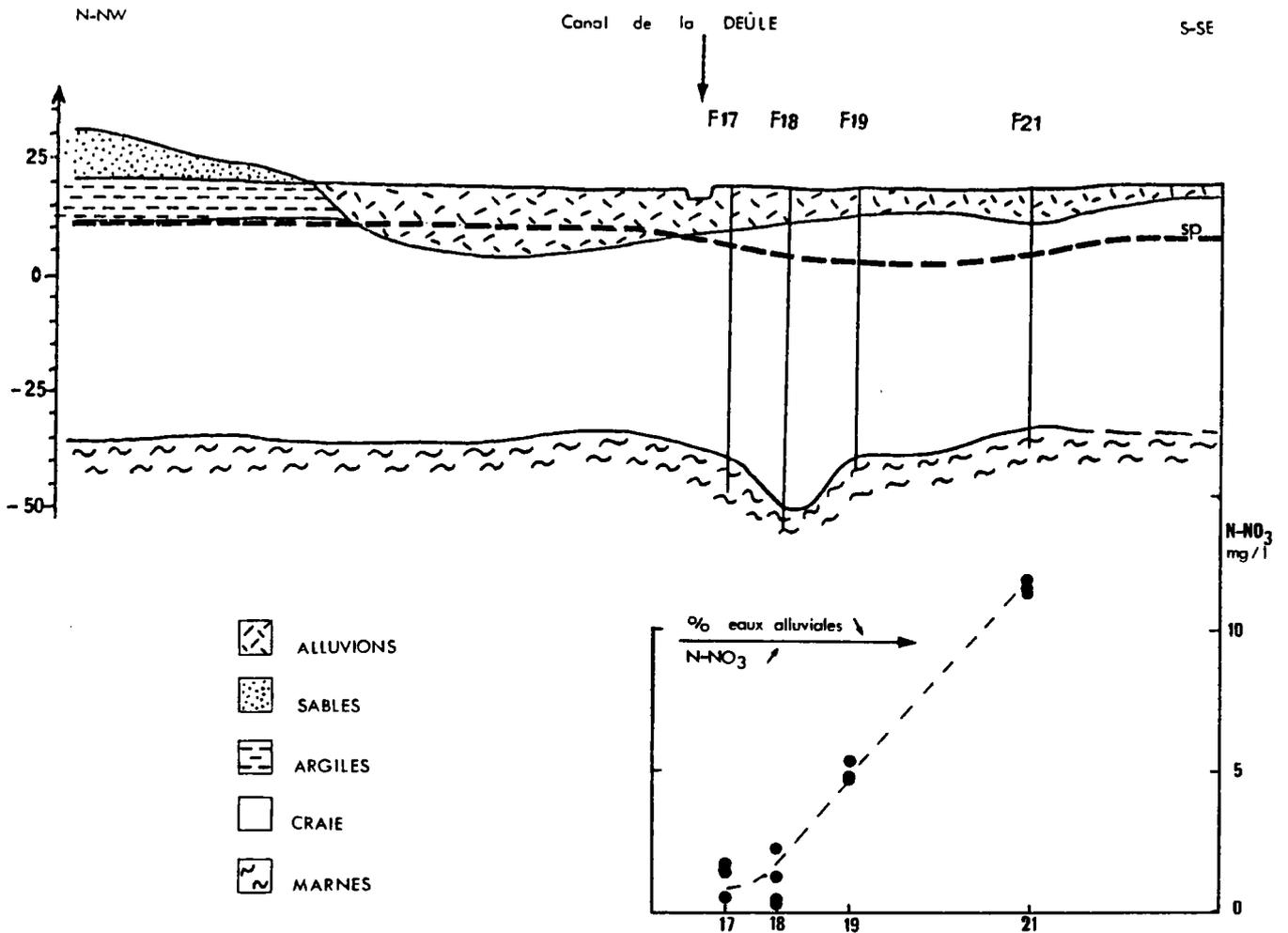


Figure 39 - Coupe hydrogéologique passant à travers le champ captant des Anseveilles (modifiée de Talbot et al., 1985)

N° forage	Date	N-NO ₃ ⁻ mg/l	N-NH ₄ ⁺ mg/l	Fe _t mg/l	Mn ²⁺ mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	C.orga. total mg/l	δ ¹⁵ N ‰	3H U.T.
20-1-12	11/83	0	0,21	0,6	-	-	-	-	-
	3/84	0,18	0	0,67	-	111	-	1	-
	11/84	0,04	0	0,58	0,2	90	-	2,3	-
	6/85	-	-	-	-	-	-	-	27 ± 1
20-1-17	11/83	1,8	0,09	0,4	-	-	-	10,5	-
	3/84	1,64	0	0,16	-	78	-	11,7	-
	11/84	1,2	0	0,32	0,02	60	-	11,1	13 ± 2
	6/85	0,6	0	0,25	0,08	54	2,6	8,7	-
20-1-18	11/83	0,38	0,32	0,4	-	-	-	11,7	-
	3/84	0,27	0,24	0,8	-	109	-	14,4	-
	11/84	1,3	0	0,32	0,04	76	-	11,4	18 ± 3
	6/85	2,1	0,1	0,10	0,06	57	2,3	9,9	-
20-1-19	3/84	5,25	0	0,06	-	103	-	11	-
	11/84	4,70	0	0,12	0,07	85	-	10,3	17 ± 3
	6/85	4,6	0	0	0	69	1,4	7,7	-
20-1-21	11/83	11,9	0	0,07	-	-	-	8,6	-
	3/84	11,64	0	0,07	-	125	-	10,1	-
	11/84	11,80	0	0,12	0,01	118	-	10,5	21 ± 3
	6/85	11,3	0	0,01	0	81	1	6,5	-

Tableau XVIII - Résultats hydrochimiques de la nappe de la craie aux Anseveilles

N° forage	Date	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	Fe _t en mg.l ⁻¹	Mn ²⁺	SO ₄ ²⁻	C.orga. total mg/l	δ ¹⁵ N-NO ₃ ⁻ ‰
125	11/83	17,1	0,14	0,22	-	-	-	9,3
131	11/83	15,6	0,03	0,17	-	-	-	9,7
131	3/84	11,5	0	0,22	-	102	-	10,8
124	6/85	7,4	0	0,07	0,01	125	2,8	10,2
407	6/85	1,1	0,22	0,40	0,08	125	1,8	11,5
403	6/85	1,5	0	0,12	0,07	130	1,2	12,0

Tableau XIX - Résultats des analyses effectuées à Houplin-Ancoisne

B - Champ captant de Flers-en-Escrebieux

Le champ captant de Flers-en-Escrebieux géré par la Société des Eaux du Nord (SEN) se situe au Nord-Ouest de Douai, dans le bois des Anglais qui longe la vallée de l'Escrebieux.

En amont de celui-ci, deux forages en nappe libre ont fait l'objet d'analyses chimiques et isotopiques (25 et 29 de la figure 40), qui nous servirons de référence.

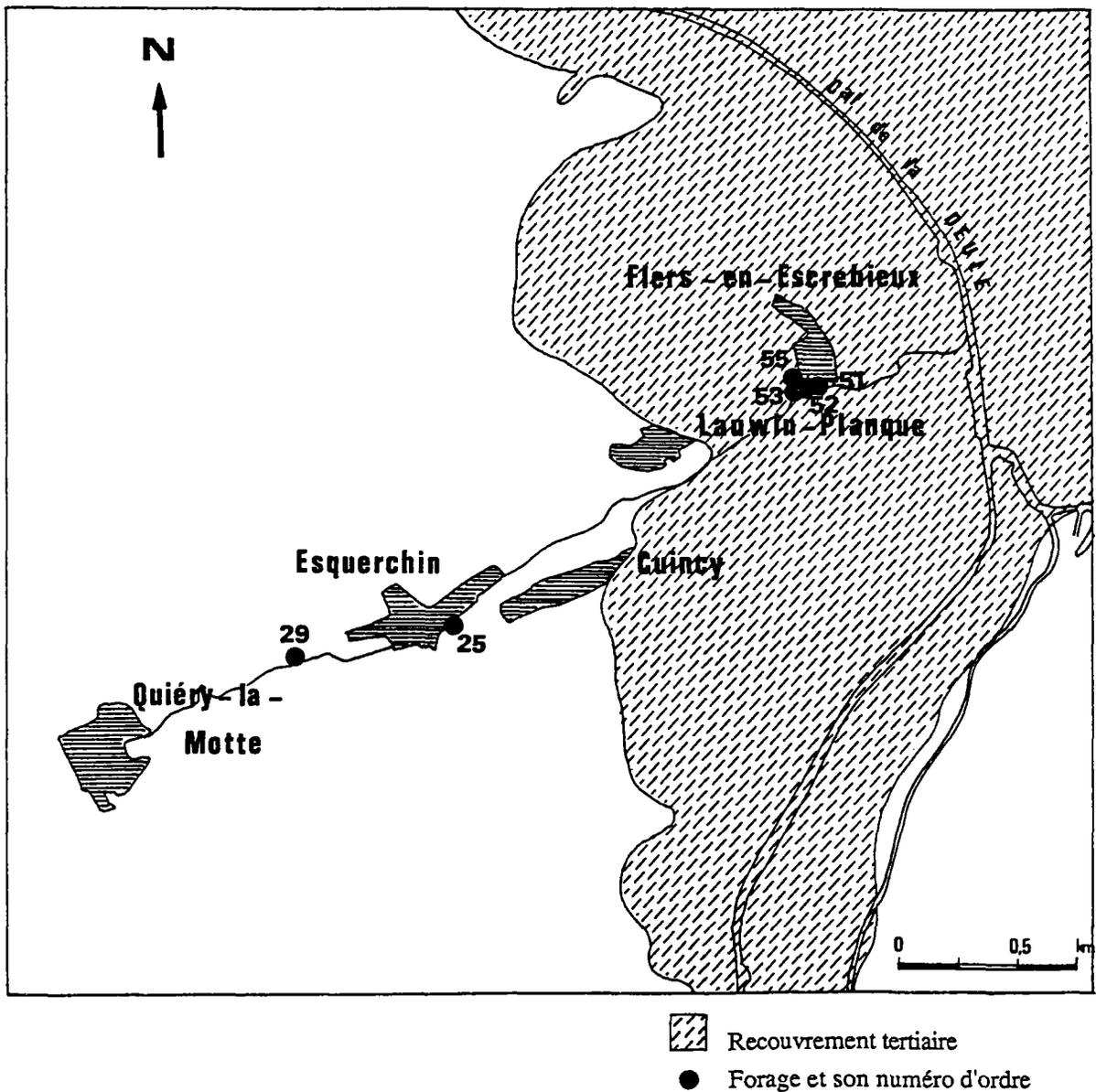


Figure 40 - Localisation des points de prélèvement

B.1 - Contexte hydrogéologique

Ce qui caractérise le secteur d'étude, c'est l'absence quasi-permanente d'écoulement superficiel. Le seul cours d'eau de cette région, l'Escrebieux, ne draine la nappe de la craie qu'en période de hautes eaux exceptionnelles. En effet, le développement de l'exploitation de l'aquifère crayeux dans ce secteur a entraîné une baisse du niveau piézométrique et la vallée de l'Escrebieux est, le plus souvent, sèche.

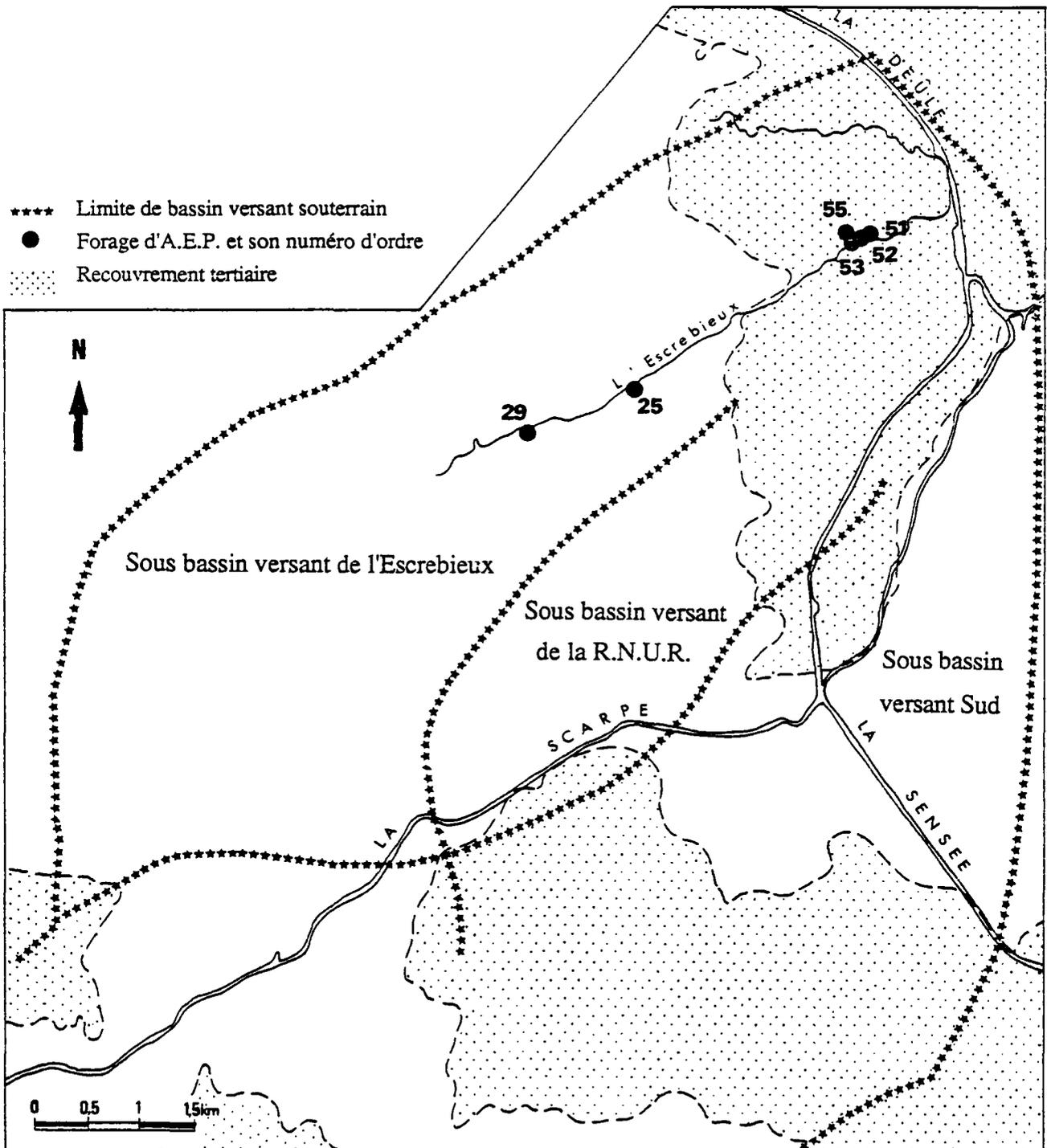


Figure 41 - Bassin versant souterrain du champ captant de Flers-en-Escrebieux

Le bassin versant souterrain du champ captant de Flers se décompose en deux sous-bassins (figure 41) :

- * un sous-bassin Nord complètement fermé constitué à la fois du bassin versant de l'Escrebieux dans lequel la vallée fortement perméable joue le rôle de zone de convergence des écoulements et aussi du bassin versant dit de la Régie Nationale des Usines Renault (RNUR) dont les 2/5èmes se trouvent sous recouvrement tertiaire.
- * un sous-bassin Sud ouvert vers le SW qui est protégé dans les 3/4 de sa surface par un recouvrement argileux.

Le bassin d'alimentation du champ captant de Flers-en-Escrebieux apparaît pour une partie de sa surface bien protégé par un recouvrement argileux (limon ou Tertiaire). Mais cette protection réduit considérablement l'infiltration des eaux de pluies, ce qui entraîne une alimentation de l'Ouest, secteur où la nappe est libre. Le long du cours de l'Escrebieux plusieurs zones d'infiltration ont été mises en évidence (Rapport BRGM-SAFEGE(3)), notamment à l'amont des forages de Quiéry-la-Motte et en limite des communes de Cuincy et Esquerchin. La propagation de la pollution azotée de la nappe libre vers la nappe captive est favorisée dans la vallée de l'Escrebieux (axe de drainage souterrain) par les fortes perméabilités qui lui confèrent la propriété de véhiculer rapidement les flux polluants.

Il n'est donc pas impossible de retrouver le flux d'azote d'Esquerchin dans les forages du champ captant de Flers dont les importants pompages accélèrent la vitesse de déplacement.

D'autre part, un modèle mathématique (Talbot et Tillie, 1979) a permis de préciser les principaux termes du bilan de la nappe de la craie en régime permanent de très basses eaux (tableau XX) et de vérifier que la part d'alimentation provenant des canaux n'était pas négligeable.

En résumé, les captages de Flers-en-Escrebieux sont alimentés par tout le pourtour du champ captant et notamment à partir du dôme piézométrique situé au niveau de la Deûle.

	Entrées millions m ³ /an	Sorties millions de m ³ /an
Pluie efficace	26,7	
Prélèvements		37,2
Débit de fuite sous le recouvrement tertiaire (vers le Nord et la cuvette d'Orchies)		10,1
Echanges entre l'aquifère et les principaux cours d'eau :		
*canal de la Deûle (entre Dourges et Douai)	2,3	
*canal de la Scarpe amont et de la Sensée	5,0	
*canal de Lens	1,1	
*Sensée et son affluent la Trinquise	13,0	
Total	48,1	47,3

Tableau XX - Bilan de la nappe de la craie en régime permanent de très basses eaux (Talbot et Tillie, 1979)

B.2 - Inventaire des sources de pollution

Comme nous l'avons signalé précédemment, les forages de la SEN sont loin d'être à l'abri de la pollution par les nitrates. Le long du cours de l'Escrebieux se situe la plus forte concentration de sources de pollution.

Dans ce secteur, quatre principales sources de pollution azotée peuvent être retenues :

- * apports azotés des pratiques agricoles (cultures céréalières, élevages de volailles et de bovins).
- * apports des effluents domestiques (rejets directs d'eaux usées : déversoirs d'orage à Cuincy et Lauwin-Planque).
- * dépôts divers (décharge d'ordures ménagères et de déchets industriels à Cuincy ; décharge de Douai en bordure de l'Escrebieux).
- * apports dus aux activités industrielles (laiterie à Cuincy ; industries diverses à Lauwin-Planque et Hénin-Beaumont...).

Cette importante concentration de sources de pollution azotée dans la vallée de l'Escrebieux entraîne de fortes teneurs en nitrates dans la nappe (supérieures à la norme) qui diminuent d'amont en aval pour enfin disparaître progressivement au niveau des forages de Flers-en-Escrebieux situés en nappe captive.

B.3 - Etude hydrogéochimique et isotopique

α : forages d'Esquerchin et de Quiéry-la-Motte en nappe libre

Les forages 27-2-25 (25 de la figure 40) du champ captant d'Esquerchin et 27-2-29 (29 de la figure 40) de Quiéry-la-Motte se situent dans la vallée de l'Escrebieux et sont soumis à l'écoulement de la nappe libre le long de celle-ci.

La majeure partie de la surface du bassin versant de ce cours d'eaux est occupée par des cultures de céréales et de plantes sarclées. A l'activité agricole correspondent des teneurs en nitrates comprises entre 30 et 40 mg/l dans les eaux souterraines d'une grande partie de son bassin amont.

Dans la vallée de l'Escrebieux où se concentrent de nombreuses sources locales de pollution azotée, les différents types de pollution s'additionnent. La teneur en nitrates devient ainsi souvent supérieure à la norme de potabilité.

Les résultats des analyses effectuées sur ces deux captages sont rassemblés dans le tableau XXI. Nous pouvons remarquer que la teneur en azote nitrique diminue légèrement d'amont en aval du cours de l'Escrebieux. De 10,1 mg/l en N-NO_3^- dans le forage 29, on passe à 9 mg/l dans le 25. Les compositions isotopiques en ^{15}N sont relativement stables (+ 5,5 et + 6,9 ‰).

Forage Date	T°C	pH	Eh mV	Conductivité $\mu\text{S.cm}^{-1}$	O_2 %	Oxydabilité mg/l O_2	Cl^- mg/l	SO_4^{2-} mg/l	Fe_t mg/l	N-NO_3^- mg/l	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰	NO_3^- mg/l
27-02-25 17-11-83	10,5	7,2	192	525	40	0,13	29	n.a	0,3	9	5,5	39,9
27-02-29 05-03-84	12,3	7,2	188	540	47	0,01	n.a	15	0,15	10,1	6,9	44,7

Tableau XXI - Résultats d'analyses des forages d'Esquerchin et de Quiéry-la-Motte

β : Champ captant de Flers-en-Escrebieux

Le champ captant de Flers se situe en limite de captivité de la nappe de la craie (mise en captivité à environ 1000 m en amont du forage 55). Le niveau piézométrique se trouve dans les alluvions **tourbeuses** qui recouvrent des terrains argileux tertiaires (figure 42).

L'alimentation des forages provient de la périphérie du champ captant :

- suralimentation naturelle par les canaux à cause de l'exploitation intensive,
- vallée de l'Escrebieux qui est un axe de drainage de la nappe,
- secteur S-SE où la nappe est en captivité sous les dépôts tertiaires.

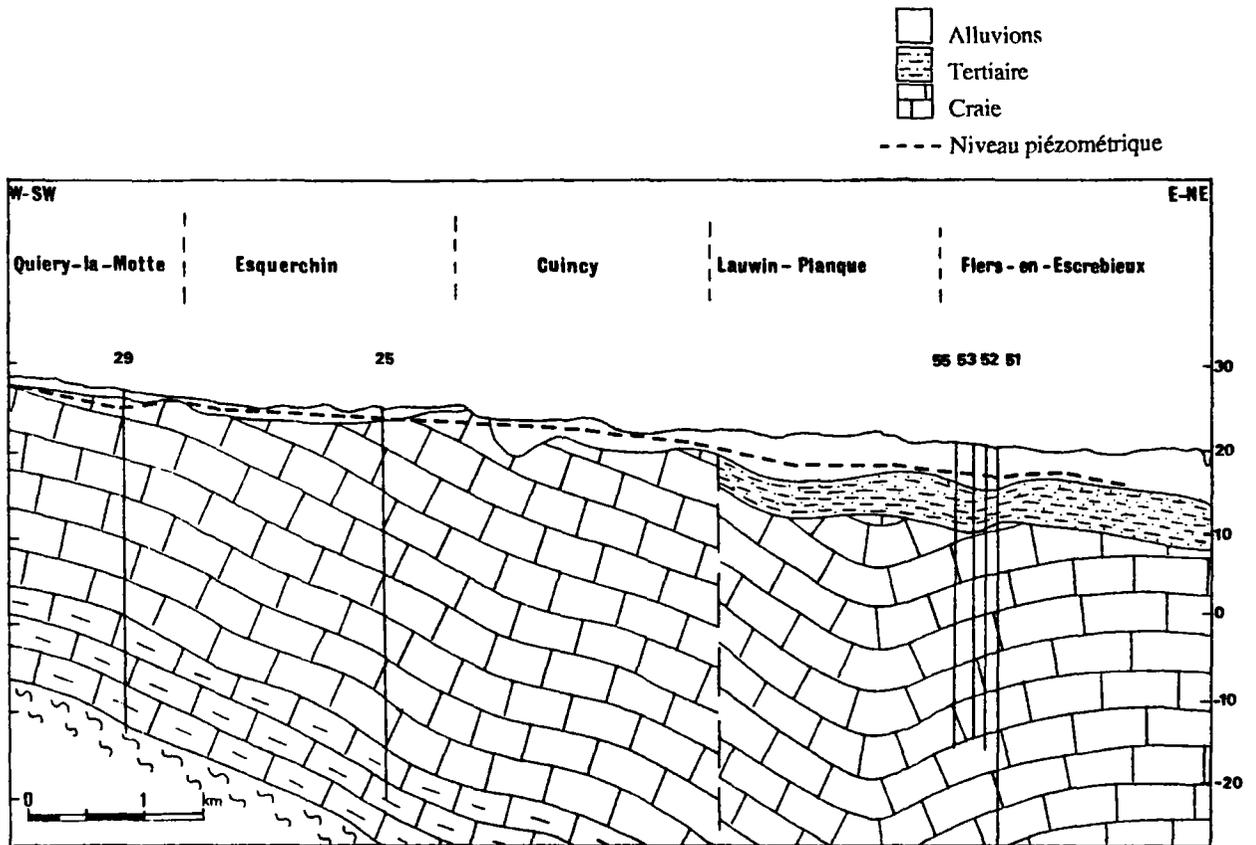


Figure 42 - Coupe hydrogéologique à travers le champ-captant de Flers-en-Escrebieux

La position très rapprochée des forages les uns par rapport aux autres leur confère une interdépendance et nous oblige à les considérer de manière dynamique. En effet, l'arrêt momentané du pompage dans l'un d'eux a des répercussions dans les autres, notamment sur la teneur en azote nitrique.

Ainsi, si on se réfère au tableau XXII, on constate que suivant le mode de gestion du champ captant (répartition des intensités de pompage dans l'espace), correspondant à des périodes de prélèvement différentes, il apparaît de fortes variations aussi bien des teneurs en azote que des compositions isotopiques (fig. 43) :

- en novembre 1983 et mars 1984 : les pompages en amont du champ captant (forage 55) sont plus importants qu'en aval (forages 52 et 53). Le forage 51 est arrêté. Il a été remis en marche pour notre prélèvement.

- . en novembre 1984 : les pompages en aval (forage 51) sont supérieurs à ceux pratiqués en amont.
- . en mai 1985, le pompage dans le forage 51 est encore très important, ce qui revient au cas précédent (novembre 1984).

En ce qui concerne le forage 51, en novembre 83 et mars 84, nous avons constaté qu'aux faibles teneurs en azote nitrique (inférieures à 0,3 mg/l) correspondaient des compositions isotopiques très basses (+ 7,4 et + 8 ‰).

Ces résultats isotopiques sont très surprenants et sont, dans l'état actuel de nos connaissances, inexplicables. L'eau prélevée après un arrêt prolongé du fonctionnement du captage n'a probablement pas la même origine que celle que nous récupérons lors d'un prélèvement sur un forage en fonctionnement permanent.

Date N° forage	Q journalier en m ³	N-NO ₃ mg/l	δ ¹⁵ N-NO ₃ ‰	
17/11/83				
27-3-51	27	0.2	+ 7.4	
27-3-52	3753	0.8	+ 20.1	
27-3-53	6160	5.5	+ 11.4	
27-3-55	8323	11.0	+ 7.2	
6/03/84				
27-3-51	243	0.03	+ 8	
27-3-52	4806	0.07	+ 35.6	
27-3-53	6738	3.9	+ 12	
27-3-55	7216	11.2	+ 7.3	
25/5/84				
27-3-52	5130	2.0	+ 16.9	F1 et F5
27-3-53	7161	n.a	n.a	à l'arrêt
15/11/84				
27-3-51	7488	0.05	+ 20.6	
27-3-52	6318	1.8	+ 13.6	
27-3-53	5737	5.8	+ 9.4	
27-3-55	5289	6.3	+ 8.5	
22/05/85				
27-3-51	7498	0.3	+ 17.3	
27-3-52	6183	2.4	+ 9.6	
27-3-53	8636	6.3	+ 6.3	
27-3-55	en panne	n.a	n.a	

Tableau XXII - Variations des débits journaliers, de la teneur en nitrates et de la composition isotopique des forages de Flers-en-Escrebieux

En novembre 83 et mars 1984, le maximum de dénitrification se situe au niveau du forage 52 ; par contre, en période de fort pompage dans le forage 51 (novembre 84 et mai 85), la dénitrification maximale se rencontre dans ce forage (figure 43).

Une variation de la répartition des pompages dans le champ captant provoque un apparent déplacement de la zone de dénitrification maximale (figure 44) :

- + lorsque les pompages sont plus importants en amont qu'en aval, la dénitrification maximale se trouve dans le forage 52.
- + lorsque les pompages en aval sont supérieurs, la dénitrification maximale se déplace vers l'aval (dans le 51).

Nous avons donc été amené à considérer les flux en azote nitrique au niveau du pompage, ce qui nous a permis d'intégrer à la fois un facteur dynamique (le débit journalier) et un paramètre hydrochimique (la teneur en nitrates).

Le flux en azote nitrique est obtenu en multipliant le débit journalier par la concentration en azote :

$$F = Q \times C$$

F en mg/s
C en mg/l de N
Q en l/s

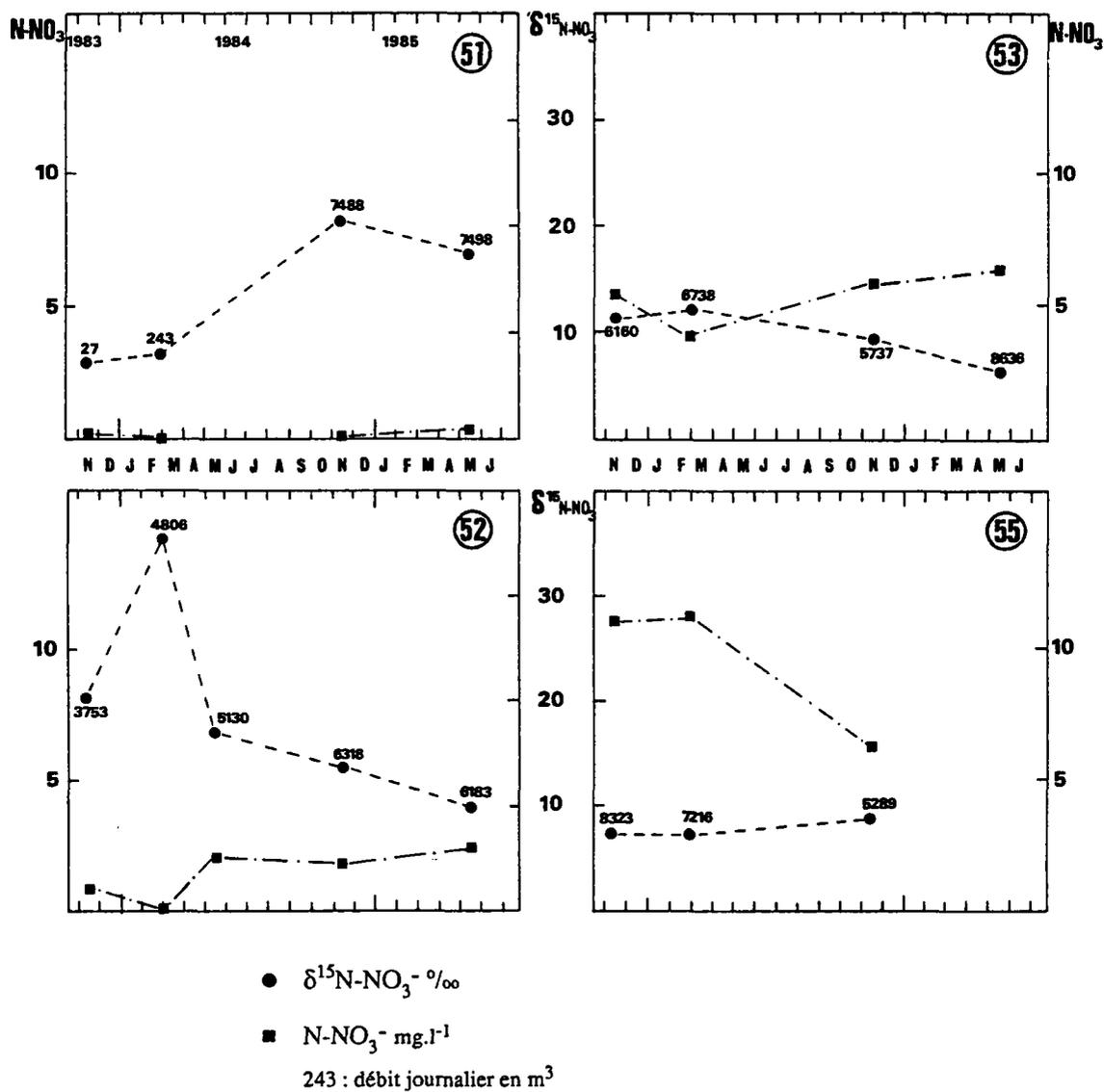


Figure 43 - Variation de la teneur en nitrates et de leur composition isotopique dans les forages de Flers-en-Escrebieux

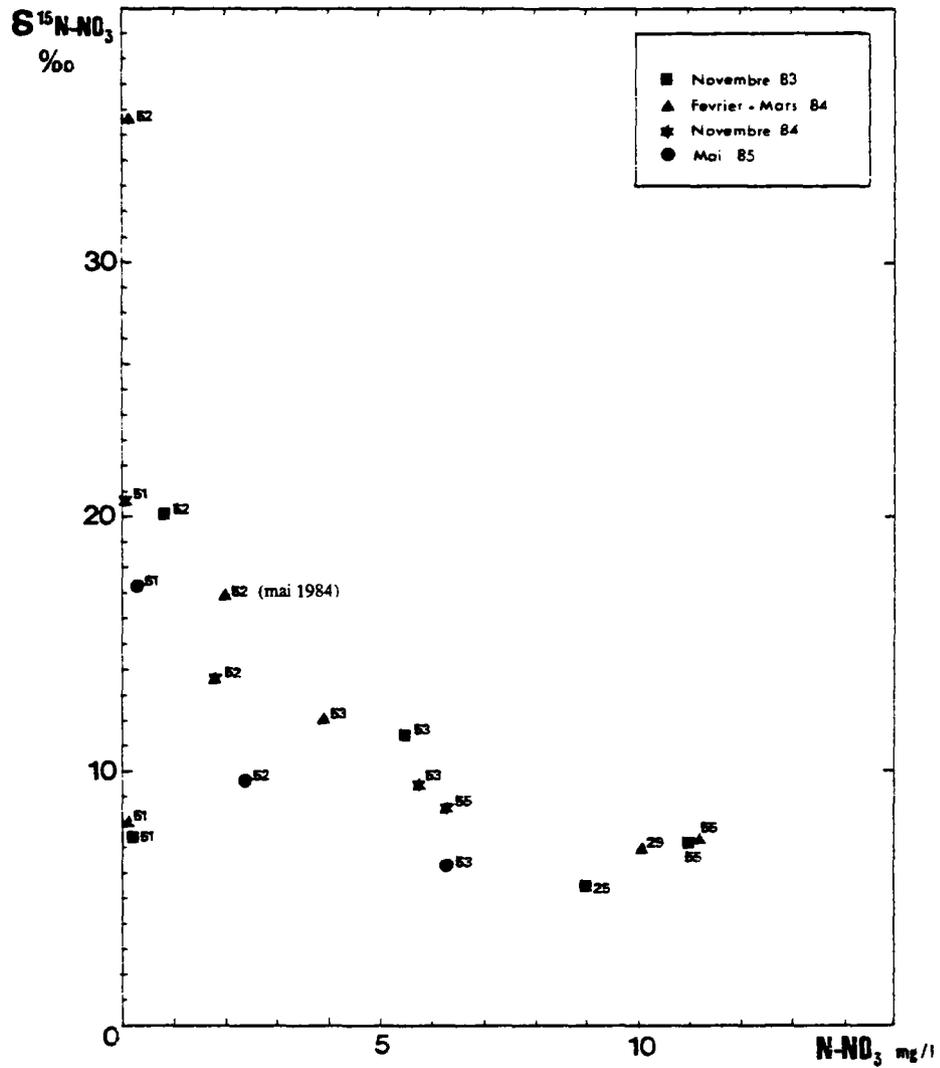


Figure 44 - Composition isotopique des nitrates de Flers-en-Escrebieux, Quiéry-la-Motte et Esquerchin

Si on porte les compositions en ^{15}N en fonction du flux en azote nitrique (calculé selon l'équation précédemment citée), on constate (figure 45) que l'ensemble des points s'agence selon une relation simple dont le meilleur ajustement possible est logarithmique (le coefficient de régression logarithmique calculé est de $-0,904$).

Le coefficient de fractionnement isotopique calculé est de $-3,88 \pm 1,14 \text{ ‰}$, valeur tout à fait comparable à celles que nous avons précédemment obtenues.

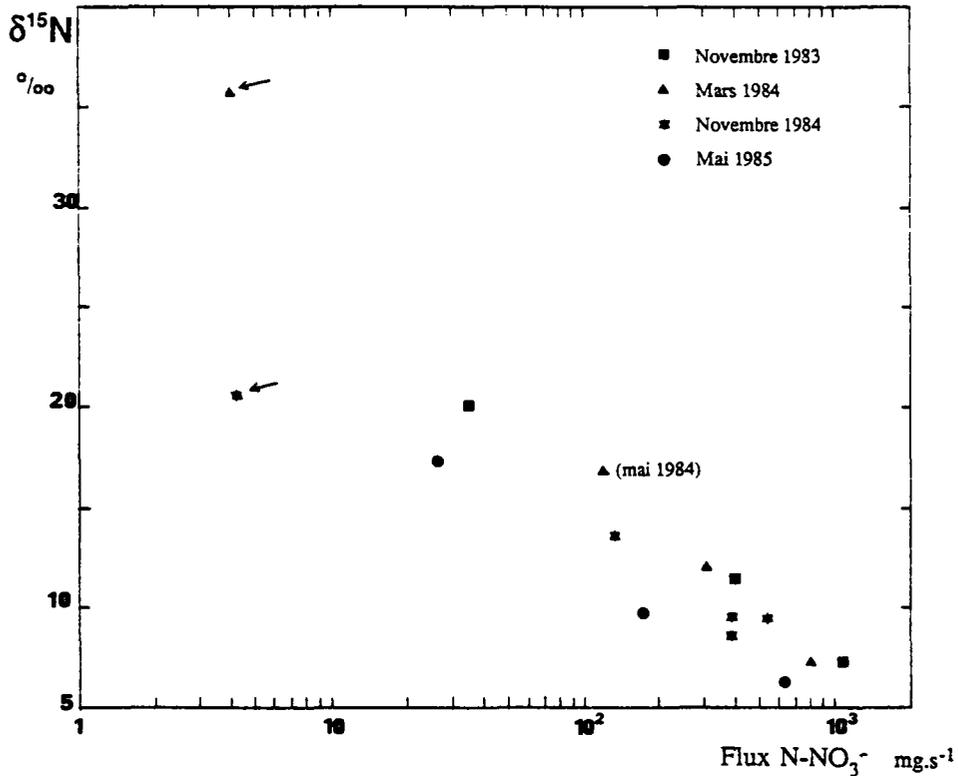


Figure 45 - Variation de la composition isotopique en fonction du flux azoté

Les deux points fléchés sur la figure 45 correspondent à des échantillons pour lesquels la composition isotopique a été mesurée par dilution isotopique inverse, c'est-à-dire que pour arriver à déterminer la composition isotopique en azote 15 d'une très faible teneur en nitrate ($N-NO_3$ inférieure à $0,1 \text{ mg/l}$), nous avons dû enrichir l'échantillon initial en azote avec une certaine quantité d'une solution dont la composition isotopique nous était parfaitement connue. De la valeur obtenue nous avons pu calculer par une simple équation de mélange isotopique le $\delta^{15}N-NO_3$ initial.

$$\delta_E = \frac{Q_M \delta_M - Q_S \delta_S}{Q_E}$$

E = échantillon
M = mélange
S = solution étalon

avec $Q_M = Q_E + Q_S$

Il apparaît évident qu'une telle valeur calculée à partir de quatre mesures (2 concentrations, 2 compositions isotopiques) comporte une barre d'erreur beaucoup plus importante que lorsque la composition isotopique est déterminée directement sur l'échantillon initial.

Il n'est donc pas surprenant de constater que ces deux points se détachent légèrement de l'ensemble des autres.

Les différentes données hydrochimiques concernant ce site se situent dans le tableau XXIII.

Une certaine tendance à l'appauvrissement du milieu en oxygène dissous en relation avec la disparition des nitrates, d'amont en aval du champ captant se dégage de la figure 46, bien que les valeurs déterminées avec un oxymètre de terrain soient vraisemblablement entachées d'erreur due au fait qu'il n'a pas été possible de descendre la sonde directement dans le forage et que les échantillons analysés se sont probablement déjà trouvés en contact avec l'atmosphère.

Par contre, aucune relation particulière n'apparaît entre la disparition des nitrates, la teneur en fer total dissous, en manganèse et en sulfates (figure 47). Les quelques valeurs de concentration en carbone organique total (tableau XXIII) relativement stables d'un forage à l'autre (de l'ordre de 1 mg/l) ne permettent pas de tirer une conclusion sur le type de processus qui intervient ; tout au plus pouvons nous dire qu'il existe du carbone organique dissous.

Forage date	T°C	pH	Eh mV	Cond. µS/cm	O ₂ % Saturat.	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Corga. total dissous	Fe _{tot.}	Mn ⁺⁺	N-NO ₃ ⁻	δ ¹⁵ N-NO ₃ ‰	3H UT
51 :													
17/11/83	10.4	7.1	134	630	19	37	n.a	n.a	0.25	n.a	0.2	+ 7.4	n.a
6/3/84	12	6.9	117	640	14	n.a	74	n.a	0.15	n.a	0.03	+ 8	n.a
15/11/84	10.8	6.8	157	873	10	n.a	104	n.a	0.08	0.04	0.05	+ 20.6	n.a
22/5/85	12	6.8	109	927	?	n.a	80	1.7	0.08	<0.01	0.3	+ 17.3	22±1
52 :													
17/11/83	10.4	7.2	180	620	11	34	n.a	n.a	0.10	n.a	0.8	+ 20.1	n.a
6/3/84	12.9	6.9	150	655	9	n.a	78	n.a	0.07	n.a	0.07	+ 35.6	n.a
25/5/84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	+ 16.9	-
15/11/84	10.9	6.9	158	787	6	n.a	97	n.a.	0.05	0.03	1.8	+ 13.6	12±3
22/5/85	11.4	6.8	118	848	14	n.a	50	< 1	<0.008	<0.01	2.4	+ 9.6	n.a
53 :													
17/11/83	10.3	7.2	162	630	11	31	n.a	n.a	0.10	n.a	5.5	+ 11.4	n.a
6/3/84	12	6.9	152	635	12	n.a	96	n.a	0.05	n.a	3.9	+ 12	n.a
15/11/84	10.7	6.9	159	820	20	n.a	113	n.a	0.05	0.08	5.8	+ 9.4	16±3
22/5/85	11.5	6.8	124	863	18	n.a	79	1.2	0.01	<0.01	6.3	+ 6.3	n.a
55 :													
17/11/83	10.4	7.2	198	600	24	29	n.a	n.a	-	n.a	11.0	+ 7.2	23±3
6/3/84	11.9	7.0	157	615	32	n.a	72	n.a	0.06	n.a	11.2	+ 7.3	n.a
15/11/84	10.8	7.0	154	780	24	n.a	100	n.a	0.17	0.01	6.3	+ 8.5	13±2

TABLEAU XXIII - Résultats d'analyses des forages de Flers-en-Escrebieux

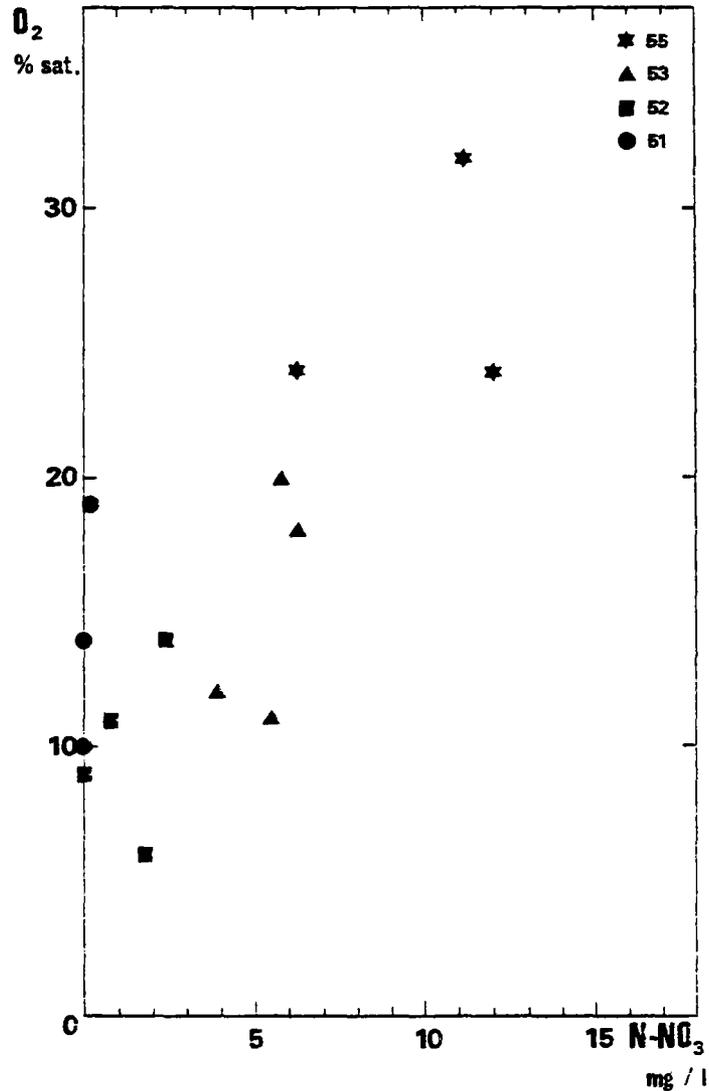


Figure 46 - Variations des espèces oxydantes dans les forages de Flers-en-Escrebieux

Quant aux sulfates, bien que leur teneur n'augmente pas avec la dénitrification, leur composition isotopique en ^{34}S semble indiquer qu'ils proviennent de l'oxydation de pyrite (les $\delta^{34}\text{S}$ sont $-17,8 \text{ ‰}$ et $-18,5 \text{ ‰}$).

Or, l'observation des coupes de forage montre que sous une épaisseur variable d'alluvions tourbeuses se rencontrent les formations tertiaires constituées par des argiles pouvant contenir de la pyrite et dont l'association fréquente avec de la matière organique est connue.

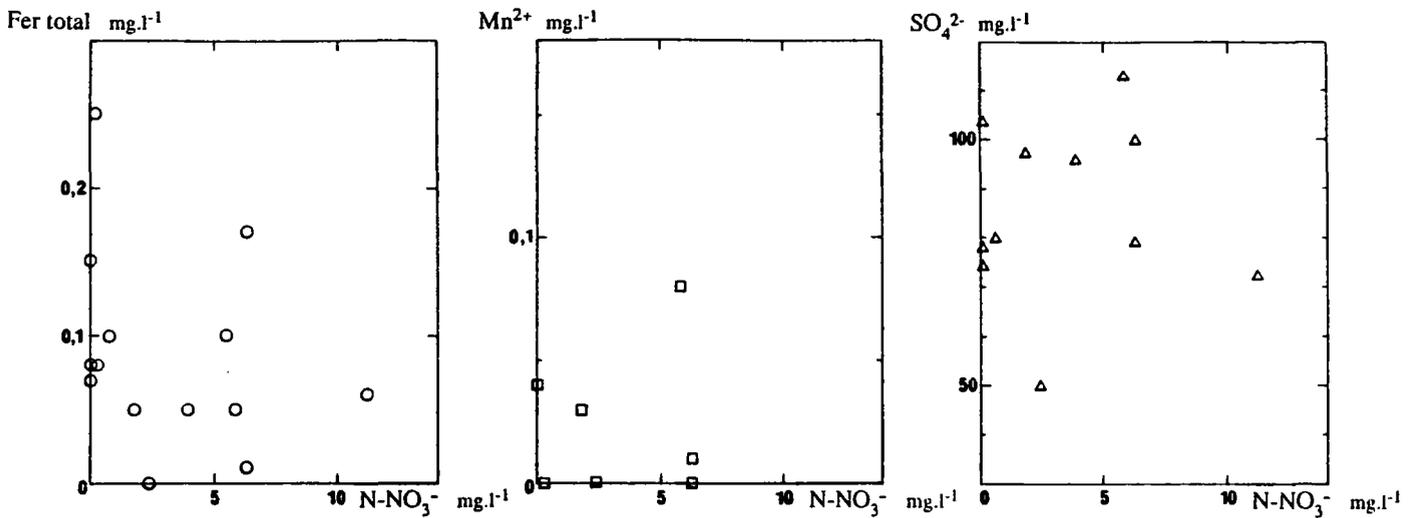


Figure 47 - Variations des teneurs en fer, manganèse et sulfates en fonction de la teneur en azote nitrique à Flers-en-Escrebieux

Cependant, il faut garder présent à l'esprit que dans la fabrication de certains engrais, le sulfate utilisé provient de l'oxydation de pyrite et que par conséquent il devient très difficile de savoir s'il s'agit d'une oxydation naturelle au sein du milieu ou bien d'une oxydation secondaire due à la méthode de fabrication d'un engrais, les compositions isotopiques en ³⁴S étant similaires (Létolle, communication personnelle) et d'autant plus que nous nous situons dans une région agricole.

C - Champ captant de la Carnoye

Le champ captant de la Carnoye géré par la Société des Eaux du Nord (SEN) se situe à Lambersart, commune du secteur NW de la banlieue de Lille (figure 34).

C.1 - Contexte hydrogéologique

Caulier et al. (1986) dans leur récent rapport concernant ce champ captant montrent que la Carnoye est essentiellement alimenté par la vallée de la Deûle.

Pour le bassin versant du champ captant de la Carnoye, les apports majeurs (variation de la pluviométrie) sont de l'ordre de (Caulier et al., 1986) :

- 30 % par la pluie, apportés sur la zone d'affleurement de la craie dans la partie amont de la zone d'étude sur les alluvions et sur la zone d'affleurement des sables tertiaires, à l'aval de la zone d'étude ; cette dernière nappe se déversant dans la nappe des alluvions qui alimente la nappe de la craie ;
- 26,5 % par les pertes des réseaux ; les pertes du réseau d'eau potable ou d'eau industrielle pouvant être en partie drainée par le réseau d'assainissement avant que celui-ci ne perde lui-même une partie de ses eaux vers la nappe des alluvions ou de la craie, il est difficile de faire la part des apports de ces réseaux. En outre, une partie des gros collecteurs sont d'anciens canaux ou d'anciennes rivières busées ou simplement recouvertes ;
- 43,5 % par la Deûle alimentant la nappe des alluvions elle-même drainée par la nappe de la craie.

Les pertes des réseaux pouvant être considérées comme relativement constantes pour la zone d'étude, selon l'apport par la pluie (pluie efficace) qui peut varier d'une valeur pratiquement nulle les années de faible pluviométrie à une valeur double à triple de la moyenne les années de forte pluviométrie, l'alimentation du champ captant de la Carnoye sera constitué :

- . pour 25 % par les pertes des réseaux,
- . pour 0 à 60 % pour la pluie efficace,
- . 15 à 75 % par la Deûle au travers de la nappe des alluvions (en fonction de la pluie efficace),

avec un temps de parcours vertical de l'eau dans les alluvions compris entre 1 et 2 ans.

C.2 - Résultats des analyses chimiques et isotopiques

L'ensemble des résultats concernant ce champ captant se situe dans le tableau XXV.

Si on considère les compositions isotopiques en ^{15}N mesurées, on constate qu'il existe une excellente relation exponentielle entre la teneur en azote nitrique et les $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$ (figure 48).

L'enrichissement en ^{15}N du nitrate est proportionnel au logarithme de la concentration en ce substrat et obéit dans ce cas précis à l'équation :

$$\delta = -4,82 \ln C + 24,06$$

Le coefficient d'enrichissement isotopique " ϵ ", calculé à partir des données du tableau XXIV est donc de $-4,82 \pm 1,16 \text{ ‰}$, valeur tout à fait comparable à celles proposées au paragraphe III.2.

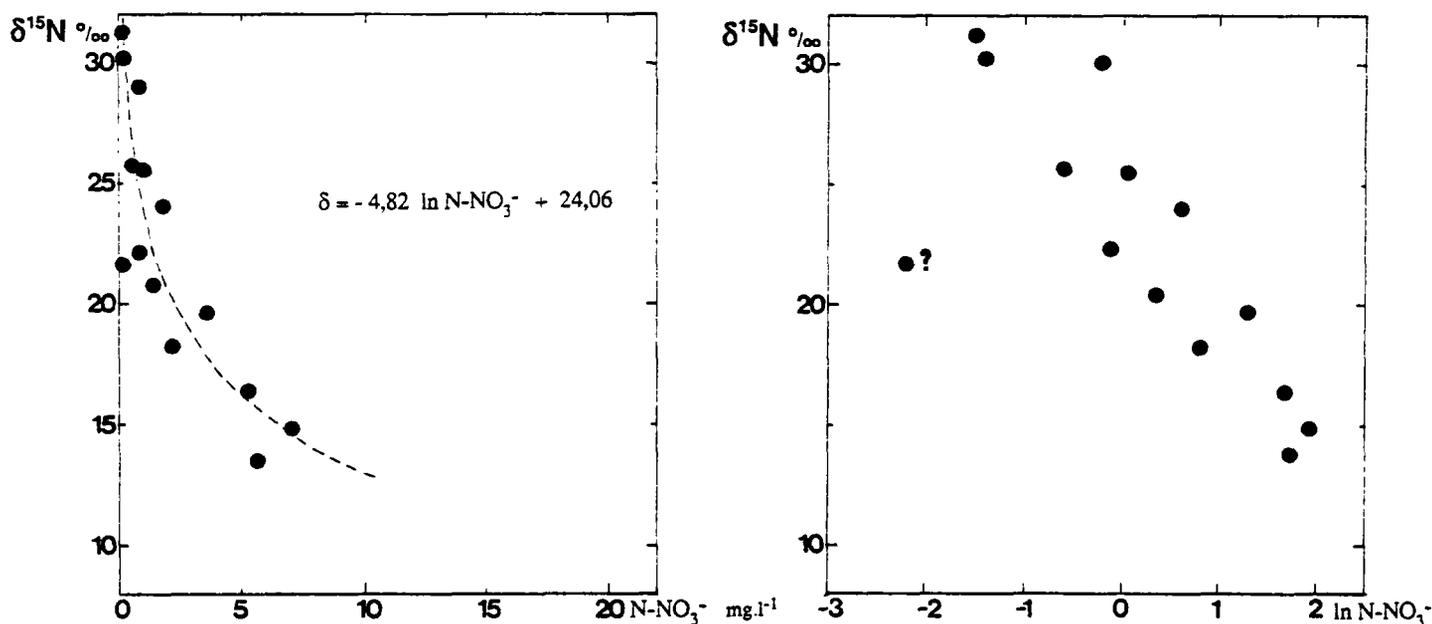


Figure 48 - Evolution isotopique des nitrates de la Carnoye

Cet enrichissement progressif de la composition isotopique (jusqu'à + 31,2 ‰) accompagnant la disparition de l'azote nitrique est caractéristique d'un fractionnement isotopique : dans le milieu étudié, il ne peut s'agir que d'un processus de dénitrification.

Des données hydrochimiques (tableau XXIV) se dégagent un certain nombre de relations qui peuvent être en rapport avec le phénomène de dénitrification.

En effet, lorsque nous reportons les teneurs en fer total dissous et en manganèse, en fonction de la teneur en azote nitrique (figure 49), nous constatons que l'on retrouve la relation classique : augmentation du fer et du manganèse accompagnant la disparition du nitrate.

La teneur en sulfates, quant à elle, augmente globalement avec la teneur en azote nitrique (figure 49).

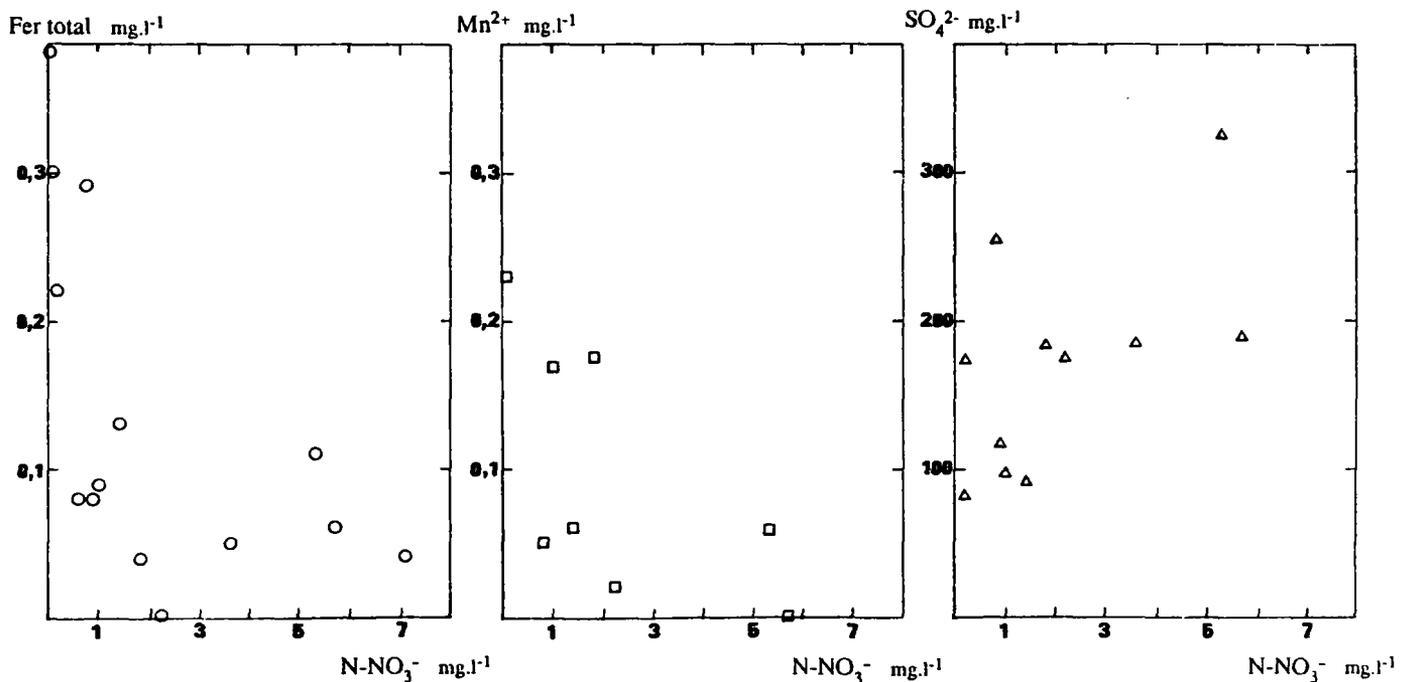


Figure 49 - Variations des teneurs en fer, Mn et sulfates en fonction de la concentration en azote nitrique dans les forages de La Carnoye

Des mesures de composition isotopique en ^{34}S sur les sulfates présents dans les eaux de la craie dans cette région révèlent plutôt une origine liée à l'oxydation de sulfure de fer (FeS_2), plutôt qu'évaporitique (les argiles de Louvil renfermant une proportion notable de gypse) : dans ce dernier cas, les sulfates seraient au contraire enrichis en ^{34}S ($\delta^{34}\text{S}\text{-SO}_4$ très positifs). Les compositions isotopiques en soufre 34 mesurées sont basses ($+ 0,8 \pm 0,2$ et $- 1,2 \pm 0,2 \text{ ‰}$) et donc représentatives d'une origine liée à l'oxydation de pyrite.

L'observation des coupes de forage montre que sous une quinzaine de mètres de limons et d'alluvions argilo-sableuses de la Deûle, se situe le Landénien à faciès d'argile compacte de teinte grise à noirâtre. Cette teinte sombre peut suggérer qu'il s'agit d'un milieu réducteur riche en matière organique et en éléments à bas degré d'oxydation (Fe(II) et Mn(II) par exemple), comparable au niveau argileux gris foncé rencontré lors de la foration du Pz 26 d'Emmerin (entre 2,5 m et 4,3 m).

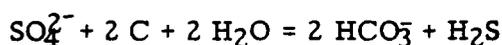
Dans un tel milieu, la présence de pyrite associée à la matière organique, n'est pas à exclure, mais il nous est impossible de vérifier une telle hypothèse n'ayant pas d'échantillon de sondage disponible.

Un ancien rapport (Dollé, 1947) fait état de dégagement rapide d' H_2S lors de prélèvement d'eau dans ce secteur, plus particulièrement au Nord de la zone que l'auteur désigne sous le terme "filtre naturel", c'est-à-dire là où commence la captivité de la nappe sous les argiles de Louvil (Landénien) ; ce filtre aurait une largeur de 800 à 1000 m. Le dégagement d'hydrogène sulfuré serait dû à la décomposition de pyrite sous l'action d'oxygène. Or, nous savons (chapitre I) que la dénitrification par la pyrite est un processus classique (Kölle et al., 1983).

Il y aurait en fait dans cette zone selon toute vraisemblance, oxydation de la pyrite en absence d'oxygène suivant la réaction (6) :



Le sulfate produit au cours de cette réaction pourrait être ensuite réduit, le milieu devenant de plus en plus réducteur, dans le sens d'écoulement qui est vers le NW en direction des forages 619 et 620 de Pérenchies situés en zone typiquement captive :



N° forage	T°C	O ₂ % sat.	pH	Eh mV	Conduc. µS.cm ⁻¹	NH ₄ ⁺ mg/l	N-NO ₃ ⁻ mg/l	Corga. mg/l	Fe _t mg/l	Mn ²⁺ mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	δ ¹⁵ N-NO ₃ ‰	3Hl U.T.	δ ³⁴ S ‰	Date
14-6-85	11,4	15	6,85	163	1080	0	7,1	-	0,04	-	-	14,8	-	-	11/83
	12	14	6,72	64	1629	0	5,3	-	0,11	0,064	325	16,4	32±4	-	11/84
	13,6	13	6,50	135	1848	0	5,7	1,5	0,06	<0,01	190	13,5	39±1	+0,8 ± 0,2	5/85
14-6-119	10,4	20	6,85	90	1250	0,09	3,6	-	0,05	-	185	19,7	-	-	3/84
	12,5	7	6,82	124	1583	0,3	1,8	-	0,04	0,176	185	24	-	-	11/84
	12,1	12	6,60	108	1676	0,4	2,2	2,35	<0,008	0,018	175	18,2	31±1	-	5/85
14-6-120	12	31	6,85	164	900	0,11	0,56	-	0,08	-	-	25,7	-	-	11/83
	8,2	45	7,13	161	920	0	0,89	-	0,08	-	118	22,2	-	-	3/84
	12,8	40	6,95	121	1370	0,1	0,95	-	0,09	0,172	98	25,5	26±3	-	11/84
	11,9	51	6,80	128	1437	0,35	1,4	2,05	0,13	0,058	92	20,7	-	-	5/85
14-6-121	11,8	13	6,82	106	915	0,03	0,11	-	0,3	-	-	21,7*	-	-	11/83
	8,9	13	6,86	129	960	0	0,23	-	0,22	-	174	31,2	-	-	3/84
	13	12	6,91	105	1371	0	0,24	-	0,39	0,228	82	30,2	-	-	11/84
	11,2	17	6,60	75	1420	0	0,80	3,40	0,29	0,048	255	29	30±1	- 1,2 ± 0,2	5/85

*Valeur vraisemblablement erronée, ceci dû à la faible teneur en azote de l'échantillon

Tableau XXIV - Résultats des analyses chimiques et isotopiques effectuées au champ captant de La Carnoye

Cette réduction du sulfate en absence d'oxygène et de nitrate a été observée notamment par Kölle et al. (1983) dans des aquifères profonds. L'important recouvrement argileux (60 mètres) et la présence de bactéries sulfato-réductrices (cf. paragraphe C.3) dans le forage 619 de la filature de Pérenchies semblent attester de la présence de ce phénomène, d'autant plus que la teneur en sulfate chute considérablement du champ captant de la Carnoye à Pérenchies (tableau XXV).

Site et n° forage	Date	SO ₄ ²⁻ mg/l
Pérenchies		
14-6-619	3/84	41
14-6-619	11/84	34
14-6-620	5/85	64
La Carnoye		
14-6-85	11/84	325
	5/85	190
14-6-119	3/84	185
	11/84	185
14-6-120	5/85	175
	3/84	118
14-6-121	11/84	98
	5/85	92
	3/84	174
14-6-121	11/84	82
	5/85	255

Tableau XXV - Comparaison des teneurs en sulfates en nappe captive (Pérenchies) et en limite captif-libre (La Carnoye)

D'autre part, nous avons constaté l'existence de carbone organique dans l'aquifère (tableau XXIX) dont la concentration augmente avec la diminution de la teneur en azote nitrique (figure 50).

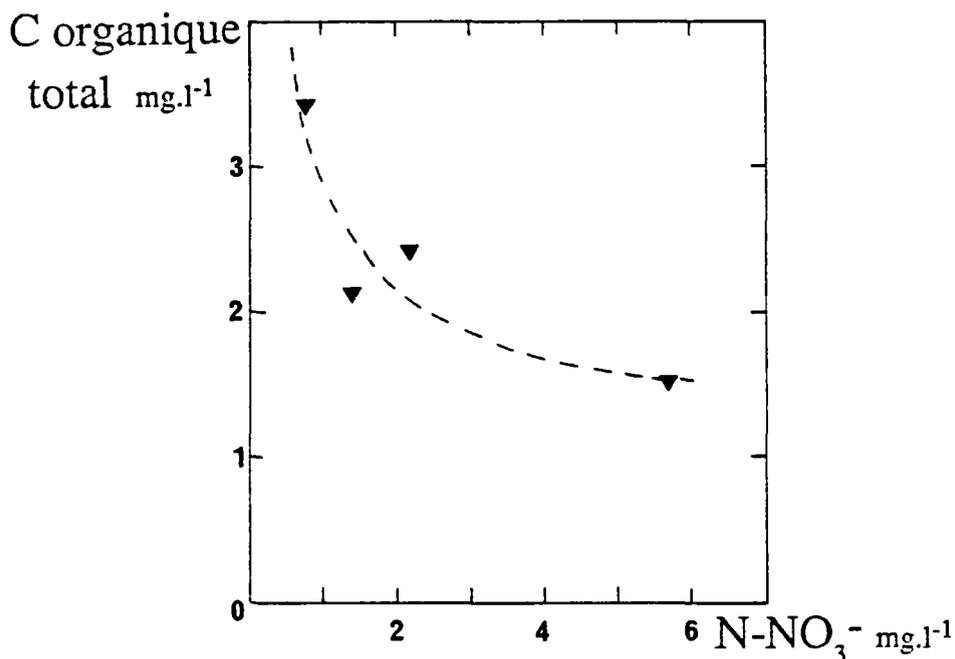


Figure 50 - Relation C_{organique} - N-NO₃⁻ à la Carnoye

La question qui se pose actuellement est de savoir quelle est la nature de la dénitrification : uniquement chimique ou biologique ?

- s'il s'agit d'un processus chimique, il n'y a pas intervention de microorganismes,
- s'il s'agit d'un processus biologique, deux possibilités sont envisageables sans pour cela être exclusives :
 - processus hétérotrophe faisant intervenir du carbone organique comme source carbonée,
 - processus autotrophe (chemiolithotrophe) avec préalablement oxydation de pyrite et intervention de bactéries du genre **Thiobacillus**.

Il est d'ailleurs intéressant de signaler que certains Thiobacilles (chemiolithotrophes obligatoires) réduisent le nitrate en nitrite et produisent de la matière organique qui est utilisée par des bactéries hétérotrophes réductrices du nitrite (Kuenen et Tuovinen, in Starr et al., 1981).

Il n'est donc pas exclu d'avoir l'association des deux processus autotrophe et hétérotrophe d'autant que les composés organiques ne sont pas toxiques pour les Thiobacilles.

Malheureusement, l'étude bactériologique dont le résumé figure au paragraphe suivant ne nous a pas permis de bien caractériser le phénomène.

C.3 - Etude bactériologique

L'étude bactériologique a pu être réalisée grâce à la collaboration de l'équipe de microbiologie marine (CNRS ER-223, Université de Provence, Marseille), dirigée par **M.A. Bianchi**.

Les principaux résultats présentés ici résument un rapport remis au Ministère de l'environnement (SRETIE) "Recherches sur la microflore et les activités dénitrifiantes dans les nappes" (**A. Bianchi, J. Garcin et P. Rault, 1986**).

α - Méthodes bactériologiques

α.1 - Dénombrements

Deux techniques de numérations bactériennes ont été utilisées

1) Numération directe par microscopie en épifluorescence qui permet de dénombrer la totalité des cellules bactériennes présentes dans les échantillons quel que soit leur type physiologique et leur niveau d'activité, Hobbie et al., (1977).

2) Numération indirecte par culture qui conduit à des sous-estimations des concentrations bactériennes, on ne dénombre que les bactéries viables dans les conditions de culture utilisées.

- Les bactéries hétérotrophes aérobies ont été dénombrées sur gélose peptonée incubée à 20°C.

- Les bactéries dénitrifiantes ont été dénombrées par comptage des colonies sur boîte de Petri contenant un milieu gélosé avec des sucres non fermentescibles, du nitrate, de l'ammonium, en absence d'oxygène.

- Le nombre de bactéries hétérotrophes anaérobies "totales" (anaérobies strictes et facultatives) a été déterminé en milieu liquide selon la technique du MPN ("Most Probable Number"), en ensemençant 3 tubes par dilution dans un milieu préparé selon la méthode de Hungate, contenant de la peptone et des extraits de levure sous atmosphère N₂-CO₂. Après 8 jours d'incubation, les tubes positifs sont ceux présentant un trouble bactérien.

- Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées selon la technique du MPN, sur un milieu liquide contenant : formate, acétate, lactate, propionate et butyrate sous atmosphère N₂. Après 15 jours d'incubation, les tubes positifs sont ceux dans lesquels l'addition de sulfate de cuivre entraîne la formation d'un précipité noir de sulfure de cuivre.

- Le nombre de bactéries méthanogènes capables d'utiliser H₂-CO₂ et/ou le formate a été déterminé selon la technique du MPN sur un milieu liquide contenant ces substrats.

Après un mois d'incubation, les tubes positifs sont ceux dont l'atmosphère contient du méthane, détectée par chromatographie gazeuse.

α.2 - Mesures d'activité

- Activité chemolithotrophe

Elle est appréhendée par l'emploi d'un traçeur radioactif permettant de connaître l'assimilation d'un substrat minéral par les bactéries. Le traçeur employé ici est du bicarbonate marqué au ^{14}C ($4\mu\text{Ci/ml}$, 1 ml dans 100 ml d'échantillon). Après une incubation de 6 heures, l'échantillon est filtré à $0,22\ \mu\text{m}$.

La radioactivité trouvée sur le filtre correspond au ^{14}C incorporé dans les bactéries.

- Activité hétérotrophe : assimilation et respiration

Dans ce cas, le traçeur radioactif est organique. On utilise du glucose ^{14}C ($4\ \mu\text{Ci/ml}$, 10 ml pour 15 ml d'échantillon). La partie respirée l'est sous forme de $^{14}\text{C}-\text{CO}_2$; ce dernier est piégé, durant l'incubation d'une heure, sur un papier filtre imprégné de phényléthylamine, puis mesuré. La partie assimilée est recueillie sur une membrane (cf. supra).

α.3 - Etude de la structure des microflores hétérotrophes

- Isolement et purification des souches

Les études taxonomiques et nutritionnelles ne pouvant être réalisées sur la totalité des colonies formées sur les cultures de numération, il a fallu sélectionner des collections représentatives des cultures effectuées pour chaque échantillon. Aussi pour constituer cette collection bactérienne, a-t-on effectué des isollements à partir des cultures sur gelose peptonée. Afin de remplir les conditions statistiques nécessaires pour une étude mathématique ultérieure (Lellouch et Lazar, 1974), ces isollements doivent se faire au hasard à l'aide d'une grille de distribution comportant 20 cases (Bianchi et Bianchi, 1982).

β - Distribution des microflores et des bactéries dénitrifiantes dans les nappes

β.1 - Résultats

Les effectifs dénombrés par microscopie à épifluorescence sont de l'ordre de 10^3 à 10^4 cellules par ml. Ces effectifs concernent la totalité des cellules bactériennes présentes, quelque soit leur type physiologique (aérobie, anaérobie, microaérophile, chémohétérotrophe ou chemolithotrophe,...) et quelque soit leur état physiologique, y compris les cellules ayant perdu leur pouvoir reproducteur (tableau XXVI).

Le nombre d'échantillons étudiés est insuffisant pour permettre une comparaison des effectifs de chaque champ sur des bases statistiques. En se basant sur les résultats disponibles, on peut estimer que les microflores des différents champs étudiés sont du même ordre de grandeur, soit 10^3 - 10^4 cellules par ml.

Les valeurs présentées dans le tableau XXVI montrent que les effectifs ne sont pas constants dans le temps. Les variations entre deux analyses effectuées sur un même puits à quelques mois d'intervalle sont de l'ordre d'une puissance de 10. Ces variations sont souvent en sens opposé pour deux puits d'un même champ. Là aussi le nombre d'échantillons est insuffisant pour définir cette variation dans l'espace-temps sur des bases statistiques.

Au sein de cette microflore totale, la communauté microbienne hétérotrophe aérobie viable, capable de proliférer dans les conditions de culture conventionnelles, est peu abondante. Dans certains cas, forages 20-1-19 et 20-1-21 on décèle moins d'une cellule hétérotrophe vivante par ml. Les concentrations maximales sont de l'ordre du millier de bactéries par ml (tableau XXVI) (forages 14-6-85 et 27-3-52, Pz 26). On n'observe pas de corrélation entre microflore totale et microflore hétérotrophe viable, ce qui est d'ailleurs habituellement le cas de tous les systèmes aquatiques oligotrophes.

Site N° ouvrage	Date	Microflore totale Nombre bactéries/ml	Microflore hétérotrophe aérobie mésophile Nombre bactéries/ml
Pérenchies			
14-6-619	11/84	1.10 ⁶	40
14-6-620	6/85	1,50.10 ⁴	140
La Carnoye			
14-6-85	11/84	2,10.10 ⁴	53
	6/85	3,00.10 ⁴	1420
14-6-119	11/84	2,60.10 ⁴	115
14-6-120	11/84	1,52.10 ³	35
	6/85	non déterminé	63
14-6-121	11/84	9,41.10 ³	35
	6/85	2,00.10 ⁴	1
Emmerin			
14-6-2	11/84	1,10.10 ⁴	12
	6/85	5,00.10 ³	3
14-6-1807 (Pz 24)	6/85	5,40.10 ⁴	195
14-6-1844 (Pz 26)	6/85	3,00.10 ⁵	933
14-6-1845 (Pz 27)	6/85	1,40.10 ⁴	493
Houplin			
20-2-124	6/85	4,00.10 ³	6
20-2-407	6/85	1,20.10 ⁴	7
20-2-403 (Pz 21)	6/85	7,00.10 ⁴	240
Ansereuilles			
20-1-12	11/84	2,10.10 ⁴	17
	6/85	non déterminé	3
20-1-17	11/84	6,50.10 ³	212
	6/85	1,4.10 ⁴	28
20-1-18	11/84	5,13.10 ³	137
	6/85	2,0.10 ⁴	8
20-1-19	11/84	2,00.10 ⁴	222
	6/85	4,0.10 ³	< 1
20-1-21	11/84	6,10.10 ³	115
	6/85	4,0.10 ³	< 1
Flers			
27-3-51	11/84	1,08.10 ⁴	196
	6/85	6,00.10 ³	100
27-3-52	11/84	8,80.10 ³	75
	6/85	3,0.10 ⁴	3410
27-3-53	11/84	1,64.10 ⁴	67
	6/85	4,0.10 ³	5
27-3-85	11/84	7,52.10 ³	10

Tableau XXVI - Microflore totale par numération directe en microscopie à épifluorescence et microflore hétérotrophe aérobie mésophile déterminée par numération sur milieu de culture peptoné gélosé incubé à 20°C

Les micro-organismes anaérobies sont moins abondants. Les dénombrements, effectués selon la technique de Hungate, bien que concernant à la fois les micro-organismes anaérobies strict ou facultatif, sont toujours inférieurs à ceux concernant les aérobies stricts ou facultatifs, sont toujours inférieurs à ceux concernant les aérobies stricts ou facultatif. Les méthanogènes, bactéries anaérobies extrêmement sensibles à l'oxygène, sont absentes. Nous n'avons décelé aucune bactérie de ce type sur tous les échantillons analysés. Les bactéries sulfato-réductrices, bactéries anaérobies strict mais beaucoup plus résistantes à des traces d'oxygène, n'ont pu être décelées que dans un nombre limité d'échantillon (tableau XXVII). Ces différents dénombrements montrent que dans ces eaux souterraines, les communautés microbiennes sont plus de type aérobie qu'anaérobie et que les processus chemohétérotrophes ne paraissent pas prépondérants.

N° ouvrage	Date	M.T.	S.R.	M.M.
		en bactéries/ml		
14-6-619	11/84	10	0	0
14-6-620	6/85	25	10	0
14-6-85	11/84	0	0	0
	6/85	95	0	0
14-6-119	11/84	25	0	0
14-6-2	11/84	10	0	0
	6/85	0	0	0
14-6-1807	6/85	10	25	0
14-6-1844	6/85	95	25	0
14-6-1845	6/85	25	3	0
20-1-17	6/85	10	0	0
20-2-124	6/85	0	25	0
20-2-407	6/85	0	3	0
20-2-403	6/85	95	25	0
27-3-51	11/84	95	0	0
	6/85	10	10	0
27-3-52	6/85	95	0	0
27-3-53	6/85	3	0	0

Tableau XXVII - Microflores anaérobies

M.T. = Microflore hétérotrophe anaérobie
sur milieu peptoné liquide sous CO₂N₂

S.R. = Microflore sulfato-réductrice
M.M. = Microflore méthanogène

0 = Cultures négatives avec 1 ml d'inoculum

L'étude des activités microbiennes sur élément organique (glucose) ou inorganique (bicarbonate) marqué au ^{14}C montre effectivement la prépondérance des processus chémolithotrophes (tableau XXVIII). En effet, les micro-organismes hétérotrophes de ces différents puits sont capables d'assimiler des quantités de C organique de l'ordre du nanogramme par litre par heure alors que la microflore autotrophe assimile des quantités de C inorganique de l'ordre du microgramme par litre et par heure dans les mêmes conditions (tableau XXVIII).

Certes le glucose, ici utilisé comme traçeur, ne peut être considéré comme substrat utilisé universellement par toutes les bactéries chemoorganotrophes. La valeur obtenue comme indice d'assimilation à partir de cette molécule ne saurait être considérée comme représentative de l'activité assimilatrice de l'ensemble de la communauté microbienne hétérotrophe. Mais cette remarque ne contredit pas la nette prépondérance de l'autotrophie par rapport à l'hétérotrophie dans l'ensemble des masses d'eau étudiées (tableau XXVIII).

Site N° ouvrage	Date	Vitesse d'assimilation du ^{14}C glucose en μg fixé $\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}$	Respiration en μg C respiré $\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}$	Vitesse d'assimilation du ^{14}C bicarbonate en μg C fixé $\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}$
Pérenchies				
14-6-619	11/84	2,09	2,6	-
14-6-620	6/85	0,05	0,07	1,11
La Carnoye				
14-6-85	11/84	1,81	1,9	-
	6/85	1,02	0,17	13,69
14-6-119	11/84	0,56	N.D.	-
14-6-120	11/84	0,14	N.D.	-
	6/85	0,94	0,17	3,5
14-6-121	11/84	2,61	2,1	-
	6/85	0,32	0,14	4,5
Emmerin				
14-6-2	11/84	1,04	0,61	-
	6/85	0,25	0,06	1,01
14-6-1807	6/85	4,78	0,14	2,0
14-6-1844	6/85	0,35	1,02	0(?)
14-6-1845	6/85	1,44	N.D.	-
Bouplin				
20-2-124	6/85	2,64	0,09	2,58
20-2-407	6/85	0,12	0,02	0(?)
20-2-403	6/85	2,27	3,93	9,23
Ansereuilles				
20-1-12	11/84	0,97	0,37	-
	6/85	3,07	N.D.	7,16
20-1-17	11/84	0,67	0,28	0,73
	6/85	1,87	0,02	-
20-1-18	11/84	0,92	0,18	-
	6/85	0,58	0,06	-
20-1-19	11/84	0,52	0,14	-
	6/85	1,70	0,02	-
20-1-21	11/84	0,01	N.D.	-
	6/85	0,41	N.D.	-
Fiers				
27-3-51	11/84	0,29	0,06	-
	6/85	1,16	N.D.	-
27-3-52	11/84	0,23	0,43	-
	6/85	3,26	0,01	-
27-3-53	11/84	0,01	N.D.	-
	6/85	0,59	0,17	-
27-3-55	11/84	0,72	1,81	-

Tableau XXVIII - Potentiels hétérotrophe et chémolithotrophe des
microflores des différents puits (N.D. = non détectable)

Les recherches de micro-organismes capables d'effectuer la réduction du nitrate sur milieux de culture sélectifs ne sont pas toujours positives (tableau XXIX). Certes dans la plupart des puits on peut mettre en évidence la présence d'eau moins trois des quatre types bactériens recherchés. Seul le forage 20-1-12 répond positivement pour seulement deux cultures sur quatre. Les réponses positives ont été obtenues avec des échantillons d'eau non diluée. Aucune réponse positive a été obtenue avec la dilution au dixième, signe d'une concentration de l'ordre de quelques cellules de ce type par ml d'eau.

Dans un seul cas (forage 27-3-55) et pour un seul type de culture (recherche de *Thiobacillus denitrificans* en conditions aérobies) la réduction du nitrate est effectuée au-delà du stade nitrite. Ces résultats obtenus sur milieux de culture électifs sont l'indice d'une communauté microbienne dénitrifiante peu représentée au sein de la microflore de ces eaux.

Milieu sélectif	Pseudomonas		Paracoccus denitrificans anaérobie		Thiobacillus denitrificans aérobie		Thiobacillus denitrificans anaérobie	
	R.NO ₃	R.NO ₂	R.NO ₃	R.NO ₂	R.NO ₃	R.NO ₂	R.NO ₃	R.NO ₂
Puits								
14-6-619	++	--	++	--	++	--	--	--
14-6-85	++	--	++	--	++	--	++	--
14-6-119	++	--	++	--	++	--	--	--
14-6-120	++	--	+/-	--	--	--	++	--
14-6-121	+/-	--	+/-	--	+/-	--	++	--
14-6-2	+/-	--	+/-	--	--	--	++	--
20-1-12	++	--	++	--	--	--	--	--
20-1-17	+/-	--	++	--	+/-	--	++	--
20-1-18	--	--	++	--	++	--	+/-	--
20-1-19	++	--	+/-	--	++	--	++	--
20-1-21	--	--	++	--	++	--	++	--
27-3-51	++	--	--	--	++	--	--	--
27-3-52	+/-	--	++	--	--	--	++	--
27-3-53	+/-	--	++	--	+/-	--	++	--
27-3-55	++	--	++	--	++	+/-	++	--

Tableau XXIX - Mise en évidence de différentes bactéries capables de réduire le nitrate par incubation de milieux de culture spécifique. Inoculum 1 ml pour 5 ml de milieu de culture liquide. R.NO₃ : Réduction du nitrate en nitrite ; R.NO₂ : Réduction du nitrite en N₂ - Chaque symbole + -exprime la réponse positive ou négative d'un tube de culture.

On aboutit à la même conclusion en analysant les potentialités métaboliques des souches bactériennes hétérotrophes isolées de chaque puits (tableau XXX), les micro-organismes possédant l'équipement enzymatique permettant la réduction du nitrate en nitrite en conditions de culture pure, constituent une fraction de la communauté hétérotrophe totale comprise entre 15 %, forage 27-3-52) et 93 % (14-5-619). Parmi ces souches bactériennes, celles capables de réduire le nitrate au-delà du stade nitrite, réalisant une vraie dénitrification avec dégagement d'azote moléculaire sont soit totalement absentes (forages 85, 17, 18, 19, 52, 53) soit présentes à des pourcentages compris entre 8 (14-6-619) et 68 % (27-3-52).

N° ouvrage	Date	R NO ₃ ⁻		R NO ₂ ⁻	
		Nombre bactéries par ml	%	Nombre bactéries par ml	%
14-6-619	11/84	37	93	3	8
14-6-620	6/85	120	86	9	7
14-6-119	11/84	92	80	0	0
14-6-120	11/84	14	40	7	20
	6/85	18	28	9	14
14-6-1845	6/85	438	89	192	39
20-1-17	11/84	185	87	0	0
	6/85	ND	ND	ND	ND
20-1-18	11/84	103	75	0	0
	6/85	ND	ND	ND	ND
20-1-19	11/84	89	40	0	0
	6/85	ND	ND	ND	ND
20-2-403	6/85	127	53	26	11
27-3-51	11/84	147	75	129	65
	6/85	63	63	26	26
27-3-52	11/84	11	15	0	0
	6/85	2490	73	2318	68
27-3-53	11/84	33	50	0	0

Tableau XXX - Microflore hétérotrophes réduisant le nitrate en nitrite (RNO₃⁻) et réduisant le nitrite en azote moléculaire (RNO₂⁻). Les résultats sont exprimés en nombre de bactéries actives par ml et en pourcentage de la microflore hétérotrophe aérobie mésophile déterminée par culture sur milieu peptoné

β.2 - Conclusions

Les dénombrements au microscope, les dénombrements sur milieux de culture électifs, les mesures d'activités métaboliques montrent clairement que dans les différents échantillons d'eau analysés les effectifs et les activités métaboliques bactériens sont relativement faibles et principalement orientés vers les processus autotrophes de type oxydatif. Ces processus sont à l'opposé de ceux conduisant à une réduction du nitrate par voie bactérienne habituellement décrits comme hétérotrophes et inhibés par l'oxygène moléculaire.

Les différentes recherches de bactéries capables de réduire le nitrate confirment un faible développement des micro-organismes et ce type dans les différents puits.

Les études des potentialités métaboliques des souches isolées des différents puits montrent que les organismes capables de réduire le nitrate en nitrite constituent environ 60 % des effectifs et que parmi ceux-ci moins du tiers est capable de réduire le nitrite en azote moléculaire.

En fonction des effectifs moyens, de l'ordre de la centaine de cellules hétérotrophe viable par ml d'eau, ces micro-organismes ne peuvent exercer une importante activité dénitrifiante.

Dans les différents puits étudiés, les populations bactériennes sont peu abondantes et leur métabolisme paraît orienté plus spécialement vers les processus chemolithotrophes.

Ainsi, sur les échantillons d'eau obtenus en pompage, les effectifs en micro-organismes dénitrifiants ne sont en fait constitués que par quelques cellules ou quelques dizaines de cellules par ml d'eau. Les organismes capables de réduire le nitrate en N_2 semblent le plus souvent absents de ces masses d'eau. De tels effectifs ne sembleraient pas permettre d'attribuer un rôle important aux processus bactériens dans la réduction du taux de nitrate dans ces masses d'eaux souterraines, **du moins de manière instantanée par les microflores libres dans l'eau circulante**. L'étude effectuée ne permet pas d'apprécier l'activité des micro-organismes fixés à la matrice minérale, et qui pourraient réaliser une nette activité dans l'aquifère.

En effet, nous allons montrer, lors de l'étude du site d'Emmerin (§.3.3.2.D), que la population bactérienne dénitrifiante fixée à la matrice minérale est importante et à l'origine du processus de réduction des nitrates, mis en évidence par le traçage isotopique naturel en ^{15}N .

D) Champ captant d'Emmerin

Le champ captant d'Emmerin, géré par la Communauté Urbaine de Lille (CUDL), se situe dans une région naturelle formée par un anticlinal primaire d'axe W.NW-E.SE au niveau duquel l'épaisseur du Crétacé est réduite. Cette région qui s'étend en rive droite du canal de la Deûle s'appelle le Mélantois (figure 51).

Les ouvrages du champ captant sont implantés dans un chenal secondaire d'alluvionnement perpendiculaire au cours du canal de la Haute-Deûle (Vallon de Bargues et Becque de Wattignies).

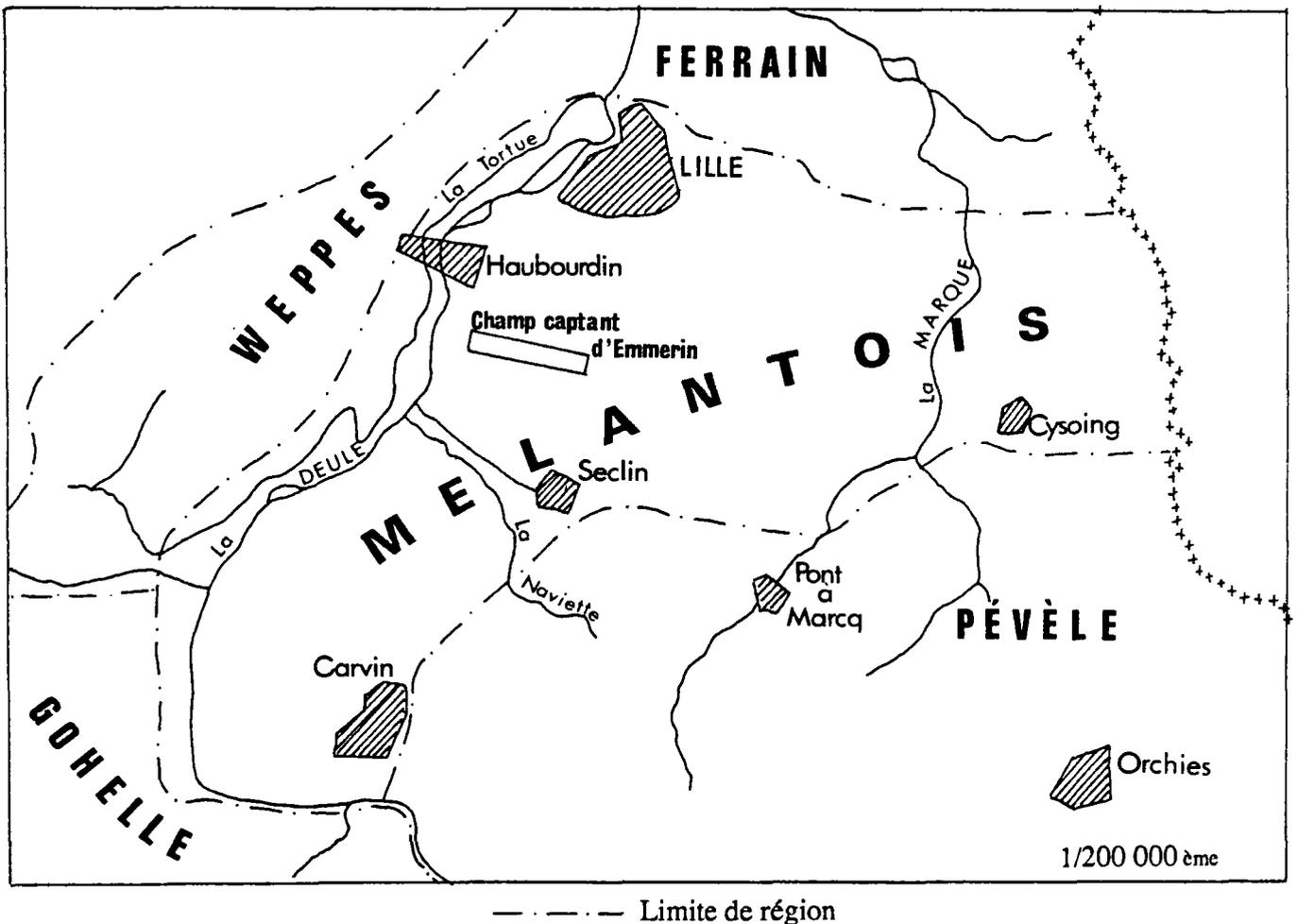


Figure 51 - Situation du champ captant d'Emmerin

En fait, seuls deux forages du champ captant ont été retenus pour l'étude qui repose essentiellement sur les données obtenues au niveau de trois piézomètres alignés grossièrement le long d'une ligne d'écoulement correspondant à une faille W.NW-E.SE, déduite d'un certain nombre de sondages qui présentent un décalage des différentes assises (figure 52).

En Novembre 1984, lors d'une campagne de prélèvements, un fort enrichissement isotopique en azote 15 des nitrates présents dans le piézomètre 24 récemment installé ($\delta^{15}\text{N-NO}_3 = + 24,8 \text{ ‰}$), avait été constaté par rapport à la composition isotopique stable observée au niveau des forages F2 et F4 (+ 9,7 ‰). Il a alors été décidé le fonçage de deux autres piézomètres entre le forage F2 et le Pz 24. Un carottage du Pz 26 a été effectué ainsi que des prélèvements d'eau en cours de foration.

D.1 - Contexte hydrogéologique

La coupe hydrogéologique synthétique (figure 53) illustre la succession des différents niveaux rencontrés.

Depuis la surface, dans le Mélançois, on distingue un limon supérieur brun compact, de type éolien, la plupart du temps décalcifié (Lehm) surmontant un limon inférieur sableux, jaune ou verdâtre qui se charge à la base de glauconie lorsqu'il repose sur le Landénien. Le Landénien absent la plupart du temps, le limon inférieur chargé en granules de craie repose directement sur la craie fissurée et altérée.

Dans le marais d'Haubourdin où sont implantés les ouvrages intéressant l'étude, l'épaisseur d'alluvions varie de 5 à 10 mètres. Ce sont des argiles sableuses à graviers et galets calcaires de teinte beige grisâtre. En dessous, la craie ou Sénonien blanc-beige à blanc-grisâtre est fracturée et argileuse dans les joints de fracture.

Le bassin versant souterrain du champ captant d'Emmerin (figure 52) représente une superficie d'environ 16 km². A l'Est et au NW de Wattignies, ce sont des zones de grandes cultures où les pertes d'azote annuelles sont estimées à 20 kg/ha (rapport BRGM - BURGEAP(2)) et entraînent une teneur en NO₃⁻ de 50 mg/l dans ce secteur. L'eau provenant du NE, sa charge ensuite en azote au niveau de la zone urbanisée de Wattignies-Templemars pour atteindre en aval 80 à 90 mg/l.

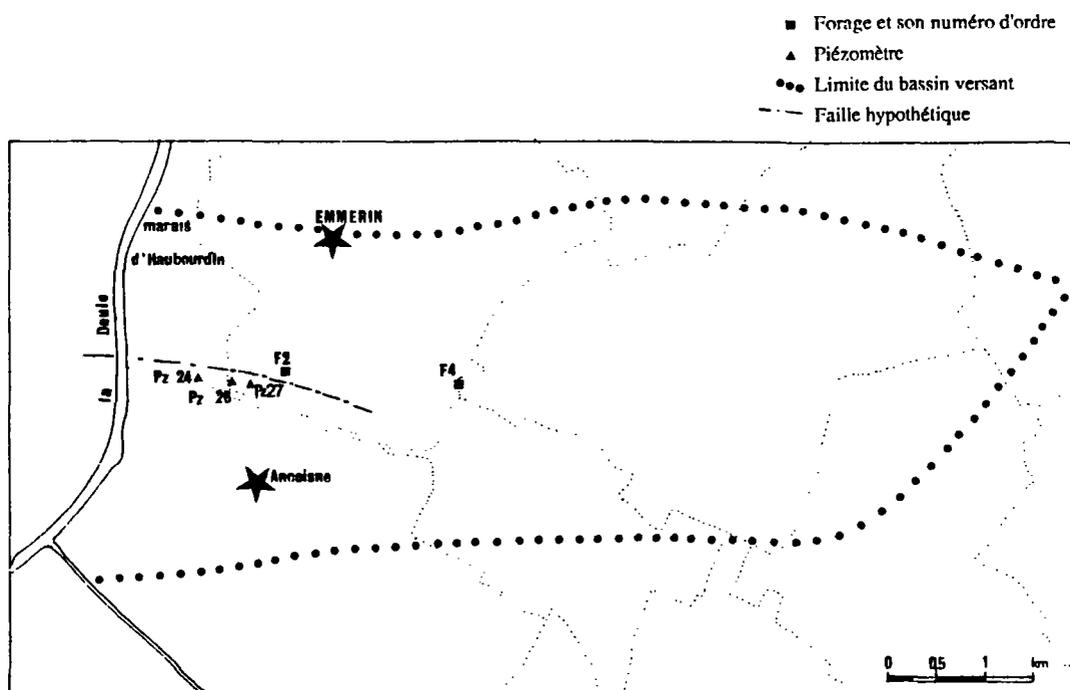


Figure 52 - Bassin versant du champ captant d'Emmerin

En traversant une zone agricole où le maraîchage et le retournement des prairies sont pratiqués, l'eau venant du nord et celle sortant de Wattignies se chargent en nitrates jusqu'à des teneurs de 70 à 120 mg/l.

L'écoulement du bassin versant passe d'amont en aval de Wattignies, puis par la vallée d'Emmerin avant de rejoindre celle de la Deûle et se diriger enfin vers le champ captant des Ansereuilles.

D.2 - Etude hydrochimique et isotopique

* Résultats chimiques

Nous constatons lors du passage de la nappe de l'état libre (forages 4 et 2) à l'état semi-captif (Pz 24, 26 et 27) sous les alluvions argilo-sableuses, une diminution du potentiel rédox qui passe de + 200 mV à + 85 mV, accompagnée d'une chute brutale des teneurs en oxygène dissous et en nitrates dans le sens présumé d'écoulement de la nappe (figure 53).

Ces différentes variations sont tout à fait comparables à celles décrites par Edmunds (1973, 1977), Edmunds et Walton (1982), étapes d'une séquence de réactions d'oxydo-réduction dans le sens d'écoulement de l'aquifère.

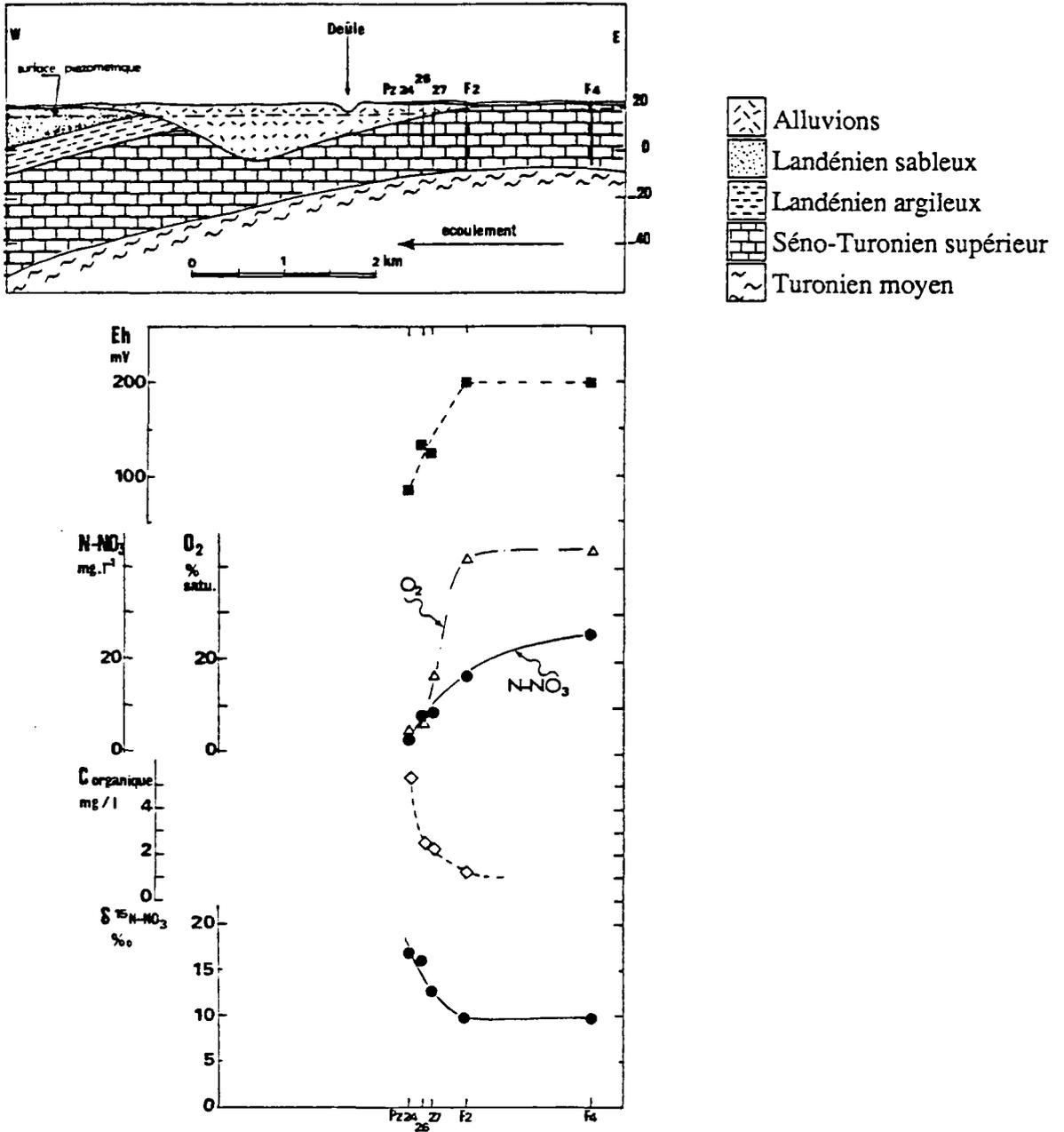


Figure 53 - Evolution hydrochimique de la nappe dans le sens d'écoulement présumé

D'autre part, si on considère les concentrations en fer total dissous et manganèse (figure 54), on remarque qu'elles sont inversement proportionnelles aux teneurs en espèces oxydantes (O_2 dissous et NO_3^-). Ces variations, si elles n'apparaissent pas très bien corrélées avec la teneur en azote nitrique, indiquent néanmoins un certain état rédox de l'aquifère : celui-ci est de plus en plus réducteur dans le sens présumé d'écoulement, avec présence d'ammoniaque dans le Pz 24 ($NH_4^+ = 1 \text{ mg/l}$ - tableau XXXI, figure 53).

Corrélativement aux diminutions des espèces oxydantes (O_2 dissous et NO_3^-) apparaît une augmentation de la teneur en carbone organique total (figure 53).

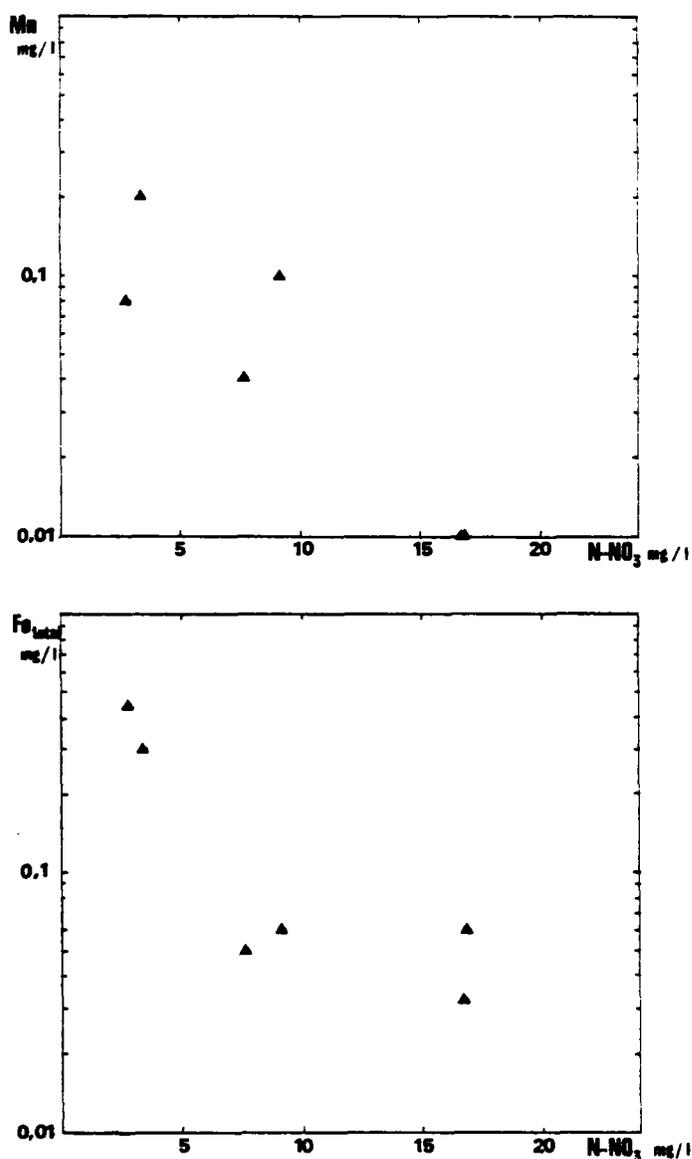


Figure 54 - Evolution des teneurs en fer et manganèse accompagnant la disparition du NO_3^-

*** Résultats isotopiques**

Nous venons de voir qu'un certain nombre de modifications hydrochimiques apparaissaient dans le sens d'écoulement de la nappe, lors du passage de celle-ci de l'état libre à l'état semi-captif ; notamment une nette diminution de la teneur en azote nitrique. Cette disparition progressive des nitrates s'accompagne d'un enrichissement isotopique en ^{15}N important (environ $+ 15\text{‰}$; figures 53 et 55).

Sur la figure 55 a été porté l'ensemble des résultats isotopiques concernant ce site ; c'est-à-dire les mesures effectuées sur deux types d'échantillons :

- type 1 : échantillons d'eau prélevés par pompage dans les différents ouvrages (forages et piézomètres) ;
- type 2 : échantillons d'eau prélevés au cours de la foration uniquement des piézomètres 26 et 27 (prélèvements à la bouteille).

Les échantillons correspondant à ce second type de prélèvement sont en fait un mélange d'eau et de particules fines provenant des divers terrains traversés par la tarière pendant la foration.

Les différentes analyses (tableau XXXII) ont été effectuées sur l'eau après décantation.

N° BRGM (date)	T°C	O ₂ Z sat.	pH	Eh mV	Conduc. µS.cm ⁻¹	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	C _{orga.}	Fe _t	Mn ²⁺	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	δ ¹⁵ N-NO ₃ ⁻ ‰	δ ¹⁵ N-NH ₄ ⁺ ‰	3H U.T.	δ ³⁴ S ‰
14-6-4 (11/83) (3/84)	11,1	44	7,0	203	825	-	-	26,1	-	-	-	-	-	8,7	-	20±3	-
	11,5	28	6,9	178	860	-	-	23	-	0,45	-	136	-	9,7	-	-	-
14-6-2 (11/84) (5/85) (6/85)	10,8	36	6,8	103	1115	-	-	14,5	-	-	-	88	-	10,0	-	30±4	-
	11,7	38	6,7	135	1236	-	-	16,7	1,8	0,03	<0,01	91	-	8,5	-	-	- 2,4
	*10,5	*42	6,7	204	1144	-	-	16,8	1,3	0,06	0,01	150	64	9,7	-	-	-
14-6-1807 Pz 24 (11/84) (5/85) (6/85)	10,9	33	6,7	67	1514	1,1	-	1,1	-	-	-	116	-	24,8	18,9	37±4	-
	10,6	18	6,6	98	1728	1,0	0,02	2,7	7,1	0,44	0,08	240	-	16,3	15,6	-	- 3,2
	*10,0	*5,5	6,6	82	1451	1,0	-	3,3	5,4	0,30	0,20	180	108	16,8	16,3	-	-
14-6-1844 Pz 26 (6/85)	* 9,6	*6,3	6,6	133	1386	-	-	7,6	2,5	0,05	0,04	125	97	16,4	-	-	-
14-6-1845 Pz 27 (6/85)	* 9,5	*17,2	6,5	125	1409	-	0,02	9,1	2,3	0,06	0,10	160	78	12,7	-	-	-

* mesure faite dans le forage

Tableau XXXI - Résultats des analyses effectuées sur le site d'Emmerin

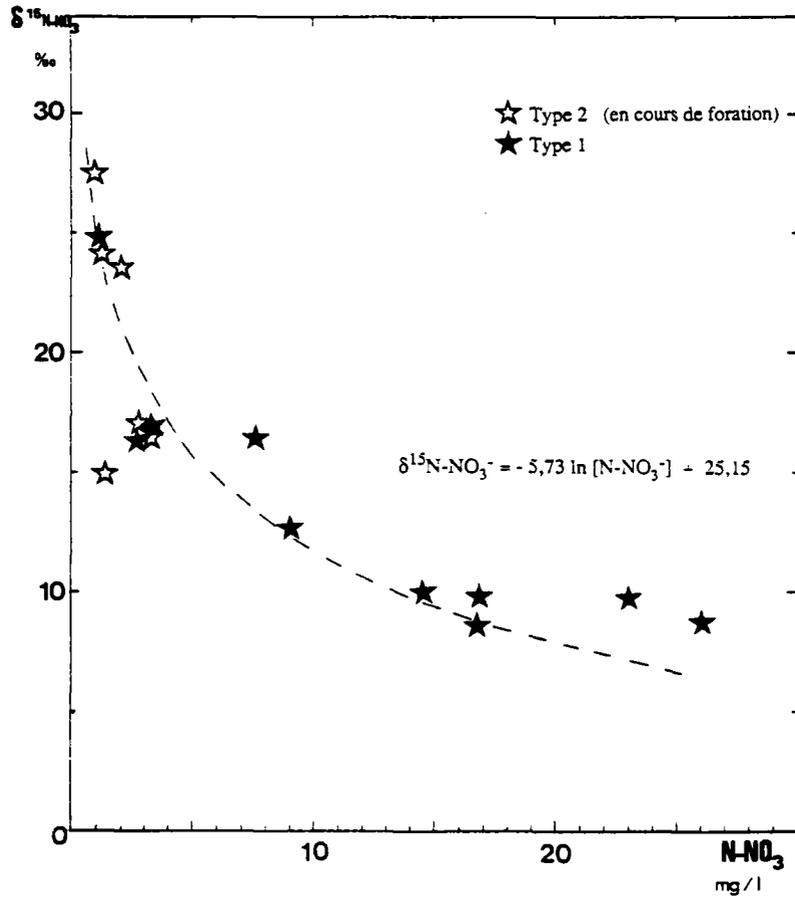


Figure 55 - Evolution de la composition isotopique des nitrates sur le site d'Emmerin

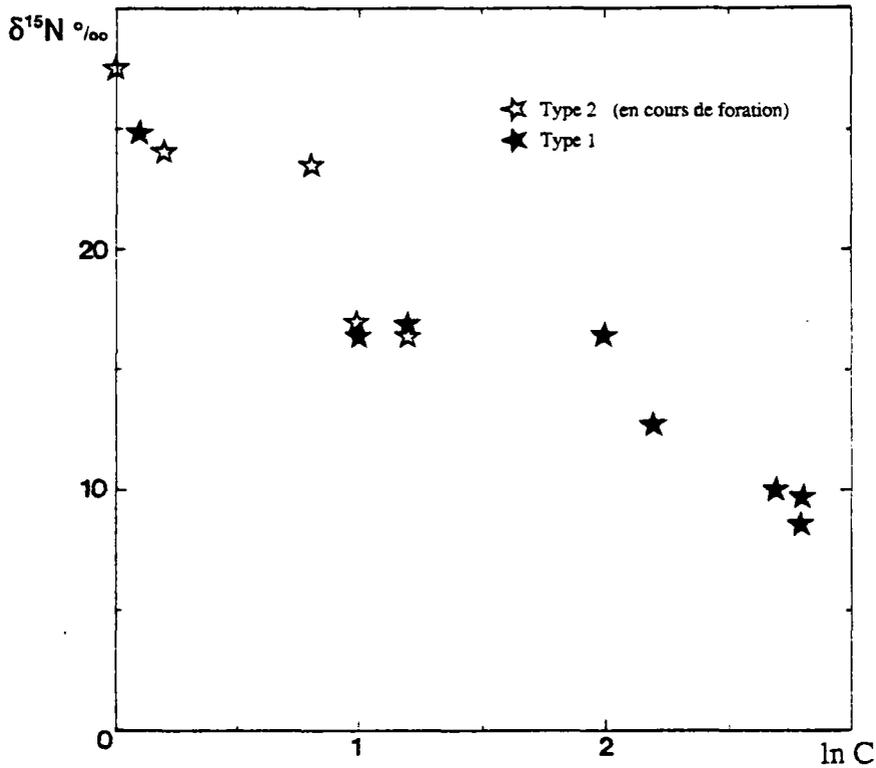


Figure 56 - Evolution de la composition isotopique en fonction du logarithme de la concentration en substrat nitrique

Deux dosages d'azote nitrique ont été faits sur les échantillons de type 2 (tableau XXXII) à environ quatre jours d'intervalle, pour la raison qu'une perte d'azote avait été constatée entre le moment de la détermination de la teneur en NO_3^- et le moment de la mesure de sa composition isotopique en ^{15}N , mesure qui permet une estimation de la teneur : en effet, lors de l'analyse de composition isotopique en ^{15}N , selon les méthodes exposées en annexe 3, la quantité d'azote gazeux (N_2 ; résultant de l'oxydation du sel d'ammonium, préalablement obtenu par distillation, par l'hypobromite de lithium) de l'échantillon à analyser au spectromètre de masse, est appréciée sur une jauge indicatrice de vide (Pirani). A une certaine pression de gaz (en mb), on peut approximativement faire correspondre une certaine quantité d'azote.

Cette perte d'azote nitrique est attribuable à la poursuite du phénomène de dénitrification dans les flacons de prélèvement (type 2). En effet, l'enrichissement en ^{15}N de la composition isotopique des nitrates contenus dans les échantillons de type 2 est nettement plus important (de l'ordre de $+11 \text{ ‰}$ pour le Pz26) que celui mesuré sur les mêmes piézomètres (26 ou 27), mais sur les échantillons de type 1 (tableaux XXXI et XXXII).

Reprenons le cas du piézomètre 26 :

- échantillon de type 2 : le $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ maximal mesuré est de $+27,5 \text{ ‰}$;
- échantillon de type 1 : le $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ mesuré est descendu à $+16,4 \text{ ‰}$;

Soit un enrichissement de $+11,1 \text{ ‰}$ entre les deux échantillons provenant du même piézomètre.

Cependant, si on se réfère à la figure 55, on constate qu'il s'agit du même phénomène : les points se placent tous sur la même courbe exponentielle, caractéristique d'un processus de dénitrification au cours duquel la composition isotopique en ^{15}N du nitrate résiduel s'enrichit (Processus de Rayleigh).

Le phénomène de dénitrification s'est ainsi poursuivi dans les bidons de prélèvement de type 2.

Par ailleurs, n'ayant jamais constaté auparavant de perte d'azote nitrique lors d'analyses isotopiques sur des échantillons de type 1, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'en l'absence de matrice minérale (représentée par les boues de forage dans les échantillons de type 2, le processus s'arrête. Cette hypothèse semble confirmée par les résultats des analyses chimiques des échantillons de type 2 (tableau XXXI), qui montrent un milieu beaucoup plus réducteur (fortes teneurs en fer, manganèse et ammonium) par rapport aux teneurs du tableau XXXI, mesurées sur les échantillons de type 1.

Echantillon (profondeur)	NH_4^+	NO_2^-	N-NO_3^-	SO_4^{2-}	Cl^-	Fe_t	Mn^{2+}	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$	$\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$
	en mg/l							en ‰	
Pz 26									
(3 m) décantée	0	0,02	5,1(1) 2,8(2)	205	10	0,15	0,46	17	-
(6,2 m)	2,2	0,25	6,0(1) 1,2(2)	300	11	0,25	0,61	24,1	6,1
(6,2 m) décantée	2,2	0,44	5,9(1) 2,0(2)	310	11	0,74	0,73	23,5	3,6
(16,8 m)	2,5	0,50	6,8(1) 2,0(2)	160	11	0,41	0,45	27,5	6,9
Pz 27									
(3 m)	1,1	0,44	2,5(1) 0,3(2)	330	17	0,15	0,73	14,9	6,0
(16,7 m)	1,1	2,0	6,3(1) 2,7(2)	220	10	0,08	0,68	16,4	1,5

(1) et (2) correspondent à des dosages effectués à 4 jours d'intervalle environ.

Tableau XXXII - Résultats des analyses chimiques et isotopiques effectuées sur l'eau décantée des échantillons prélevés au cours de la foration des piézomètres 26 et 27 (3-4-5/06/1985)

La dénitrification, traduite par l'enrichissement isotopique du nitrate, apparaît entre le forage 2 et le piézomètre 27, distant d'environ 300 mètres.

La composition isotopique augmente proportionnellement au logarithme de la concentration en substrat nitrique (figure 56).

Le coefficient d'enrichissement en ^{15}N déterminé à partir des données du tableau XXXIII, est de $-5,73 \pm 1,24 \text{ ‰}$, valeur tout à fait comparable à celles obtenues par Mariotti et al. (1982) et à celles que nous avons précédemment mesurées (chapitre III.1).

N° Forage	N-NO_3^- mg/l	Ln C	$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ‰
F2	14,5	2,67	10,0
F2	16,7	2,82	8,5
F2	16,8	2,82	9,7
Pz 27	9,1	2,21	12,7
Pz 26	7,6	2,03	16,4
Pz 24	3,3	1,19	16,8
Pz 27	*3,3	1,19	16,4
Pz 26	*2,8	1,03	17,0
Pz 24	2,7	0,99	16,3
Pz 26	*2,2	0,79	23,5
Pz 26	*1,2	0,18	24,1
Pz 24	1,1	0,10	24,8
Pz 26	*1,0	0,00	27,5

Tableau XXXIII - Résultats des analyses isotopiques effectuées à Emmerin

Les valeurs précédées d'une astérisque correspondent aux échantillons prélevés en cours de foration (type 2) et pour lesquels des variations de la teneur en nitrates ont été constatées (cf. texte). La concentration en azote nitrique de chacun d'eux répertoriée dans ce tableau, correspond à une valeur approximée par rapport à la pression de gaz obtenue lors de l'analyse isotopique (cf. annexe 3 : Méthodes analytiques) et non pas aux valeurs du tableau XXXII ; d'autre part l'oxydation du NO_2^- en NO_3^- étant très rapide, la composition isotopique mesurée est en fait celle de $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, des nitrites ayant été détectés lors d'analyses sur le terrain.

Cette valeur de ϵ , coefficient en relation simple avec la vitesse de réaction (considérée du premier ordre) souligne la rapidité du phénomène qui, si on se reporte aux divers travaux existant dans la bibliographie, peut s'expliquer par une importante disponibilité en substrat réducteur dans le milieu.

Ce substrat réducteur est vraisemblablement le carbone organique ; en effet la présence de celui-ci dans le milieu en forte concentration, notamment dans le Pz 24, a été constatée. Une relation entre le carbone organique total et la teneur en azote nitrique existe (figure 57).

Théoriquement dans un système clos, le carbone organique doit diminuer lors de la dénitrification. Or, c'est une augmentation de celui-ci que nous observons accompagnant la disparition du nitrate. Il paraît donc plus plausible de penser que c'est à cause de la présence de carbone réduit en forte concentration que démarre la dénitrification.

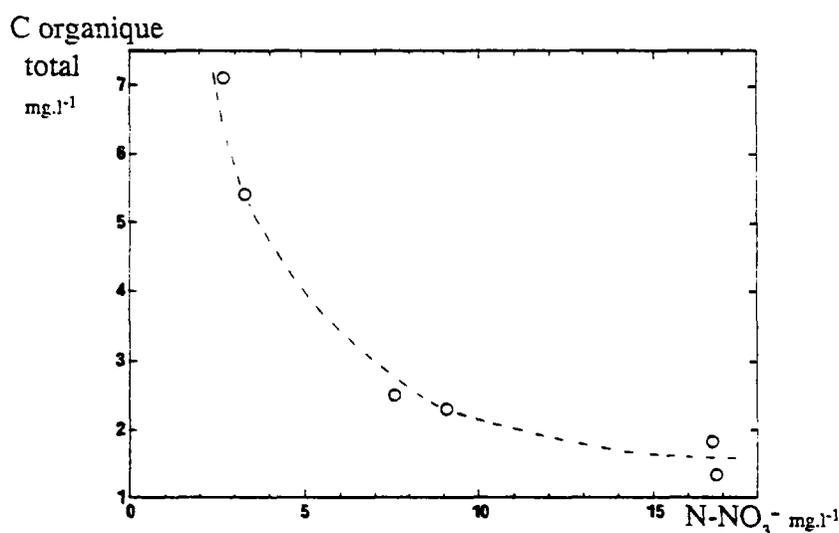


Figure 57 - Relation C.orga. total - Azote nitrique dans les échantillons de type 1 d'Emmerin

D.3 - Etude de la matrice

Lors de la foration du piézomètre 26 un carottage a été effectué en vue d'analyses chimiques et isotopiques (³⁴S).

La figure 58 montre les différents niveaux rencontrés sur les piézomètres Pz 26 et 27. Sous la terre végétale dont l'épaisseur varie entre 0,25 m (Pz 27) et 0,6 m (Pz 26), se situent les alluvions argilo-sableuses provenant du démantèlement des dépôts tertiaires et qui se chargent vers la base en granules de craie. En dessous, on rencontre la craie du Sénonien, d'aspect grisâtre.

Les résultats des analyses chimiques faites sur des échantillons de carotte prélevés à différentes profondeurs sont rassemblés dans le tableau XXXIV.

De 0 à 6,2 m, la dominante est siliceuse avec à partir de 3,5 m une nette augmentation de la fraction carbonatée. Le passage à la craie se situe à 6,5 m ; celle-ci est plus phosphatée vers 14,5 m.

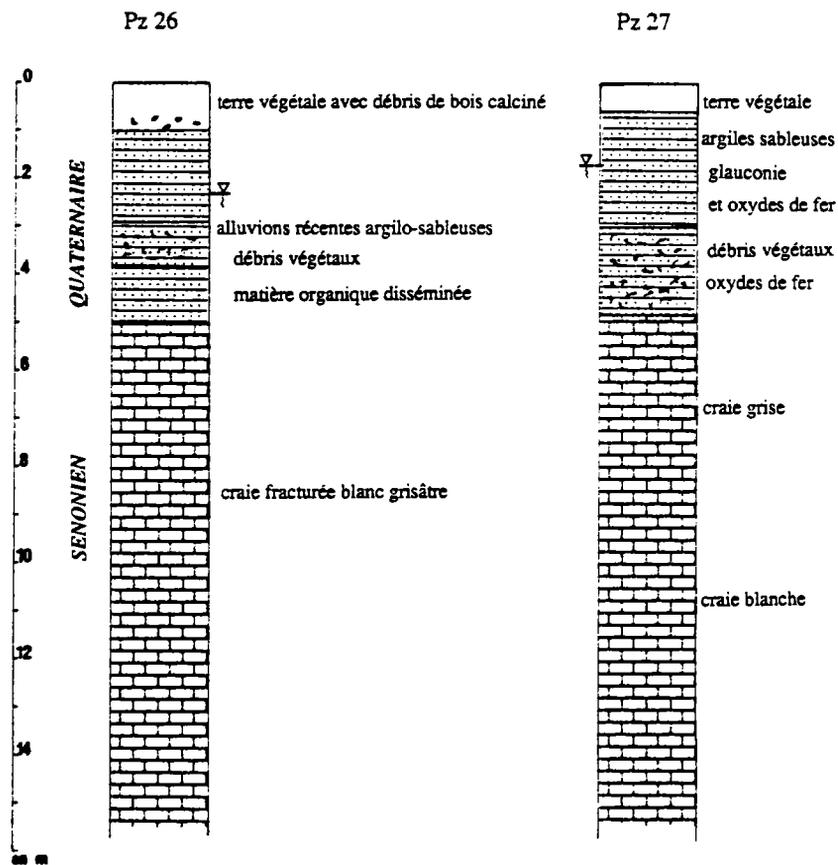


Figure 58 - Coupes lithologiques des piézomètres 26 et 27 d'Emmerin

Profondeur en m	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	MnO	TiO ₂	P ₂ O ₅ ppm	C _{orga.} %	N-NO ₃ ⁻ mg/l	S-SO ₄ ²⁻ en %	δ ³⁴ S ‰	Teneur en eau en % matière sèche
	en %													
0,4	69,2	9,4	3,7	7,1	-	1,6	0,07	0,75	2335	2,22	250			21,6
2,0											30,5			21,0
2,3	81,8	9,9	3,5	1,3	-	1,7	-	0,81	1988	0,21	9,7	0,014	- 5,0	21,6
2,7											4,8			21,9
2,8											18,6			23,4
3,0	79,4	11	4,0	1,5	1,1	2,0	-	0,80	2139	0,29	traces	0,054	- 2,5	24,6
3,9	63,8	9,1	3,1	10,3	2,2	1,3	0,04	0,66	1450	0,70	traces	0,280	- 19,7	25,0
4,3	64,3	8,1	3,0	10,9	2,1	1,0	0,06	0,66	1397	0,32	traces			15,2
4,5											21,0			19,6
5,0	54,7	2,2	1,2	25,7	-	-	0,02	0,15	1042	0,09	traces			12,8
5,4	54,2	4,7	2,4	23,0	-	-	0,02	0,26	2041	0,11	traces	0,003	- 7,2	17,7
6,2	68,3	5,8	2,4	11,9	1,2	-	0,03	0,48	1044	0,12	21,2	0,012	+ 1,8	13,9
6,3	4,5	-	1,2	52,2	-	-	0,04	0,03	1870	0,17				
7,0											20,3			21,0
9,4	3,6	-	-	52,6	-	-	0,04	0,02	2022	0,08	27,0	0,021	+ 14,4	19,6
12,0	1,4	-	-	54,5	-	-	0,03	-	1188	0,06		0,015	+ 14,7	
14,5	-	-	-	54,3	-	-	0,03	-	4066	0,05				

Tableau XXXIV - Résultats des analyses effectuées sur la carotte du Pz 26

Sur ces échantillons de carotte, le pourcentage de carbone organique a été déterminé ainsi que la teneur en azote nitrique de l'eau interstitielle.

Les résultats de ces analyses sont rassemblés dans le tableau XXXIV. Sur la figure 59 se détache un niveau particulier entre 2,5 et 4,3 m de profondeur par rapport à la surface du sol, où le pourcentage de carbone organique augmente, alors que la teneur en azote nitrique diminue fortement (traces). Si on compare ces variations avec la coupe lithologique, on remarque qu'elles correspondent à une zone argilo-sableuse riche en matière organique (débris végétaux).

Ces différentes observations nous conduisent à penser que c'est probablement à ce niveau que se produit le phénomène de dénitrification.

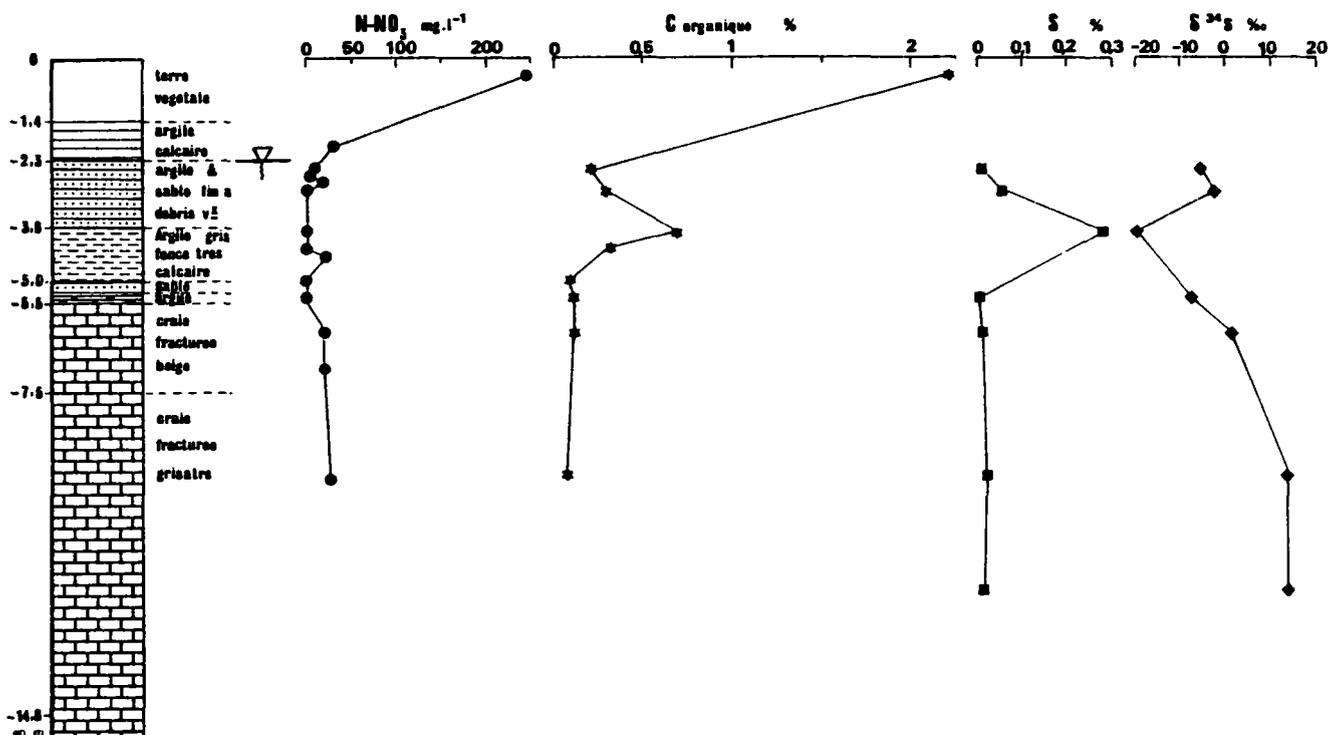


Figure 59 - Variations chimiques des eaux interstitielles observées en fonction de la profondeur, en relation avec la coupe lithologique

D'autre part, une analyse diffractométrique aux rayons X de la fraction non carbonatée des différents niveaux géologiques constituant la carotte, a révélé la présence de 0,5 % de pyrite dans la zone des argiles grises à - 3,9 mètres à partir de la surface du sol.

Sur la figure 59, il apparaît nettement que cette zone à pyrite correspond à un niveau où la teneur en sulfates augmente (teneur en sulfates exprimée en % de soufre élémentaire). En effet, un pic se dégage de profil de la teneur en soufre en fonction de la profondeur ; lequel pic correspond à une composition isotopique en ^{34}S très basse, voisine de -20 ‰ . Cette valeur négative indique que ces sulfates pourraient provenir de l'oxydation de la pyrite.

En conclusion de l'étude détaillée du site d'Emmerin, il semble que la dénitrification se produise à un niveau lithologique particulier où règnent des conditions réductrices : présence d'importantes teneurs en carbone organique associées à de la pyrite. Cette pyrite joue vraisemblablement un rôle dans ce processus responsable de la disparition des nitrates.

En effet, nous pouvons envisager une oxydation de la pyrite par le nitrate, libérant ainsi des ions Fe^{2+} et SO_4^{2-} selon la réaction (9) précédemment citée au chapitre I, puisqu'une très nette augmentation de la teneur en sulfates à composition isotopique très basse ($\delta^{34}\text{S} = -19,7 \text{ ‰}$) apparaît à cet endroit particulier de la coupe lithologique (figure 59).

Une étude bactériologique effectuée sur des échantillons de terrains prélevés sur la carotte du Pz 26 et sur des échantillons d'eau de type 2 ne semble pas aller à l'encontre de cette hypothèse. Les méthodes utilisées (milieux de culture et autres...) sont rassemblées en annexe 4.

L'observation des résultats (tableaux XXXV et XXXVI) indique clairement la présence de bactéries dénitrifiantes dans la matrice minérale (les valeurs indiquées représentent le nombre de bactéries par ml ayant présenté un dégagement gazeux azoté.

Nous ne pouvons a priori pas opter pour un processus particulier (hétérotrophe ou autotrophe) dans la mesure où les microflores représentatives de ces deux processus métaboliques sont présentes conjointement dans les échantillons de terrains et de type 2 analysés. Nous remarquons, en effet, qu'il existe dans le milieu des bactéries à métabolisme énergétique hétérotrophe et des bactéries à métabolisme énergétique chemolithotrophe du genre *Thiobacillus denitrificans* qui oxydent des substances minérales (le soufre dans le cas de *Thiobacillus*) comme source d'énergie pour la biosynthèse et la maintenance.

La comparaison des deux tableaux XXXV et XXXVI montre que la population bactérienne dénitrifiante fixée à la matrice minérale (tableau XXXV) est plus importante que celle recueillie dans les échantillons de type 2, ce qui tend à prouver que la partie de la microflore dénitrifiante que nous récupérons lors de prélèvement d'eau n'est pas représentative de la population existant réellement dans l'aquifère.

Dans un échantillon d'eau prélevé par pompage, nous n'avons probablement accès qu'à une infime partie de la microflore totale dénitrifiante, en grande partie fixée sur la matrice rocheuse.

Echantillon N° Piezo. Profondeur	AEROBIE		ANAEROBIE		
	Bactéries hétérotrophes	<u>Thiobacillus denitrificans</u>	Bactéries hétérotrophes	Bactéries de l'hydrogène	<u>Thiobacillus denitrificans</u>
Pz 26					
(3 m) décantée	incomptable	0	10	20	
(6,2 m)	incomptable	21	950	200	180
(6,2 m) (décantée)	200	25	2000	220	200
(16,8 m)	100	14	1500	30	530
Pz 27					
(16,7 m)	70	48	700	-	800

Tableau XXXV - Résultats bactériologiques effectués sur la carotte du
Pz 26 (nombre de bactéries par ml)

Profondeur du prélèvement en m	AEROBIE		ANAEROBIE		
	Bactéries hétérotrophes	<u>Thiobacillus denitrificans</u>	Bactéries hétérotrophes	Bactéries de l'hydrogène	<u>Thiobacillus detrificans</u>
2,5	$2 \cdot 10^5$	0	0	0	0
4,8	0	0	0	0	0
6	$2 \cdot 10^4$	0	0	très nombreuses colonies	10^4
7,3	10^4	0	10^4	0	0
9,4	$6 \cdot 10^5$	$27 \cdot 10^4$	$17 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$
11,5	$6 \cdot 10^4$	0	0	0	0
12,8	0	10^4	10^4	0	$2 \cdot 10^4$
13,5	10^5	10^4	0	0	0
14,8	$7 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^4$	0	$4 \cdot 10^4$

Tableau XXXVI - Résultats bactériologiques effectués sur les échantillons
de type 2 prélevés en cours de foration (bactéries/ml)

CONCLUSIONS

Nous avons illustré dans ce travail la puissance de l'outil isotopique qui permet, sans ambiguïté, de mettre en évidence le processus de dénitrification dans les eaux souterraines, difficilement accessibles aux méthodes classiques.

Il semble bien qu'un nombre très limité de mesures de composition isotopique en ^{15}N sur des échantillons bien choisie peut suffire à la mise en évidence de ce phénomène.

Ainsi, sur un site en Bretagne ayant fait l'objet d'une étude hydrogéologique préalable, seulement trois mesures de $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ nous ont permis d'attribuer les pertes d'azote constatées dans une nappe avec la profondeur à un processus naturel de dénitrification. Cet exemple mérite d'être très rapidement présenté.

La localité de Ploudaniel se situe dans le Nord-Finistère, plus précisément dans le pays du Léon, région d'élevage et de culture maraîchère intensifs et où la pollution des nappes par les nitrates atteint un seuil critique.

Dans le but d'exploiter toute l'eau disponible, la coopérative laitière de Ploudaniel a chargé le Service Géologique Régional de Bretagne (BRGM) de l'étude des ressources en eau du sous-sol.

Pour cela, un certain nombre de sondages de reconnaissance ont été réalisés sur des sites périphériques à la laiterie.

Des analyses chimiques ont révélé l'existence d'une stratification verticale des teneurs en nitrates telle que l'on observe une diminution notable de la surface vers la profondeur.

Cette chute de la concentration en nitrates est brutale (fig. 60, tabl. XXXVII) et s'accompagne d'une augmentation des teneurs en fer et en sulfates (les résultats analytiques nous ont été communiqués par le SGR-Bretagne qui étudie ce site en collaboration avec M. **Martin**, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes).

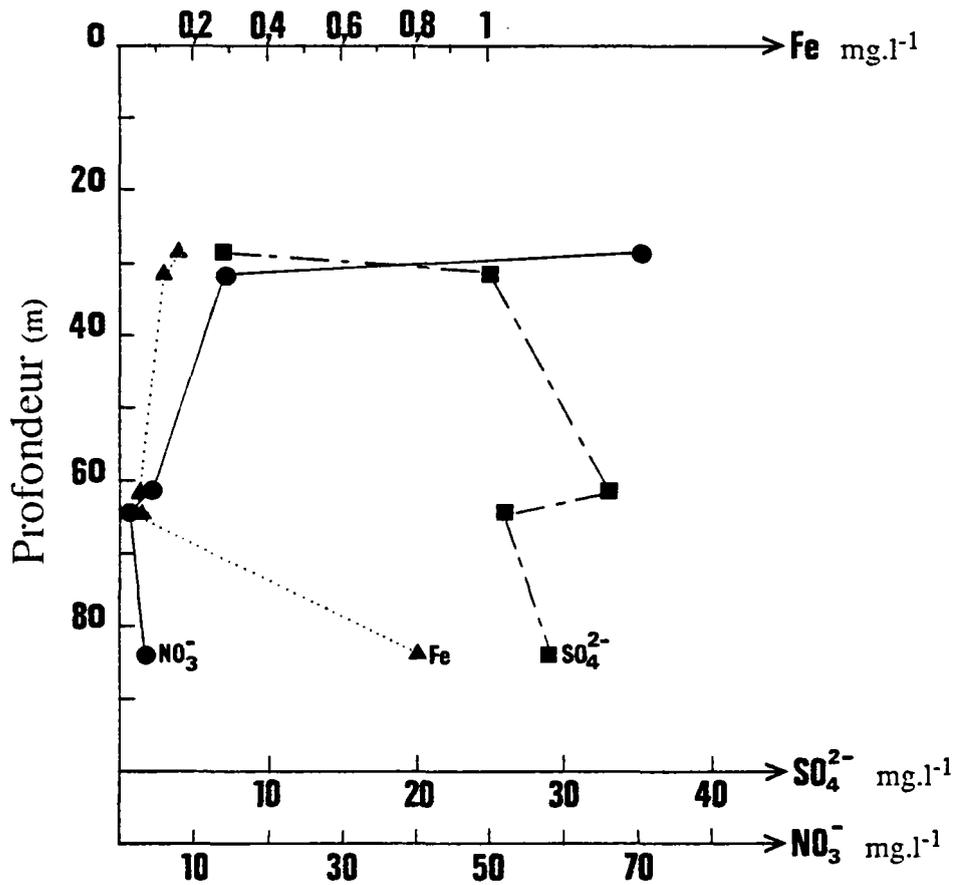


Figure 60 - Variation du chimisme avec la profondeur du forage FEI de Ploudaniel (d'après les données de Talbo et al., 1985)

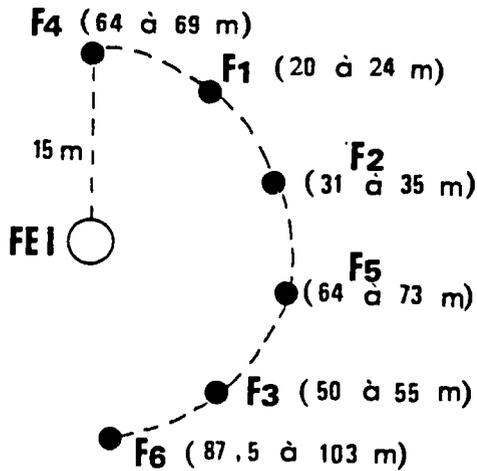
Prof. m	Fer mg/l	NO ₃ mg/l	NO ₂ mg/l	pH	ε Ω/cm	Cl mg/l	Mn mg/l	N(NH ₄) mg/l	SO ₄ mg/l	Dureté °Français
28,5	0,16	70,4	0,1	6,75	2885	60	0,1	0,68	7	4
31,5	0,12	14,08	0,01	7,04	3460	50		0,44	25	
61,5	0,05	4,4	0,007	6,9	3815	55	0,5	0,03	33	4
64,5	0,05	1,32		7,2	3940				26	
84	0,8	3,3	0,005	7,1	3825	50	0,2	0,03	29	5

Remarque - Utilisation de mousse pour déboucher le marteau à 79,5 m et 82,5 m. Sondage réalisé en bordure d'un champ de maïs ce qui peut expliquer le taux élevé des nitrates à 28,5 m.

Tableau XXXVII - Résultats des analyses effectuées sur le FEI de Ploudaniel (reproduit de Talbo et al., 1985)

Ces observations ont conduit les auteurs à mettre en cause un processus de dénitrification lié à la présence abondante de pyrite, notamment au niveau des fissures dont elle tapisse localement les parois.

Afin de mieux appréhender le phénomène, il a été entrepris le fonçage d'un dispositif en "flûte de Pan" autour du forage d'essai désigné par FEI :



Le dispositif "flûte de Pan" est constitué par 6 forages, conformément au schéma ci-contre. Les chiffres entre parenthèses indiquent la profondeur de l'horizon capté.

Nous avons effectué des mesures de composition isotopique en ^{15}N sur les forages en "flûte de Pan" où les teneurs en nitrates sont suffisantes et sur le FEI.

Les résultats de nos analyses sont reportées dans le tableau XXXVIII.

N° forage	N-NO ₃ mg.l ⁻¹	$\delta^{15}\text{N-NO}_3$ ‰
F1	9,70	+ 5,4
F2	5,70	+ 11,5
FEI	0,57	+ 24
F3	0,06	nd
F4	0,06	nd
F5	0,08	nd
F6	0,02	nd

Tableau XXXVIII - Résultats des analyses chimiques et isotopiques du dispositif en "flûte de Pan" de Ploudaniel.

nd = non déterminé (pas assez de nitrate)

Il apparaît clairement (figure 61) que la diminution de la teneur en azote nitrique s'accompagne d'un enrichissement isotopique en ^{15}N d'allure exponentielle. Le facteur d'enrichissement isotopique estimé d'après ces trois seules données est voisin de -6‰ , donc du même ordre de grandeur que ceux que nous avons pu observer dans la nappe de la craie dans le Nord de la France et de celui mesuré par G. Wilson dans sa récente thèse (1986) sur des aquifères profonds de Grande-Bretagne.

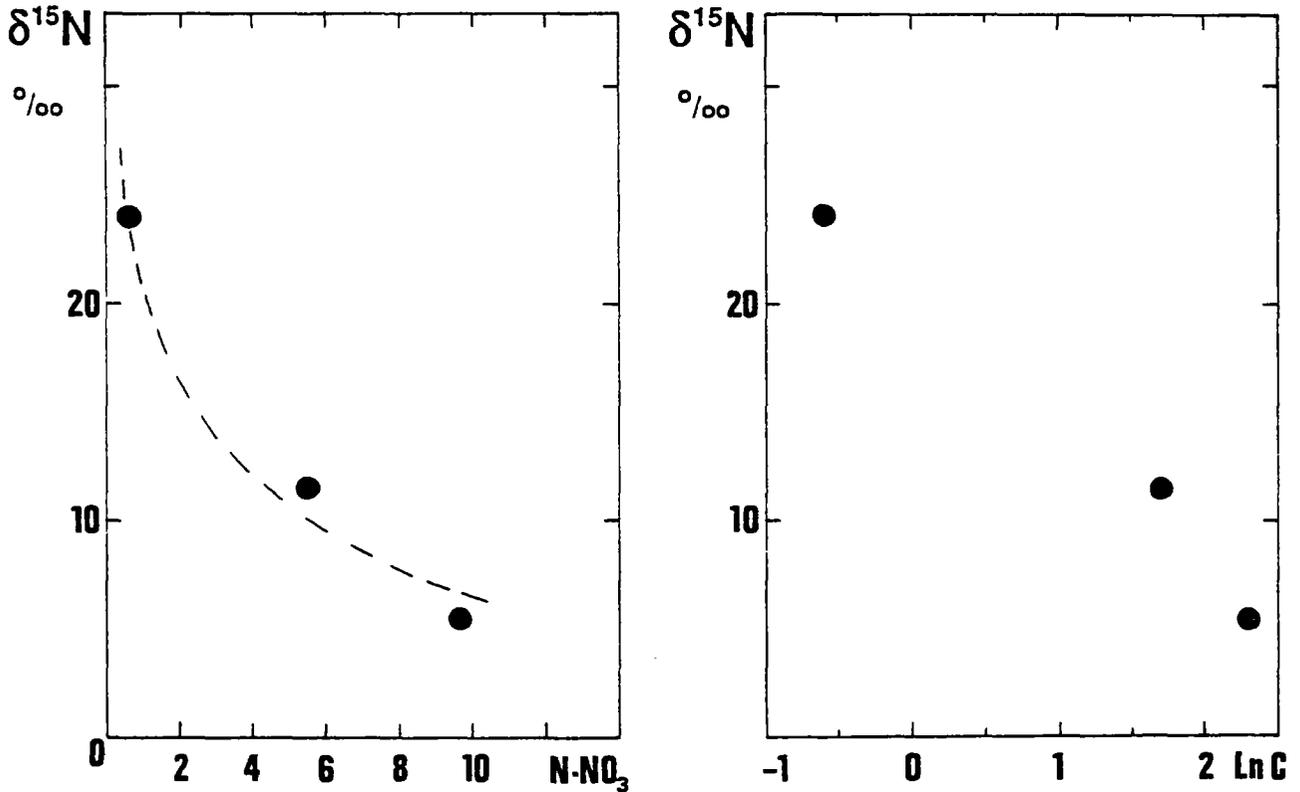


Figure 61 - Evolution de la composition isotopique en ^{15}N des nitrates à Ploudaniel

Ainsi, ces quelques mesures nous permettent-elles de confirmer l'hypothèse que le phénomène à l'origine de la disparition des nitrates sur le site de Ploudaniel est bien dû à une dénitrification naturelle et non, par exemple, à une dilution avec des venues d'eaux profondes dépourvues de nitrates.

Martin et Haider, dans un très récent rapport non publié, concluent à une dénitrification biochimique au niveau de laquelle intervient *Thiobacillus denitrificans* ; celui-ci oxyde le soufre réduit provenant de sulfures de fer (pyrite et marcassite) en utilisant l'oxygène des nitrates.

Cet exemple simple témoigne à la fois de la validité de l'outil, de sa facilité de mise en oeuvre, de son faible coût, à la condition qu'une étude hydrogéologique préalable ait permis d'effectuer, dans les meilleures conditions, le choix des échantillons à traiter.

Le traçage isotopique naturel devient donc une méthode de choix pour l'étude de la dénitrification dans les eaux souterraines. C'est une technique aisée à mettre en oeuvre, si on se borne à suivre les modifications de composition isotopique du nitrate, dont on sait qu'elles obéissent dans les conditions naturelles (Mariotti et al., 1982) à une loi d'évolution simple au cours du déroulement du processus (loi de Rayleigh).

Le suivi de la composition isotopique de l'azote moléculaire dissous pourrait apparaître, au premier examen, comme une méthode parfaitement complémentaire de celle que nous avons présentée dans cette étude.

En fait, elle est plus délicate à mettre en oeuvre, pour les raisons suivantes :

- difficulté de prélever les eaux profondes sans contact avec l'atmosphère, sur des dispositifs non spécifiquement prévus pour cette application ;
- nécessité de mesurer les quantités d'"extra air" et d'"excès d'azote" avant de calculer la composition isotopique de l'azote dénitrifié ("excès d'azote") ;
- enfin, il n'est pas évident, comme pour le nitrate, de trouver une relation simple entre la composition isotopique de l'azote moléculaire apparu par dénitrification et l'avancement de la réaction, telle que la prévoit le processus simple de Rayleigh : ceci a en particulier été bien observé par Wellman, Cook et Krouse (1970).

Par contre, la mesure de la quantité d'azote en excès peut être extrêmement utile pour mettre en évidence la dénitrification dans les eaux souterraines profondes. Cette technique a été utilisée récemment, avec succès, sur des aquifères anglais par G. Wilson, dans sa thèse (1986). Elle pourrait servir d'alternative à celle du traçage isotopique naturel : elle paraît cependant plus délicate à mettre en oeuvre, faisant appel à des techniques de mesures des gaz en spectrométrie de masse au moins aussi délicates que les mesures isotopiques, mais surtout elle nécessite des conditions de prélèvement considérablement plus draconiennes que celles des nitrates, pour éviter tout contact avec l'atmosphère.

Les facteurs d'enrichissement isotopique (ϵ) observés sur les sites étudiés se situent dans la gamme - 4 à - 7 ‰, valeurs qui sont très proches de celle obtenue par **Wilson**, qui mesure un facteur ϵ de l'ordre de - 8 ‰ (**Wilson**, 1986). Ces valeurs, homogènes, sont faibles et semblent indiquer une vitesse de dénitrification rapide, si on applique à ces situations de nappes souterraines la relation trouvée dans les sols montrant l'affaiblissement de l'effet isotopique associé à la dénitrification lorsque la constante de vitesse de ce processus augmente (**Mariotti**, 1982 ; § III.2).

L'observation de **Vogel et al.** qui obtiennent dans une nappe du désert du Kalahari des facteurs d'enrichissement isotopique élevés (de l'ordre de - 30 ‰) associés à un processus de dénitrification très lent (qu'ils estiment, grâce à des mesures de ^{14}C dans la nappe, prendre environ 27 000 ans), confirmerait ce modèle.

Ainsi, à part le cas de la nappe située sous le désert du Kalahari, les processus de dénitrification en eaux souterraines décrits en Angleterre (**Wilson**, 1986) et en France (cette étude) seraient des processus rapides.

Ce résultat est essentiel car il nous permet de penser qu'une modification du régime hydrogéologique par augmentation du débit de pompage sur les champs captants étudiés, ne devrait pas entraîner de perte notable du potentiel dénitrifiant.

D'autre part, sur les sites étudiés dans le Nord de la France, la dénitrification semble limitée à la zone de passage de la nappe de l'état libre à l'état captif. En milieu franchement captif (sous une épaisseur de recouvrement argileux comprise entre 30 et 60 m), les nitrates présents ont une composition isotopique (- 2 ‰) qui montre sans ambiguïté qu'ils ne peuvent représenter le résidu d'un processus de dénitrification. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons proposer d'explication à ce phénomène.

Le phénomène naturel de dénitrification que nous avons observé dans cette étude est, selon toute vraisemblance, sur les sites étudiés un processus biologique. En effet, les résultats bactériologiques nous ont montré que des microflores dénitrifiantes étaient présentes dans le milieu. Il nous paraît important à cet égard d'insister sur le fait que l'examen bactériologique de l'eau extraite n'est pas représentatif et qu'une étude en parallèle de la microflore fixée sur la matrice minérale est nécessaire.

Cependant nous ne pouvons pas faire la part entre la dénitrification hétérotrophe et la dénitrification chémolithotrophe, les deux processus pouvant parfaitement coexister.

En tout état de cause, le traçage isotopique naturel quitte ici le domaine où il peut apporter des réponses.

En conclusion, nous reprendrons les dernières lignes d'un récent article de **A. Mariotti (1986)** :

"...la dégradation de la qualité des eaux souterraines par les nitrates, quelles qu'en soient les causes, ne peut qu'inciter à la recherche de situations où la reconquête de cette qualité puisse s'effectuer naturellement, même si le vrai problème se situe au niveau des remèdes que l'on peut apporter aux sources de la pollution et même si le traitement des eaux d'alimentation par dénitrification puisse paraître une solution simple et élégante (mais coûteuse !)".

Le présent travail montre qu'un outil scientifique nouveau, nécessaire à la mise en évidence du processus, le traçage isotopique naturel est disponible.

"...Il reste à déterminer si ces situations sont fréquentes ou non, à caractériser le fonctionnement de ces systèmes en vue de chiffrer les potentialités de dénitrification, ceci afin de pouvoir, au moins localement, guider certains choix d'implantation d'ouvrages d'adductions d'eaux potables".

BIBLIOGRAPHIE

Ben Halima (A.) 1977.- Apport de la géochimie isotopique de l'azote à la connaissance des sources de pollution des eaux par les nitrates sur l'exemple de la Brie (France).- Thèse de 3ème cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI. 76 p.

Benson (B.B.), Parker (P.D.M.) (1961).- Nitrogen/argon and nitrogen isotope ratios in aerobic sea water. *Deep Sea Res.*, 7. 237-253.

Bergé P. (1983).- Détection par traçage isotopique, de l'origine des pollutions azotées d'un aquifère alluvial de la vallée de la Garonne.- Thèse de 3ème cycle, Université Paul Sabatier, Toulouse. 211 p.

Berger (G.), Mazenc (B.) (1983).- Etude hydrogéologique du secteur Nord de Nangis (Seine-et-Marne, France).- Rapport BRGM 83 SGN 792 IDF.

Blackmer (A.M.), Bremmer (J.M.) (1977).- Nitrogen isotope discrimination in denitrification of nitrate in soils. *Soil. Biol. Biochem.*, 9. 73-77.

(1) **B.R.G.M.-BURGEAP** (1983).- Champs captants d'Emmerin et Houplin-Ancoisne.- Etude des phénomènes liés à la présence de nitrates dans l'eau et propositions d'amélioration de la qualité de l'eau.-Rapport 1ère phase.- Note BRGM 83 NPC 17.- BURGEAP R 521 E 1223.

(2) **B.R.G.M.-BURGEAP** (1984).- Champs captants d'Emmerin et Houplin-Ancoisne.- Propositions d'amélioration de la qualité de l'eau.- Rapport 2ème phase.- Rapport BRGM 84 AGI 190 NPC.- BURGEAP R 571 E 1439.

(3) **B.R.G.M.-SAFEGE** (1983).- Propositions d'amélioration de la qualité de l'eau des captages d'Esquerchin et de Flers-en-Escrebieux. Constat de la situation et ébauche des remèdes.- Rapport 83 SGN 534 NPC.

(4) **B.R.G.M.-SAFEGE** (1984).- Champs captants d'Esquerchin et Flers-en-Escrebieux.- Propositions d'amélioration de la qualité de l'eau.- Rapport 2ème phase BRGM 84 AGI 266 NPC.- SAFEGE 75-10-94.

Broadbent (F.E.), Clark (F.) (1965).- Dénitrification. In: **W.V. Bartholomew** (Editor), *Soil Nitrogen*.- Agronomy Monograph 10, An. Soc. Agron., Madison, Wisc. 347-362.

- Bryan (B.A.), Shearer (G.), Skeeters (J.L.), Kohl (D.H.) (1983)**- Variable expression of the nitrogen isotope effect associated with denitrification of nitrate. *J. Biol. Chem.*, 258. 8613-8617.
- Buresh (R.J.), Moraghan (J.T) (1976)**- Chemical reduction of nitrate by ferrous iron.- *J. Environ Qual.*- 5,3.- 320-325.
- Caulier (P.), Préaux (C.) (1983)**- Recherches sur l'origine et le devenir des composés azotés détectés dans certains aquifères captifs.- Rapport BRGM 83 NPC 38.
- Caulier (P.), Leplat (J.), Jourdain (E.) (1986)**- Examen de la pérennité de la ressource en eau potable à l'aval d'une zone urbaine.- Rapport BRGM, 86 SGN 203 NPC.
- Chalamet (A.) (1973)**- Réduction sous atmosphère inerte de l'acide nitreux par les ions ferreux.- *Ann. Chim.*, 8. 353-358.
- Chalamet (A.), Bardin (R.) (1977)**- Action des ions ferreux sur la réduction de l'acide nitreux dans les sols hydromorphes.- *Soil. Biol-Bioch.*, 9. 281-285.
- Champ (D.R.), Gulens (J.), Jackson (R.E.) (1979)**- Oxydation-reduction sequences in ground-water flow systems. *Can. J. Earth. Sci.*, 16. 12-23.
- Chao (T.T.), Kroontje (W.) (1966)**- Inorganic nitrogen transformations through the oxydation and reduction of iron.- *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 30. 193-195.
- Chien (S.H.), Shearer (G.), Kohl (D.H.) (1977)**- The nitrogen isotope effect associated with nitrate and nitrite loss from waterlogged soils.- *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 41. 63-69.
- Collin (J.J.), Landreau (A.) (1984)**- Les nitrates dans les eaux souterraines.- Constat de situation. Principales études et programmes de recherches en cours au SGN. Rapport BRGM 84 SGN 148 EAU.
- Cook (F.D.), Wellman (R.P.), Krouse (H.R.) (1970)**- Nitrogen isotope fractionation in the nitrogen cycle.- Paper B.1-6 Intern.- Symposium on hydrogeochemistry and biogeochemistry, Tokyo, sept. 6-12, 1970.

- Delwiche (C.C.), Steyn (P.L.) (1970).**- Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions.- *Environmental Sci. Technol.*, 4. 929-935.
- Dollé (1947).**- Rapport hydrogéologique.
- Edmunds (W.M.) (1973).**- Trace element variations across and oxydation-reduction barrier in a limestone aquifer. In *Proceedings of the Symposium on Hydrogeochemistry and Biogeochemistry*. Tokyo (1970).- Edited by E. Ingerson.- Clarke Co.- Washington, DC 500-527.
- Edmunds (W.M.) (1977).**- Groundwater geochemistry.- Controls and process. In papers and proceedings, groundwater quality, measurement, prediction and protection.- Water Research centre, Medmenham., England. 115-147.
- Edmunds (W.M.), Walton (N.R.G) (1983).**- The lincolnshire limestone-hydrogeochemical evolution over a ten-year period.- Processes in karst hydrology.-Stringfield Memorial Volume.- *J.Hydrol.*- 61. 201-211.
- Edmunds (W.M.), Bath (A.H.), MILES (D.L.) (1982).**- Hydrochemical evolution of the East Midlands Triassic sandstone aquifer, England.- *Geochimica et Cosmo.- Acta*. Vol.46. 2069-2081.
- Egboka (B.C.E) (1984).**- Nitrate contamination of shallow groundwaters in Ontario, Canada.- *The Science of the Total Environment*, 35. 53-70.
- Gillham (R.W.), Cherry (J.A.) (1978).**- Field evidence of denitrification in shallow groundwater flow systems.- *Proc. 13th Can. Symp. on Water Pollution Research*, Mc.Master University, Hamilton, Ontario.
- Gouy (J.L.), Bergé (P.), Labroue (L.) (1984).**- *Gallionella ferruginiosea* facteur de dénitrification dans les eaux pauvres en matières organiques.- *Cr. Acad. Sc.*, 298, Scr III. 153-156.
- Greenwood (D.J.) (1962).**- Nitrification and nitrate dissimilation in soil. II. Effect of oxygène, *Plant a soil*, 17. 378-391.
- Guillemot (J.) (1983).**- Principes et méthodes de l'analyse isotopique de l'azote 15 au niveau des abondances naturelles.- *DESS Université Paris VI*, 48 p.

- Gunderloy (F.C.), Fujikawa (C.Y.), Dayan (V.H.), Gird (S.R.) (1968).**- Dilute solution reactions of the nitrate ion as applied to water reclamation.- Robert A. Taft Water Res. Center Rep. No. TWRC-1. Fed. Water Pollut. Control. Admin., Cincinnati, Ohio, 67 p.
- Gunderloy (F.C.), Wagner (R.J.), Dayan (V.H.) (1970).**- Development of the chemical denitrification process.- EPA Water Poll. Control. Res. Ser. Rep. WPCR 17010 EEX, Cincinnati, Ohio, 61 p.
- Heaton (T.H.E.) (1981).**- Dissolved gases: some applications to groundwater research.- Trans. Geol. Soc. S. Afr., 84. 91-97.
- Heaton (T.H.E.) (1984).**- Sources of the nitrate in phreatic groundwater in the western Kalahari.- Journal of hydrology, 67. 249-259.
- Heaton (T.H.E.), Vogel (J.C.) (1981).**- "Excess air" in groundwater.- Journal of hydrology, 50. 201-216.
- Heaton (T.H.E.), Talma (A.S.), Vogel (J.C.) (1983).**- Origin and history of nitrate in confined groundwater in the western Kalahari.- Journal of hydrology, 62. 243-262.
- Hendry (M.J.), Gillham (R.W.), Cherry (J.A.) (1983).**- An integrated approach to hydrogeologic investigations.- A case history.- Journal of hydrology, 63. 211-232.
- Hendry (M.J.), Mc. Cready (R.G.L.), Gould (W.D.) (1984).**- Distribution, source and evolution of nitrate in a glacial till of Southern Alberta, Canada.- Journal of hydrology, 70.- 177-198.
- Howard (K.W.F.) (1985).**- Denitrification in a major limestone aquifer.- Journal of hydrology, 76. 265-280.
- Ineson (J.), Downing (R.A.) (1963).**- Changes in the chemistry of groundwaters of the chalk passing beneath argillaceous strata.- Bulletin of the Geol. Survey of Great Britain, 20. 176-192.

- Junk (G.), Svec (H.J.) (1958).**- The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources.- *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 14. 234-243.
- Kölle (W.), Schreeck (D.) (1982).**- Effect of agricultural activity on the quality of groundwater in a reducing underground.- International Symposium IAH, Prague Czechoslovakia, 1982.
- Kölle (W.), Werner (P.), Strebel (O.), Böttcher (J.) (1983).**- Denitrifikation in einem reduzierenden grundwasserleiter.- *Vom Wasser*, 61. 125-147.
- Kölle (W.), Strebel (O.), Böttcher (J.) (1985).**- Formation of sulfate by microbiological denitrification in a reducing aquifer.- IWSA.- In "Wasser Berlin". Avril 1985. 22-28.
- Kreitler (C.W.) (1975).**- Determining the source of nitrate in groundwater by nitrogen isotope studies.- Report of investigations 83.- Bureau of economic geology.- The University of Texas at Austin.
- Kreitler (C.W.), Browning (L.A.) (1983).**- Nitrogen isotope analysis of groundwater nitrate in carbonate aquifers.- Natural sources versus human pollution.- *Journal of hydrology*, 61. 285-301.
- Kuenen (J.G.), Tuovinen (O.H.) (1981).**- The genera *Thiobacillus* and *Thiomicrospira*.- In "the Prokaryotes". Volume 1. **Starr (M.P.), Stolp (H.), Trüper (H.G.), Balows (A.), Schlegel (H.G.) (1981).**- Springer-Verlag.
- Leclerc (A.) (1983).**- Etude du fractionnement isotopique de l'azote associé au processus de dénitrification et de réorganisation dans les sols. Thèse de 3ème cycle. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- Létolle (R.), Olive (P.) (1983).**- Guide book IAEA, 1968.
- Létolle (R.), Blaison (N.), Chesterikoff (A.), Grateloup (L.), Scribe (P.), Barouxis (A.), Marty (J.P.), Saliot (A.) (1985).**- Dénitrification et autres phénomènes réducteurs dans le champ captant d'Aubergenville (W. Paris).- Congrès nitrates, octobre 1985, Paris.

- Mariotti (A.), Mariotti (F.), Amarger (N.), Pizelle (G.), Ngambi (J.M.), Champigny (M.L.), Moysse (A.) (1980).**- Fractionnements isotopiques de l'azote lors des processus d'absorption des nitrates et de fixation de l'azote atmosphérique par les plantes.- *Physiol. végét.*, 18. 163-181.
- Mariotti (A.), Germon (J.C.), Hubert (P.), Kaiser (P.), Létolle (R.), Tardieux (A.), Tardieux (P.) (1981).**- Experimental determination of nitrogen Kinetic isotope fractionation.- Some principles, illustration for the denitrification and nitrification processes.- *Plant and soil.*, 62. 413-430.
- Mariotti (A.), Mariotti (F.), Champigny (M.L.), Amarger (N.), Moysse (A.) (1982).**- (1982).- Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO_3^- by Pearl Millet. *Plant. Physiol.*, 69. 880-884.
- Mariotti (A.) (1982).**- Apports de la Géochimie isotopique à la connaissance du cycle de l'azote.- Thèse de doctorat d'Etat, Université Pierre et Marie Curie, 476 p.
- Mariotti (A.) (1983).**- Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature* 303. 685-687.
- Mariotti (A.) (1984).**- Natural ^{15}N abundance measurements and atmospheric nitrogen standard calibration.- *Nature* 311. 251-252.
- Mariotti (A.) (1986).**- La dénitrification dans les eaux souterraines, principes et méthodes de son identification : une revue.- *Journal of hydrology* (sous presse).
- Martin (G.) (1979).**- Le problème de l'azote dans les eaux.- *Technique et documentation* ed., 279 p.
- Martin (G.), Morvan (J.), Haider (N.) (1985).**- Dénitrification physicochimique.- Congrès international "les nitrates dans les eaux". Paris 22-23-24 octobre 1985.
- Morel (F.M.M.) (1983).**- Principles of aquatic chemistry.- Wiley-Interscience, 446 p.
- Mulder (E.G.) (1964).**- Iron bacteria, particularly those of the *Sphaerotilus-Leptothrix* group and industrial problems.- *J. Appl. Bact.*, 27. 151-172.

- Olive (P.) (1970).**- Contribution à l'étude géodynamique du cycle de l'eau dans l'hémisphère nord par la méthode du tritium.- Thèse de doctorat d'Etat, Paris VI, 138 p.
- Rousselot (D.) (1978).**- Zone industrielle de la plaine de l'Ain.- Etude hydrogéologique.- Rapport BRGM.- 78 SGN 671 JAL.
- Starr (M.P.), Stolp (H.), Trüper (H.G.), Balows (A.), Schlegel (H.G.) (1981).**- The Prokaryotes, volume 1.- Springer-Verlag.
- Stumm (W.), Morgan (J.J.) (1981).**- Aquatic chemistry.- Wiley & Sons, 2ème édition.
- Talbo (H.), Grumelart (R.), Carn (A.) (1984).**- Coopérative laitière de Ploudaniel.- Réalisation des forages d'essai et perspectives d'exploitation.- Rapport BRGM. SGR/BRE 84-R.04.
- Talbot (A.), Tillie (B.) (1979).**- Modèle mathématique de gestion du Douaisis.- Alimentation en eau des sites industriels retenus par le SDAU.- Rapport BRGM 79 SGN 692 NPC.
- Talbot (A.), Philippart (A.), Bailly (S.), Caron (C.) (1985).**- Champs captants des Anseveilles, d'Emmerin et d'Houplin-Ancoisne.- Modélisation des écoulements souterrains et des transferts de masse.- Rapport BRGM 85 AGI 063 NPC.
- Vogel (J.C.), Talma (A.S.), Heaton (T.H.E.) (1981).**- Gaseous nitrogen as evidence for denitrification in groundwater.- Journal of hydrology, 50. 191-200.
- Wellman (R.P.), Cook (E.D.), Krouse (H.R.) (1968).**- Nitrogen-15 microbiological alteration of abundance.- Science, 161. 269-270.
- Wilson (G.B.) (1986).**- Isotope geochemistry and denitrification processes in groundwaters.- Thèse de doctorat de l'Université de Bath.
- Young (G.K.), Bungay (H.R.), Brown (L.M.), Parsons (W.A.) (1964).**- Chemical reduction of nitrate in water. Journal water pollu. Con. F., 36, 395-398.

ANNEXES

ANNEXE 1 - Coupe géologique S-N de Rumaucourt à Pérenchies (h.t.)

ANNEXE 2 - Piézométrie de la nappe de la craie (h.t.)

ANNEXE 3 - Méthode d'analyse de composition isotopique en ^{15}N

ANNEXE 4 - Méthodes d'analyse bactériologique

ANNEXE 5 - Méthodes analytiques utilisées

ANNEXE 3

Méthode d'analyse isotopique en ^{15}N
(in Guillemot, 1983)

PREPARATION DES ECHANTILLONS (figure 1)

A - PREPARATION D'UN SULFATE D'AMMONIUM

1 - L'Azote minéral

Il s'agit d'échantillons liquides prélevés dans des aquifères, ou extraits de sols.

Après dosage des différentes espèces azotées, les eaux sont concentrées par évaporation dans une étuve à 60°C . Si l'échantillon contient de l'ammonium il doit être préalablement acidifié avec de l'acide sulfurique (pH 4-5) afin d'éviter la volatilisation de NH_3 .

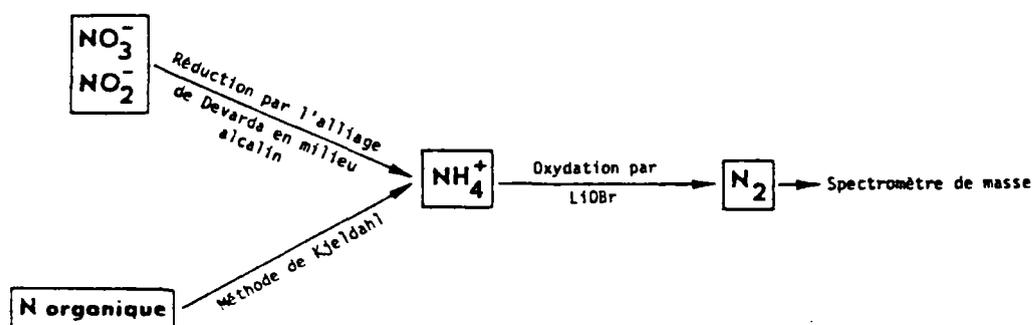


Figure 1 - Chaîne de traitement des composés azotés en vue de l'analyse isotopique au spectromètre de masse.

La réduction des nitrates se fait selon des méthodes décrites par **Bremner et Edwards (1965)** et **Bremner et Keeney (1965)**. Les nitrates sont réduits en milieu alcalin (MgO calcinée) par l'alliage réducteur de Devarda (50 % Cu, 45 % Al, 5 % Zn) dans l'appareil décrit sur la figure 2.

Il est possible de séparer les deux principales espèces azotées dissoutes, à savoir NH_4^+ et NO_3^- . Dans un premier temps on distille l'échantillon en présence de magnésie calcinée qui permet de déplacer l'ion ammonium en milieu alcalin. On recueille ce premier distillat. On introduit ensuite l'alliage réducteur (après avoir pris soin de refroidir le ballon de distillation pour éviter un démarrage non contrôlable de la réaction dès l'introduction de l'alliage métallique) qui va provoquer la réduction des nitrates. On recueille l'ammoniac ainsi formé sur une solution d'acide sulfurique N/20. L'échantillon pouvant contenir de la matière organique labile en quantité non négligeable, on utilise, pour rendre le milieu basique, une base faible (MgO) qui ne la détruira pas. Ceci évitera toute interférence avec l'azote des composés inorganiques.

Il convient de prendre certaines précautions pour éviter tout fractionnement isotopique favorisant l'isotope léger au détriment de l'isotope lourd. Ainsi la réduction des nitrates doit être totale. Pour cela la granulométrie de l'alliage réducteur doit être inférieure à $70 \mu\text{m}$ (**Kreitler, 1974**). Ainsi le rebroyage du produit initial (Alliage de Devarda Prolabo pur pour analyses) dans un broyeur à billes en porcelaine pendant 20 minutes est indispensable. De plus il convient de distiller quelques millilitres d'éthanol en fin de distillation pour entraîner l'ammoniac susceptible d'être adsorbé sur les parois de verre (**Bremner et al., 1966**). Le distillat recueilli sur de l'acide sulfurique N/20 est placé à l'étuve à 60°C dans un récipient spécial pour être évaporé à sec après avoir été ramené à PH 4 pour éviter toute perte d'ammoniac pendant la concentration et ainsi éviter tout fractionnement isotopique.

Après ce premier traitement, l'azote se trouve sous forme de sulfate d'ammonium.

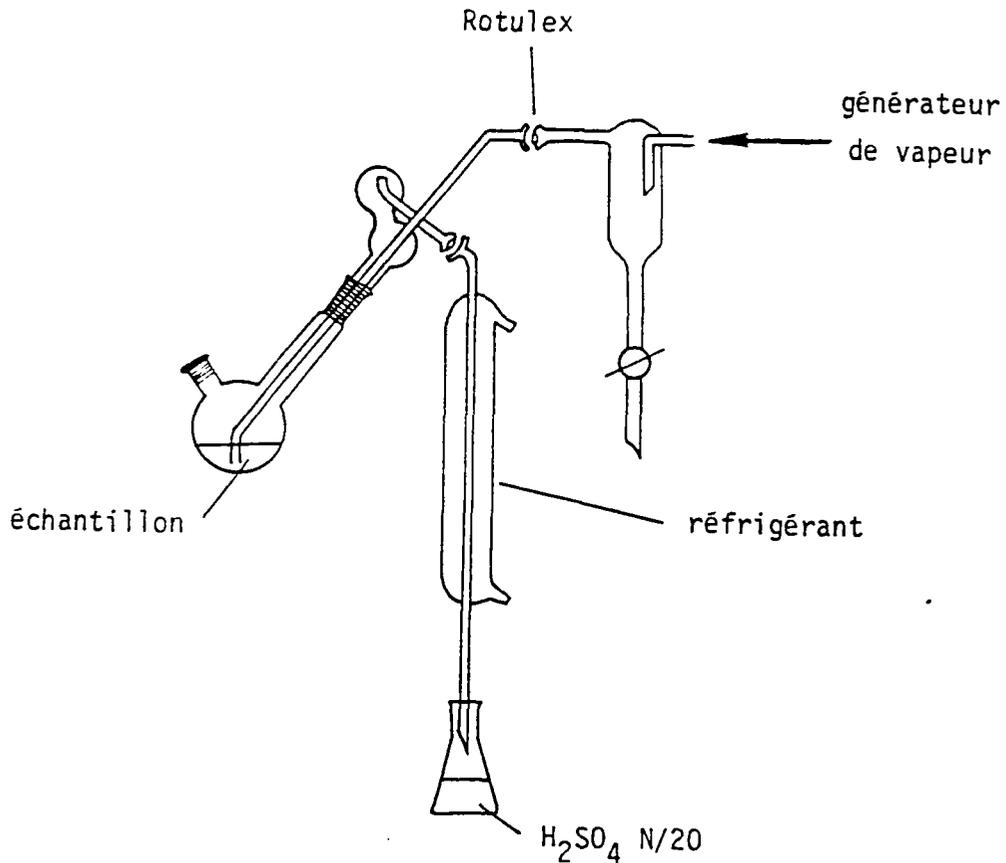


Figure 2 - Distillation de l'ammoniac par entraînement à la vapeur
(d'après Bremner, 1965)

B - PASSAGE A L'AZOTE MOLECULAIRE

La méthode employée est une modification de celle de **Sprinson** et **Rittenberg** (1948).

Le passage à l'azote moléculaire se fait par oxydation du sel d'ammonium. Cette réaction a lieu sous vide dans une ligne de préparation représentée sur la figure 4. Le récipient dans lequel le distillat a été évaporé à sec, est adapté sur cette ligne par l'intermédiaire de deux raccords spéciaux à joint torique en viton.

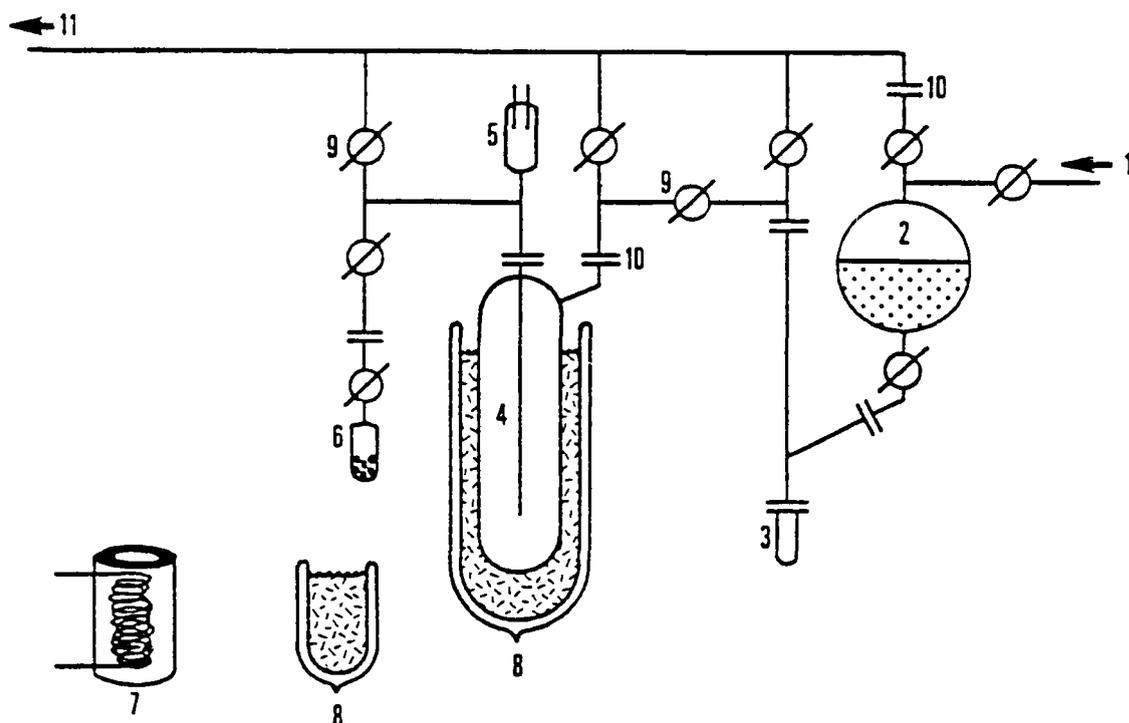
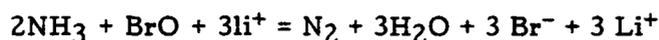


Figure 4 - Schéma de l'appareil permettant l'oxydation de l'ammonium en azote moléculaire en vue de son analyse isotopique (d'après Mariotti et Létolle, 1978)

- | | |
|---|---|
| 1 - Hélium | 8 - Azote liquide (purification du gaz en 4, piégeage sur silicagel en 6) |
| 2 - Ampoule à hypobromite de lithium | 9 - Vanne à vide à soufflet inox et joint torique en viton (SVT) |
| 3 - Sulfate d'ammonium (résidu sec) | 10 - Raccord à joint torique en viton |
| 4 - Piège | 11 - Vide réalisé par pompe à palettes |
| 5 - Jauge Pirani | |
| 6 - Porte échantillon à silicagel | |
| 7 - Four à 200°C (étuvage du silicagel) | |

De façon générale, on utilise de préférence aux rodages graissés, des raccords sphériques à joints toriques en viton (Rotulex), et des vannes à vide à soufflet inox (SVT), plus robustes et plus fiables compte tenu que l'obtention et le maintien d'un bon vide ($\sim 10^{-4}$ mm Hg) dans la ligne sont indispensables.

Lorsque le vide est obtenu on fait réagir un oxydant, l'hypobromite de lithium (LiOBr), sur le sel d'ammonium, selon la réaction :



Le gaz (N₂) ainsi obtenu est détendu dans un piège refroidi à l'azote liquide où la vapeur d'eau et l'oxyde nitreux (N₂O) susceptible de se former au cours de la réaction vont être retenus (Bremner et al., 1966, Clusius et Rechnitz, 1953). L'azote est ainsi séché et purifié (pendant environ 20 minutes). Il est ensuite complètement adsorbé sur quelques grains de silicagel placés dans un porte échantillon et portés à la température de l'azote liquide. Le silicagel, broyé et tamisé (50 μ <. < 2 mm), a été préalablement dégazé sous vide à 200°C pendant 48 heures. Le vide est obtenu par une pompe primaire à palettes éventuellement couplée à une pompe secondaire à diffusion d'huile.

L'hypobromite de lithium est préparé à froid selon la méthode de Ross et Martin (1970) en mélangeant 150 cc d'une solution de lithine (150 g de lithium hydroxyde, LiOH, dans 150 cc d'eau distillée) à 50 cc de brome. Il est important de maintenir la lithine à basse température pendant l'adjonction de brome qui doit se faire goutte à goutte. L'hypobromite de lithium ainsi préparé est très stable.

Cet oxydant est ensuite dégazé pendant 20 minutes (sous vide réalisé par une pompe à palettes) pour éviter la contamination par l'azote de l'air dissous et placé sous atmosphère d'hélium (Hélium U comprimé Air Liquide).

L'oxydant doit être utilisé en excès de façon à oxyder tout l'ammoniac : après réaction on doit toujours observer la couleur jaune caractéristique de l'hypobromite de lithium.

Entre chaque échantillon, le séchage et l'étuvage des différentes pièces et raccords sont indispensables pour éviter tout phénomène de mémoire dans la ligne dû à la présence d'eau. Des échantillons très enrichis (jusqu'à 5 % de ¹⁵N) ont été oxydés en routine sans qu'aucune contamination ne soit constatée sur les échantillons suivants, en abondance naturelle.

C - MESURES AU SPECTROMETRE DE MASSE

Dans les expérimentations faisant intervenir un marquage artificiel en ^{15}N , on utilise des spectromètres de masse à simple ou double collection et simple introduction (Guiraud et Buscarlet, 1975 ; Guiraud et Fardeau, 1980).

Pour le traçage isotopique naturel, il s'agit de mesurer de très petites variations de l'abondance naturelle (au maximum de $\pm 0,018$ atome ^{15}N autour de la valeur de l'azote atmosphérique). Pour cela, on procède à des mesures relatives de composition isotopique en comparant l'échantillon à un étalon dont la composition isotopique doit être absolument constante. On est donc conduit à utiliser les spectromètres de masse de type Nier à double collection et double introduction en flux visqueux (Mc KINNEY et al., 1950). Le spectromètre utilisé pour les mesures présentées dans ce mémoire est un VG Micromass type 602 D. Cette introduction en flux visqueux qui minimise le fractionnement isotopique à l'entrée de la cellule d'analyse du spectromètre, a l'inconvénient d'imposer des échantillons relativement importants (1 mg d'azote environ sont nécessaires) mais permet donc des mesures relatives très précises.

L'étalon qui fait figure actuellement d'étalon international, est l'azote atmosphérique. Nous avons qu'il répond aux exigences requises à savoir une bonne homogénéité et une bonne stabilité du point de vue de sa composition isotopique, ce que l'on pouvait prévoir a priori de par la taille du réservoir d'azote atmosphérique et de son incessant brassage par les vents.

On a vu que la composition isotopique d'un échantillon était définie par la grandeur relative $\delta : \delta^{15}\text{N}$. Ce δ est calculé sur quatre couples de mesures standard-échantillon.

Malgré les précautions prises au cours des différentes étapes de préparation, il arrive qu'un échantillon soit pollué par de l'azote atmosphérique. On peut essayer de résoudre ce problème par le traçage de la pollution par les masses 32 (oxygène) ou 40 (Argon). Ce dernier a été choisi car de l'oxygène est susceptible de se former en petite quantité par décomposition de l'hypobromite (Capindale et Tomlin, 1957) (risque limité par l'emploi de l'hypobromite de lithium).

En tenant compte de la proportion d'argon par rapport à l'azote de l'air, des potentiels d'ionisation de ces gaz dans la configuration du spectromètre de masse, on peut déduire l'azote de l'air polluant de la mesure de la masse 40 (hauteur du pic 40). Il est donc nécessaire de tester la présence d'argon à la masse 40 pour chaque échantillon. On procédera donc à la mesure des hauteurs des pics 40 (argon) et 28 et 29 (azote) ce qui permettra d'effectuer une correction.

ANNEXE 4

METHODES D'ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

I - MILIEUX DE CULTURE

BACTERIES HETEROTROPHES

1 - MILIEU LIQUIDE

-	KNO ₃	2	g
-	K ₂ HPO ₄	1	g
-	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,5	g
-	Succinate de sodium	5	g
-	Extrait de levure	0,2	g
-	Solution d'oligo-éléments	10	ml
-	CaCl ₂ sol à 1 %	1	ml
	H ₂ O distillée	1000	ml

Répartition à raison de 10 ml en tubes de 18 x 180 avec cloche de Durham.

2 - MILIEU SOLIDE

En vue d'une purification des souches, on utilise le même milieu gélosé à 15 g de gélose par litre de milieu.

BACTERIES AUTOTROPHES

- . **Thiobacillus denitrificans** (chimolithotrophe obligatoire)
(Taylor, Hoare and Hoare, 1971)

-	KNO ₃	2	g
-	NH ₄ Cl	1	g
-	KH ₂ PO ₄	2	g
-	MgSO ₄ - 7 H ₂ O	0,8	g
-	Solution d'oligo-éléments	1	mg

-NaHCO ₃	2	g	Les solutions de bicarbonate et de thiosulfate sont à stériliser sur membrane, elles sont ajoutées stérilement au milieu après autoclavage de celui-ci.
-Na ₂ S ₂ O ₃ - 5H ₂ O	5	g	
-H ₂ O distillée	1000	ml	
-pH final	6,8-7		

On procède à la culture en tubes ou en bouteilles bouchés complètement remplis de milieu incubés à 30°C. Puis on étale en aliquot de culture sur le même milieu gélosé incubé en anaérobiose sous atmosphère de CO₂ (culture en jarre).

- **Bactéries de l'hydrogène** (Chimiolithotrophes facultatifs)
(Alcaligènes eutrophus)
(Pseudomonas pseudoflava).

Ce milieu est constitué de 3 solutions préparées et stérilées séparément puis mélangées après refroidissement, pour éviter la précipitation du milieu.

Solution I

-KNO ₃	1	g
-Na ₂ HPO ₄ - 12 H ₂ O	9	g
-KH ₂ PO ₄	1,5	g
-NH ₄ Cl	1,0	g
-MgSO ₄ - 7H ₂ O	0,2	g
-Solution d'oligo-éléments	1	ml
-H ₂ O distillée	1 000	ml

Solution II

-Ca Cl ₂ -2H ₂ O	100	mg
-H ₂ O distillée	100	ml

Solution III

-Na HCO ₃	5	g
-H ₂ O distillée	100	ml

Les solutions sont mélangées dans les proportions suivantes :

- I: 1 000 ml
- II: 10 ml
- III: 10 ml

Pour le milieu gélosé, on ajoute 1,7 % de gélose.

Le milieu liquide ou gélosé est incubé dans des jarres anaérobies remplies d'un mélange de gaz 15 % CO₂ et 85 % H₂ (Gas Pack CO₂) à temp. ambiante.

II - DENOMBREMENTS

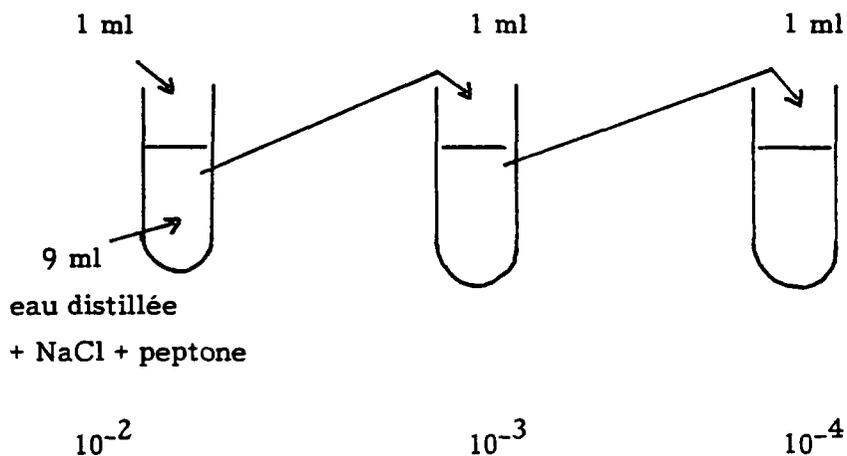
Numération directe par comptage sur culture.

III - CAROTTAGE

- Prélèvement au centre de la carotte de 10 g d'échantillon
- Broyage en mortier des 10 g.

1 - HETEROTROPHES

*Dans un erlen, on mélange 10 g de broyat avec 90 ml d'eau distillée contenant 0,1 % de Tween 80 (milieu dispersant) ; puis des dilutions sont effectuées : 1 ml de solution dans 9 ml d'eau distillée avec NaCl et peptone.



Puis étalement sur milieu nitraté gélosé.

* 1 g \surd d'échantillon broyé dans des petits erlens à vis (\surd 50 ml) remplis de bouillon nitraté ou en tubes à vis.

2 - AUTOTROPHES

En tubes à vis, faire des broyats d'échantillon, puis faire des ensemencements directs à partir du milieu liquide obtenu.

ANNEXE 5

METHODES ANALYTIQUES UTILISEES

NH_4^+	: colorimétrie
NO_2^-	: colorimétrie
NO_3^-	: colorimétrie au salicylate de sodium
SO_4^{2-}	: méthode par néphélométrie
Cl^-	: méthode potentiométrique
Fe_t	: absorption atomique
Mn^{2+}	: absorption atomique
C organique total	: au C.H.N
O_2 dissous	: oxymètre de terrain
pH	: pH mètre millivoltmètre
Eh	: pH mètre millivoltmètre
Conductivité	: conductimètre de terrain avec compensation de température.

réalisation
service
reprographie
du BRGM

