



**HAL**  
open science

# Faisabilité d'un pilote de dénitrification in situ dans un aquifère karstifié

Marion Chatelier

► **To cite this version:**

Marion Chatelier. Faisabilité d'un pilote de dénitrification in situ dans un aquifère karstifié. Hydrologie. Université de Poitiers, 2010. Français. NNT : . tel-00537371

**HAL Id: tel-00537371**

**<https://theses.hal.science/tel-00537371>**

Submitted on 18 Nov 2010

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

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

# THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)  
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac  
Secteur de Recherche : Terres Solides et Enveloppe Superficielle

Présentée par :

Marion CHATELIER

Pour l'obtention du grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

\*\*\*\*\*

## Faisabilité d'un pilote de dénitrification *in situ* dans un aquifère karstifié

\*\*\*\*\*

Directeur de Thèse : Frederick DELAY  
Co-directeur de Thèse : Gilles POREL

\*\*\*\*\*

Soutenue le 8 octobre 2010  
devant la Commission d'Examen

\*\*\*\*\*

### JURY

- MM. F. Lehmann Maître de Conférences, Université de Strasbourg, Rapporteur
- J. Molénat, Chargé de Recherche, INRA, SupAgro Montpellier, Rapporteur
- T. Bariac, Directeur de Recherche, CNRS, Université Paris XI-INRA, Examineur
- O. Bour, Professeur, Université de Rennes, Examineur
- J. De Laat, Professeur, Université de Poitiers, Invité
- F. Delay, Professeur, Université de Poitiers, Directeur de Thèse
- G. Porel, Maître de Conférences, Université de Poitiers, Co-directeur de Thèse

## REMERCIEMENTS

*Feeling good, la chanson de Nina Simone raisonne enfin ! Un challenge se termine pour que d'autres commencent ! Ces quelques lignes s'écrivent post-soutenance, ce qui devrait me permettre de faire mon Mea Culpa auprès des personnes que j'ai oubliées dans ce moment un peu spécial. J'espère cette fois-ci ne pas faire trop d'impairs ! Au cas où, sachez que je suis très reconnaissante envers l'ensemble des personnes ayant gravité autour de ce travail, je garde le souvenir que toutes m'ont apportée, à un moment ou un autre, un élément clé de raisonnement. J'inclus dans ces personnes, les membres de mon jury de thèse, dont les remarques-questions et la gentillesse ont contribué à faire de cette soutenance un moment à la fois riche d'enseignements et détendu.*

*Gilles, Fred, merci de m'avoir fait confiance ! Ce projet n'aurait jamais vu de telles réalisations si vous n'aviez pas été là pour me donner votre soutien, tant moral, qu'intellectuel et bien sûr... financier. Je vous suis extrêmement reconnaissante de la manière dont vous m'avez accompagnée ces derniers mois. Je le répète, mais je crois que peu de directeurs de thèse auraient eu votre patience...*

*Denis la Malice, Gaston Lagaffe, Charlène, Morgane, Anne, Jacques... que dire... pas de manip sans cette équipe ! Merci de votre disponibilité, de l'investissement que vous avez mis dans ce travail et surtout merci de m'avoir supportée. Charlène, après avoir affronté les affres de l'expérimental je ne doute pas que tu sauras transposer et valoriser cela dans la suite de ta carrière professionnelle. N'oublies pas de leur dire à quel point tu es capable de t'adapter et de t'investir ! Pour certains c'est terminé, pour d'autres ça continue, pas de bol les deux compères de terrain !*

*Bertrand, Béatrice et J. De Laat du LCEE et de la Plateforme Eaux, les oubliés de la soutenance, et pourtant ! Le pilote n'aurait jamais vu le jour sans votre appui, vos conseils et la mise à disposition des équipements du labo. Encore désolée de cette maladresse le jour J. Un peu dans la même mouvance, un merci général à l'équipe microbiologie et à son directeur J. Frère qui m'ont autorisé à utiliser l'autoclave et qui, bien souvent, se sont occupés de tout pour passer mes solutions (n'es-ce pas Marie Claude...).*

*Mes remerciements vont aussi à toute l'équipe de chez IMR qui s'est décarcassée pour me fournir un container de luxe avec parquet, s'il vous plaît ! Un grand merci à Hervé Guellec et François Charrier toujours sur le qui vive pour répondre à mes questions et réaliser quelques modifs d'appoint.*

*JarJar, Jungle George et Fabrice, si vous saviez comme vous avez manqué à Bambi ces deux dernières années... rien ne fut plus pareil sans une petite partie d'Unreal Tournament entre 12 et 14h, une partie de*

*poker-taupette, un killer ou encore un bon repas au Deffend accompagné de blagues douteuses... Heureusement qu'Anne et Fabien ont su rester jusqu'au bout (et me filer un sacré coup de main sur les dernières semaines) !*

*Je n'oublie pas toute l'équipe d'ERM, dont j'ai fait inopinément partie pendant quelques mois ! C'est toujours un plaisir de prendre un thé et de se croiser dans les couloirs pour échanger quelques blagounettes, un morceau de Kinder ou une tirade enflammée sur la politique ! Un merci tout spécial à Jean-Claude, Anouk et Damien pour les discussions des derniers mois.*

*Enfin, un immense remerciement à mes parents et ma famille rétaise qui m'ont tant apporté pendant ces 4 années. A vous comme à tous ceux qui se sont déplacés le jour de la soutenance, j'ai été extrêmement heureuse que vous soyez présents. Mam, tout le monde parle encore de tes cakes !*

*A toi Gwen qui reste présent, solide et confiant. Et enfin à toi, ma toute petite, ma Maïann qui m'apporte tant de joie depuis maintenant presque 2 ans...*

*Hé oui, mon grand père, nous sommes maintenant 3 à en être ...*

## TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>1 DENITRIFICATION : DEFINITION, OCCURRENCE NATURELLE ET PROVOQUEE, APPROCHE METHODOLOGIQUE A DES FINS DE MODELISATION.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1 Mécanismes de dénitrification .....</b>	<b>17</b>
1.1.1 Dénitrification biologique.....	17
1.1.1.1 La dénitrification biologique dissimilatrice ou dénitrification s.s.....	17
1.1.1.2 La dénitrification assimilatrice.....	19
1.1.1.3 La nitrammonification ou réduction dissimilatrice des nitrates en ammonium .....	20
1.1.2 Dénitrification chimique.....	20
1.1.3 Synthèse et mécanisme d'intérêt .....	21
<b>1.2 Les procédés de dénitrification provoquée <i>in situ</i> : principe, exemples .....</b>	<b>21</b>
1.2.1 Principe : le mimétisme forcé d'un processus naturel d'atténuation .....	21
1.2.2 Exemples : dispositifs pilotes de dénitrification provoquée <i>in situ</i> , contexte de fonctionnement.....	23
1.2.2.1 Dispositifs pilotes .....	23
1.2.2.2 Caractéristiques de fonctionnement .....	25
1.2.2.3 Contexte d'application .....	27
<b>1.3 Modélisation de la dénitrification : échelle, facteurs d'influence et méthodologie de caractérisation</b>	<b>29</b>
1.3.1 Approche macroscopique de la réaction de dénitrification.....	29
1.3.2 Facteurs influençant la cinétique macroscopique de dénitrification .....	29
1.3.2.1 Propriétés microbiologiques, morphologiques et structurales du biofilm.....	29
1.3.2.2 Hydrodynamique du système, i.e. vitesses d'écoulement et flux massiques .....	32
1.3.3 Méthodologies d'acquisition des cinétiques de dénitrification.....	33
1.3.3.1 Batch ou colonne : avantages et limites des méthodes.....	33
1.3.3.2 Modèles macroscopiques de transport réactif .....	35
<b>2 APPROCHE HYDROLOGIQUE DU POTENTIEL DU SEH VIS-A-VIS DE LA REALISATION D'UN PILOTE DE DENITRIFICATION <i>IN SITU</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>2.1 Contexte d'étude .....</b>	<b>39</b>
2.1.1 Présentation du SEH.....	39
2.1.2 Contexte géologique régional et local .....	40
2.1.2.1 Formations sédimentaires .....	40

2.1.2.2	Singularités lithochimiques.....	42
2.1.2.3	Fracturation et karstification .....	43
2.1.3	Contexte hydrogéologique.....	45
2.1.3.1	Hydrogéologie générale .....	45
2.1.3.2	Structure des écoulements.....	46
2.1.3.3	Grandeurs hydrodynamiques caractéristiques.....	47
<b>2.2</b>	<b>Complément d'information 1 : connexions préférentielles et écoulements verticaux.....</b>	<b>49</b>
2.2.1	Méthodologie.....	50
2.2.1.1	Echantillonnage .....	50
2.2.1.2	Interprétation des profils de température .....	51
2.2.2	Synthèse des résultats .....	56
2.2.3	Conclusion.....	58
<b>2.3</b>	<b>Complément d'information 2 : Comportements hydrodispersifs.....</b>	<b>61</b>
2.3.1	Méthodologie des essais de traçage .....	61
2.3.1.1	Conditions expérimentales.....	61
2.3.1.2	Critères de comparaison des courbes de restitution .....	63
2.3.2	Résultats des essais de traçage.....	66
2.3.3	Discussion-conclusion .....	68
<b>2.4</b>	<b>Complément d'information 3 : Dynamique des nitrates au droit du SEH .....</b>	<b>71</b>
2.4.1	Méthodologie.....	72
2.4.1.1	Prélèvements.....	72
2.4.1.2	Analyses.....	74
2.4.2	Résultats et discussion .....	75
2.4.2.1	Ségrégation en provinces hydrochimiques.....	75
2.4.2.2	Pôle NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : Dilution vs. dénitrification .....	80
2.4.2.3	Influence couplée de l'hydrodynamique locale et des pressions anthropiques .....	82
2.4.2.4	Complément d'information : les rapports isotopiques δ <sup>15</sup> N.....	83
2.4.3	Conclusion.....	85
<b>2.5</b>	<b>Complément d'information 4 : Populations bactériennes dénitrifiantes autochtones.....</b>	<b>87</b>
2.5.1	Essais en batch : méthodologie.....	88
2.5.2	Résultats .....	89
2.5.3	Discussion-conclusion .....	92
<b>2.6</b>	<b>Conclusions &amp; orientations données aux travaux .....</b>	<b>95</b>
<b>3</b>	<b>ETUDE PREALABLE DU PROCESSUS DE DENITRIFICATION SUR UN PILOTE EX SITU.....</b>	<b>97</b>

<b>3.1</b>	<b>Le pilote <i>ex situ</i>.....</b>	<b>99</b>
3.1.1	Dispositif expérimental.....	99
3.1.1.1	Principe général de fonctionnement.....	99
3.1.1.2	Equipement des unités .....	100
3.1.1.3	Matériau de garnissage .....	107
3.1.2	Caractéristiques hydrologiques et biologiques initiales.....	107
3.1.2.1	Propriétés hydrodynamiques et hydrodispersives du milieu non ensemencé.....	107
3.1.2.2	Caractéristiques physico-chimiques de l'eau d'alimentation.....	111
3.1.2.3	Ensemencement .....	112
3.1.3	Méthodologie générale des essais de dénitrification.....	113
<b>3.2</b>	<b>Phase 1, mise en régime et stabilisation : une première évaluation de l'intensité du processus de dénitrification et de sa traduction hydrodynamique.....</b>	<b>115</b>
3.2.1	Méthodologie des essais continus.....	115
3.2.1.1	Débits d'alimentation et gamme de vitesses testée .....	115
3.2.1.2	Cycles d'injection .....	116
3.2.1.3	Solutions injectées : préparation, conservation et approvisionnement.....	116
3.2.1.4	Ratios C/N, P/N et concentrations en nitrate .....	116
3.2.1.5	Prélèvements et analyses.....	117
3.2.2	Conditions d'expérimentation .....	118
3.2.3	Propriétés hydrodynamiques des colonnes ensemencées en bactéries.....	119
3.2.3.1	La conductivité hydraulique témoin du développement du biofilm.....	119
3.2.3.2	Intensité de la réduction de conductivité hydraulique et variation de l'intensité du développement du biofilm.....	122
3.2.3.3	Distribution hétérogène du biofilm .....	125
3.2.3.4	Conclusion intermédiaire .....	125
3.2.4	Processus et performances de dénitrification.....	126
3.2.4.1	Résultats.....	126
3.2.4.2	Discussion.....	131
3.2.4.3	Conclusion intermédiaire .....	136
3.2.5	Investigations supplémentaires nécessaires dans la perspective d'une application <i>in situ</i> .....	138
3.2.5.1	Améliorations des performances dénitrifiantes.....	138
3.2.5.2	Prise en compte des modifications physico-chimiques de la nappe et de l'encaissant .....	139
3.2.6	Conclusion.....	140
<b>3.3</b>	<b>Phase 2, essais de traçage : expression des propriétés hétérogènes du milieu colonisé et transcription cinétique de la réactivité du biofilm dénitrifiant.....</b>	<b>143</b>
3.3.1	Méthodologie.....	143
3.3.1.1	Méthodologie des essais de traçage .....	143
3.3.1.2	Méthodologie de modélisation.....	146
3.3.2	Résultats et discussion.....	169

3.3.2.1	Préambule : étude de sensibilité.....	169
3.3.2.2	Les paramètres de transport simulés et leurs implications dans la résolution du problème réactif 177	
3.3.2.3	Cinétiques de dénitrification .....	185
3.3.3	Conclusion.....	195
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONS &amp; PERSPECTIVES .....</b>	<b>199</b>
<b>4.1</b>	<b>Conclusions et implications en vue de la réalisation d'un pilote de dénitrification <i>in situ</i> en contexte fracturé .....</b>	<b>199</b>
4.1.1	Connectivité des puits et des structures d'écoulement.....	199
4.1.2	Caractéristiques hydrochimiques et potentiel naturel dénitrifiant de l'aquifère .....	200
4.1.3	Cinétiques de dénitrification en contexte dynamique.....	201
<b>4.2</b>	<b>Perspectives .....</b>	<b>204</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>209</b>
	<b>ANNEXES .....</b>	<b>225</b>
	<i>Annexe 1 : Faciès sédimentaires rencontrés au droit du SEH d'après Gaumet et al. (2005). Logs séquentiel temps établis sur les carottés C1 et C2. ....</i>	<i>227</i>
	<i>Annexe 2 : Associated fluid temperature and velocity loggings for flow structure characterization in a fractured karstic aquifer. Publication soumise à Journal of Hydrology.....</i>	<i>231</i>
	<i>Annexe 3 : Campagnes d'hydrochimie, puits analysés et résultats .....</i>	<i>261</i>
	<i>Annexe 4 : Test de Mann Whitney .....</i>	<i>267</i>
	<i>Annexe 5 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage passif à la fluorescéine en présence du biofilm .....</i>	<i>269</i>
	<i>Annexe 6 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage réactif (TR) aux nitrates en présence du biofilm .....</i>	<i>273</i>
	<i>Annexe 7 : Schéma de discrétisation des différents modèles.....</i>	<i>277</i>
	<i>Annexe 8 : Algorithme de Thomas .....</i>	<i>285</i>
	<i>Annexe 9 : Cinétiques d'ordre 0 .....</i>	<i>287</i>



## Liste des Figures

Figure 1 : Séquence de réduction enzymatique lors de la dénitrification.....	18
Figure 2: Différentes voies de réduction des nitrates. ....	21
Figure 3 : Dispositif en doublet de puits d'après Mercado et al.(1988).....	24
Figure 4 : Dispositif Daisy d'après Mercado et al.(1988).....	24
Figure 5 : Aspect multi-échelle d'une réaction de biodégradation .....	29
Figure 6 : Formation d'un biofilm (Boutaleb, 2007; Marconnet, 2007) .....	30
Figure 7 : Effet des forces de cisaillement et de la charge en substrat sur la morphologie du biofilm d'après de Beer et al. (1996).....	33
Figure 8: Dispositif en "five spots" des forages du SEH.....	40
Figure 9 : Seuil du Poitou d'après Gabilly et Cariou (1997) .....	41
Figure 10 : Coupe géologique succincte au droit du SEH.....	42
Figure 11 : Pourcentages massiques en fer, soufre et carbone organique analysés sur des échantillons du carotté oblique C4 (profondeurs verticales recalées pour un angle de forage égal à 30°).....	42
Figure 12 : Argiles de remplissage riches en fer, soufre et carbone organique et présentes dans les fractures/chenaux.....	43
Figure 13: Bloc 3D de porosités calculées à partir des pseudo-vitesses sismiques d'après Mari et al. (2009) ....	44
Figure 14: Principales structures d'écoulement identifiées sur le SEH par diaggraphie de puits et flowmétrie d'après Audouin (2007).....	45
Figure 15: Carte piézométrique établie en mai 2003 d'après Bernard (2005). Le comportement divergent est établi pour l'ensemble des campagnes réalisées entre 2002 et 2005 .....	46
Figure 16: Carte des diffusivités obtenues par l'interprétation de chocs hydrauliques réalisés sur le SEH d'après Audouin (2007). ....	47
Figure 17 : Flowmétrie et diaggraphie optique du puits M7 d'après Audouin (2007). Ce forage intercepte un plan karstique unique à 87-89 m de profondeur. ....	51
Figure 18 : Cas école de modifications d'un profil de température par des écoulements verticaux entre zones productrices. a) cas d'une anomalie négative, b) cas d'une anomalie positive.....	52
Figure 19 : Gradient géothermique mesuré au droit du SEH .....	53
Figure 20 : Profils de température mesurés au forage MP7 en ambient (A), pompage au puits (PMW) et pompage déporté en M7 (PDW). ....	54
Figure 21 : Profils de température mesurés sur le forage M2 en ambient (A), pompage au puits (PMW) et pompage déporté en M7 (PDW).....	56
Figure 22 : Localisation des puits avec anomalies de température en écoulement ambient (A). ....	57
Figure 23 : Inventaires des écoulements inter-plans toutes conditions hydrodynamiques confondues (A, PMW, PDW).....	58
Figure 24 : Doublets retenus pour les essais de traçage .....	62
Figure 25 : Courbes de restitution obtenues et paramètres généraux associés aux essais de traçage. ....	67

Figure 26: Puits échantillonnés lors de la campagne P2008. Les principales structures conductrices ainsi que le sens des flux sont établis à partir des profils T-Flow (§ 2.2). Conditions hydrodynamiques : (A) ambient, (PMW) pompage au puits.....	73
Figure 27 : Analyses hydrochimiques des eaux des aquifères supra-toarcien et infra-toarcien reportées dans un diagramme de Piper.....	75
Figure 28 : Provinces hydrochimiques supra-toarciennes P1, P2, P3 et P4 .....	77
Figure 29: Ratios $\text{Ca}^{2+}/\text{HCO}_3^-$ et $\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$ vs. $\text{HCO}_3^-$ pour les groupes G1, G2, G3 et G4 .....	80
Figure 30 : Ratios caractéristiques des différents groupes d'eaux ségrégués à l'échelle du SEH. a) $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$ vs. $\text{Cl}^-$ , b) $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ vs. $\text{Cl}^-$ .....	82
Figure 31: Zone potentielle de recharge de la nappe supra-toarcienne à proximité du SEH.....	83
Figure 32: Evolution des concentrations en nitrates et nitrites dans les batchs amendés en $\text{NO}_3^-/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ .....	90
Figure 33 : Evolution des concentrations en nitrates, nitrites et sulfates dans les batchs amendés en $\text{NO}_3^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ .....	91
Figure 34 : Schéma général de fonctionnement d'une unité de dénitrification ex situ .....	100
Figure 35 : Equipement des unités de dénitrification.....	105
Figure 36 : Méthodologie des essais de dénitrification répétée à chaque débit.....	113
Figure 37 : Comparaison entre la gamme de vitesses testée sur le pilote ex situ et les vitesses fortes ( $u_{pic}$ ) rencontrées sur site lors des essais de traçage. ....	115
Figure 38 : Relation entre le carbone organique dissous (COD) résiduel en sortie de colonne et le rendement de dénitrification .....	118
Figure 39 : Décroissance de la conductivité hydraulique $K_{1-4}$ lors des essais de dénitrification: exemple de l'essai D.....	120
Figure 40 : Différents états de colonisation du milieu par le biofilm. a) milieu initial, absence de biofilm, b) milieuensemencé, essai E à 30,1 L/h, c) milieuensemencé, essai F à 40,8 L/h .....	122
Figure 41 : Décroissance de la conductivité hydraulique $K_{1-4}$ lorsque le débit augmente.....	123
Figure 42 : Augmentation des flux consommés en nitrates $J_{\text{CONSO}_N}$ et éthanol $J_{\text{CONSO}_C}$ avec l'augmentation du débit.....	124
Figure 43 : Preuves de dénitrification : Baisse des nitrates (a) , du COD (a) et du potentiel d'oxydo-réduction Eh (c), production de nitrites (a), augmentation du pH (b). Exemple de l'essai D. ....	127
Figure 44 : Régimes de dénitrification atteints au cours des différents essais (■) rendement de dénitrification RDT, (○) concentration en nitrites. ....	129
Figure 45 : Ratios molaires de consommation $C_{\text{consomme}}/\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)_{\text{réduit}}$ . Les essais B et F indiquent des ratios de consommation supérieurs aux autres essais. ....	131
Figure 46 : Rendement de dénitrification RDT (■) et développement bactérien perçu au travers de la conductivité hydraulique $K_{1-4}$ . (□). Exemple de l'essai G. ....	132
Figure 47 : Profils de concentrations en a) nitrates, b) nitrites et c) carbone organique dissous au 31 <sup>ème</sup> jour de l'essai G. ....	133
Figure 48 : Baisse du rendement de dénitrification (■) et surdéveloppement bactérien perçu au travers de la conductivité hydraulique $K_{14}$ (□).Exemple de l'essai B. ....	134

Figure 49 : Profils de concentrations en a) nitrates, b) nitrites et c) carbone organique dissous au temps au 30 <sup>ème</sup> jour de l'essai D. ....	135
Figure 50 : Décroissance de la quantité d'azote dans le système avec l'augmentation du temps caractéristique $t_{0,3}$ . ....	136
Figure 51 : Conditionnement des rendements de dénitrification RDT par les états de développement du biofilm et d'équilibre du consortium bactérien.....	137
Figure 52 : Courbes de restitution obtenues suite à l'injection instantanée de deux solutions de densités différentes (fluorescéine : $d=1$ , $\theta=36\%$ , $\alpha=1,9$ cm ; $\text{NaNO}_3$ : $d=1,06$ , $\theta=43\%$ , $\alpha=1,3$ cm). ....	145
Figure 53 : Comparaison entre la courbe de restitution (TP) obtenue à 5,4 L/h en présence du biofilm et la courbe référence calculée à partir des paramètres initiaux ( $\theta_i, \alpha_i$ ). ....	146
Figure 54 : Chenalisation du milieu en présence du biofilm (essai à 40 L.h <sup>-1</sup> ) .....	148
Figure 55 : Modèle M1 simple milieu. Le milieu considère un ensemble réactif poreux/biofilm sans séparation de phase.....	148
Figure 56 : Modèle M2. Milieu poreux non réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne $C_{Np}$ et biofilm immobile réactif de concentration moyenne $C_{Nb}$ . Le transfert de masse entre les deux milieux est décrit par une hypothèse NEA (Non Equilibrium Assumption).....	150
Figure 57 : Modèle M3. Milieu poreux non réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne $C_{Np}$ et biofilm réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne $C_{Nb}$ . Le transfert de masse entre les deux milieux est décrit 1) soit par une hypothèse LEA (Local Equilibrium Assumption), 2) soit par une hypothèse NEA (Non Equilibrium Assumption).....	152
Figure 58 : Comportements réactifs mesurés lors des essais de traçage TR, exemple de calage avec une cinétique d'ordre 1 .....	157
Figure 59 : Constance de la conductivité hydraulique $K_{1-4}$ au cours des essais de traçage TR. ....	158
Figure 60 : Démarche adoptée pour la résolution du problème direct, exemple dans le cas d'une cinétique d'ordre 1.....	161
Figure 61 : Résolution du transport réactif par une approche séquentielle non itérative (SNIA).....	163
Figure 62 : Méthode de calcul des coefficients de sensibilité a) en contexte non réactif $X_K$ et b) en contexte réactif $X_{RK}$ .....	166
Figure 63 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M1.....	170
Figure 64 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M2.....	172
Figure 65 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3_LEA. ....	173
Figure 66 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3_NEA_0,9.....	174
Figure 67 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3_NEA_0,7.....	175
Figure 68 : Exemples de simulation obtenue avec le modèle M1. a) essai C, b) essai G.....	177
Figure 69 : Relation non linéaire entre la vitesse d'écoulement et la dispersion pour différents essais .....	179
Figure 70 : Etalement des temps dans le cas d'anomalies de dispersion ( $Pe = 2,6$ ). Exemple de l'essai G pour une injection instantanée simulée.....	180
Figure 71 : Evolution du ratio entre la porosité apparente $\theta_1$ obtenue avec le modèle M1 et la porosité initiale $\theta_i$ en fonction du débit d'alimentation. ....	181
Figure 72 : Nombres de Péclet obtenus lors du calage des courbes TP à l'aide du modèle M3 .....	184

Figure 73 : Exemple du modèle M1 : simulations des courbes TR à l'aide d'une cinétique d'ordre 1 ou d'une cinétique d'ordre 0 pour a) l'essai C et b) l'essai G. ....	186
Figure 74 : Evolutions inter- modèles des valeurs de cinétique. (( $\lambda$ )M1<( $\lambda$ )M3_LEA<( $\lambda$ )M3_NEA).....	187
Figure 75 : Variabilité des valeurs de cinétiques intra-modèle vue au travers du Damkolher1 en fonction du temps par convection $t_1$ . ....	191

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples de rendements cellulaires $Y_N$ , pour quelques sources d'énergie.....	20
Tableau 2 : Exemples de dispositifs de dénitrification in situ .....	28
Tableau 3 : Débits, distances et profondeurs d'injection .....	62
Tableau 4 : Récapitulatif des campagnes d'hydrochimie .....	71
Tableau 5 : Eléments analysés sur les échantillons prélevés et techniques d'analyse .....	74
Tableau 6: Caractéristiques chimiques des groupes d'eaux supra-toarciennes échantillonnées sur le SEH.....	76
Tableau 7 : Résultats hydrochimiques P2008. ....	78
Tableau 8: Rapports isotopiques mesurés sur les échantillons de la campagne P2008.....	84
Tableau 9 : Constitution des batchs. Ecart-types entre parenthèses. ....	89
Tableau 10 : Plages de mesures et précisions des capteurs implantés en entrée et sortie de colonne .....	101
Tableau 11: Nombres de Reynolds calculés sur la gamme de débit testée.....	108
Tableau 12 : Porosité cinématique $\theta_i$ , dispersivité $\alpha_i$ et Péclet $Pe_i$ moyens initiaux calculés sur 23 couples ( $\theta, \alpha$ ), soit 5 à 6 débits testés par colonne. ....	110
Tableau 13 : Propriétés physico-chimiques moyennes de l'eau d'alimentation (forage MP7). ....	111
Tableau 14 : Stabilité des conditions physico-chimiques lors des essais de dénitrification.....	119
Tableau 15 : Valeurs de conductivités hydrauliques $K_{1-4}$ calculées et ratio des conductivités hydrauliques calculées sur la partie haute ( $K_{3-4}$ ) et la partie basse ( $K_{1-3}$ ) de la colonne en fin de phase 1 (milieu ensemencé).....	120
Tableau 16 : Conductivités hydrauliques moyennes calculées en conditions dénitrifiante (D) et non dénitrifiantes (ND) pour des colonnes ensemencées.....	121
Tableau 17 : Rendements de dénitrification moyens en fin de phase 1. Les rendements s'échelonnent de 42 à 100%. ....	128
Tableau 18 : Concentrations minimum et maximum en nitrites accompagnées de la fréquence de dépassement du seuil de potabilité de $0,1 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$ sur la durée totale de chaque essai.. ....	130
Tableau 19 : Concentrations d'injection en nitrates pour les essais de traçage réactif TR.....	143
Tableau 20: Rapport du temps caractéristique $t_{0,3}$ en fin d'essai de dénitrification sur le temps caractéristique $tr_{0,3}$ du milieu initial. ....	147
Tableau 21 : Evolution du taux de dénitrification $R_{\text{NO}_3}$ et variation de la température au cours des essais TR..	158
Tableau 22 : Concentrations en nitrates mesurées en sortie de colonne quelques minutes avant le début du traçage TR (période de carence).....	160
Tableau 23: Schémas de discrétisation temporels et spatiaux .....	163
Tableau 24 : Paramètres d'entrée utilisés pour les études de sensibilités .....	169
Tableau 25 : Modèle M1 : Paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP. ....	178
Tableau 26 : Modèle M2, paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP. ....	182
Tableau 27 : Modèle M3, paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP avec un échange interphase LEA ou NEA pour différents rapports de flux. ....	183

Tableau 28 : Variations relatives calculées sur les masses restituées simulées et les masses restituées expérimentales dans le cas de l'utilisation d'une cinétique d'ordre 1 et dans le cas d'une cinétique d'ordre 0.....	186
Tableau 29 : Essai TR : Cinétiques d'ordre 1 simulées avec les différents modèles.....	188
Tableau 30 : Temps par convection et étalement des temps ( $t_p$ , $\sigma_{tp}$ pour le milieu poreux, $t_b$ , $\sigma_{tb}$ pour le milieu biofilm), temps d'échange interphase $t_{interphase}$ et rapport de dispersion entre celle simulée pour le milieu biofilm et celle simulée avec le modèle M1. ....	189
Tableau 31 : Valeur moyenne de cinétique et coefficient de variation CV calculés par modèle. ....	190
Tableau 32: Température moyenne de l'eau lors des essais TR. ....	192
Tableau 33 : Diminution de la valeur moyenne de cinétique $\langle \lambda \rangle$ , de l'écart type et du coefficient de variation CV après élimination des essais A et D.....	193
Tableau 34 : Synthèse des configurations ayant permis de résoudre à la fois le problème de transport ET le problème de réaction. ....	197

## Introduction

Dans la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, le monde agricole français subit de profondes mutations passant d'une agriculture paysanne à une agriculture productiviste. Ces changements s'inscrivent dans une révolution scientifique et technologique soutenue par un discours politique nouveau, à savoir que le progrès, c'est de produire des quantités. L'utilisation massive d'engrais azotés de synthèse devient alors la clé de l'augmentation des rendements. Si ces nouveaux modes de production conduisent la France à l'autosuffisance alimentaire, les dommages environnementaux collatéraux sont considérables. Entre autres conséquences, une dégradation importante de la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines est observée depuis 1970. Aujourd'hui, l'augmentation du coût des intrants azotés et la notion d'éco-conditionnalités des aides accordées aux agriculteurs œuvrent en faveur d'une fertilisation plus raisonnée. Cependant, le temps de transfert sol/nappe des nitrates est tel que l'augmentation de la teneur en nitrates dans les eaux souterraines se poursuivra très certainement sur plusieurs années.

En Poitou-Charentes, les eaux souterraines représentent 80 % des volumes produits pour l'alimentation en eau potable (AEP). Dans cette région, aujourd'hui classée à 80 % en Zones Vulnérables selon la directive nitrates (directive n° 91/676/CEE du 12 décembre 1991), la teneur en nitrates des eaux souterraines croît en moyenne de 1 à 2 mg/L/an depuis 30 ans. Ainsi 18 % des ouvrages captent une eau dont la concentration en nitrates dépasse la norme de potabilité de 50 mg/L et 56 % des ouvrages captent une eau dont la concentration est supérieure à 25 mg/L, valeur guide préconisée par l'OMS (données DDRASS, Poitou-Charentes, 2007). Des solutions curatives sont donc nécessaires pour assurer l'alimentation en eau potable des usagers.

Pour répondre aux exigences de qualité d'une eau potable ( $< 50 \text{ mgNO}_3/\text{L}$ ), les solutions curatives mises en place sont pour l'essentiel des stations de traitement *ex situ* ('pump-and-treat') faisant appel à un procédé physico-chimique (dénitratation sur résines échangeuses d'ions) ou biologique (dénitrification bactérienne). Ces solutions ont un coût important qui se répercute sur le budget de la collectivité et par conséquent sur la facture d'eau du contribuable (+ 2,5 F/m<sup>3</sup> soit 0,38 €/m<sup>3</sup> d'après une estimation réalisée par l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse en 1995). De plus, en raison des coûts d'investissement et d'entretien, les collectivités de petites et moyennes tailles n'y ont pas accès. Dans ce paysage, la possibilité de créer des unités de dénitrification biologique *in situ*, i.e. au sein même de l'aquifère, constitue une alternative économique prometteuse. Ce procédé profite du potentiel auto-épurateur ou provoqué du milieu naturel, i.e. de la présence et de l'activité d'un pool bactérien dénitrifiant autochtone. Il est constitué d'un ou plusieurs puits pour l'injection des substrats et/ou de l'effluent à traiter et d'un puits pour l'extraction de l'eau épurée. Si quelques dispositifs ont été testés (Chalupa, 1985; Braester and Martinell, 1988; Mercado et al., 1988; Hamon and Fustec,

1991), leur champ d'application se cantonnait jusqu'à présent à des aquifères sableux peu profonds, communément considérés comme des milieux poreux continus et naturellement bienensemencés en bactéries. Ces caractéristiques diffèrent des aquifères exploités pour l'AEP dans le département de la Vienne, aquifères correspondant à des formations calcaires fracturées et karstifiées. La mise en œuvre de dispositifs de traitement *in situ* nécessite alors de considérer différents points intimement liés au caractère hétérogène et profond des aquifères.

L'université de Poitiers dispose d'un Site Expérimental Hydrogéologique (SEH) situé au droit de l'aquifère calcaire fracturé/karstifié du Dogger (dit aussi aquifère supra-toarcien). Ce site compte une trentaine de forages exploitant l'épaisseur complète de l'aquifère (100 m). En s'appuyant sur les équipements du SEH, ce travail se place en amont de l'implantation d'un dispositif de dénitrification *in situ*. Il n'a pas vocation à fournir un procédé clé en main mais traite trois points déterminants de la conception et du dimensionnement d'un dispositif de traitement en contexte fracturé :

#### 1- Transport de soluté dans l'aquifère supra-toarcien.

Les aquifères fracturés/karstifiés se caractérisent par de forts contrastes de propriétés hydrauliques des différentes structures géologiques composant l'aquifère (matrice calcaire, fissures, fractures, chenaux karstiques). Ces contrastes génèrent des écoulements préférentiels, souvent rapides, dans les zones de moindre résistance hydraulique (fractures/chenaux karstiques par exemple) (Tsang and Tsang, 1989; Tsang and Neretnieks, 1998). A l'échelle d'un pilote de dénitrification, i.e. du mètre à la centaine de mètres, la densité de fracturation et l'extension des réseaux karstiques ne sont pas suffisantes pour que le milieu se comporte comme un continuum homogène (de Marsily et al., 2005). A cette échelle, l'hétérogénéité des propriétés hydrauliques s'exprime pleinement et engendre une variabilité importante de la géométrie des écoulements, des vitesses d'écoulement et incidemment des temps de séjour. Ces trois éléments contrôlent en retour les performances de l'unité de traitement en conditionnant les pertes de solutés injectés et les quantités de nitrates pouvant être dégradées. De manière générale, l'hydrodynamique du système est donc un élément déterminant du fonctionnement d'une unité de décontamination *in situ*. En termes pratiques, l'implantation d'un pilote et son fonctionnement nécessitent de s'assurer au préalable que l'injection et le transport de l'effluent/substrat sont contrôlés, en d'autres termes que le champ d'influence du dispositif est globalement connu et qu'il évite (limite au mieux) les fuites hors champ. Pour cette raison, une partie des expérimentations sur site (essais traceur) se focalise sur l'évaluation et la détermination de la connectivité entre puits et entre structures d'écoulement. En termes de performances épuratoires, la distribution des vitesses d'écoulement, en imposant la distribution des temps de séjour et en influençant l'implantation et le développement des bactéries, constitue un facteur clé régulant les



quantités dénitrifiées. En conséquence, le second objectif des essais traceur est de transposer les vitesses mesurées *in situ* sur un pilote de laboratoire.

## 2- Caractéristiques bio-physico-chimiques du SEH.

Dans l'expectative d'un pilote de dénitrification s'appuyant sur des bactéries autochtones, il est nécessaire de pouvoir juger au préalable du potentiel dénitrifiant de l'aquifère. Ce potentiel se traduit par la présence d'un pool bactérien dénitrifiant dont la diversité et l'activité naturelle sont conditionnées par les caractéristiques physico-chimiques du milieu (nutriments, température, pH, O<sub>2</sub>, composition chimique de la roche) (Ghiorse and Wilson, 1988; Chapelle, 2001). L'étude de la physico-chimie des eaux (et plus particulièrement de la dynamique des nitrates) renseigne d'une part sur les facteurs physico-chimiques susceptibles d'influencer le fonctionnement du pilote et d'autre part sur l'activité du pool bactérien dénitrifiant en évaluant l'occurrence d'un processus de dénitrification naturelle à l'échelle du site. Si la dénitrification naturelle est avérée, elle peut être un atout dans l'initiation du processus provoquée *in situ* et orienter ainsi l'implantation du pilote. L'absence de dénitrification naturelle ne signifiant pas forcément l'absence de bactéries dénitrifiantes, le prélèvement de bactéries permet d'autre part de s'assurer de leur présence et de tester des substrats simples qui pourraient être utilisés en dénitrification provoquée *in situ*. En conséquence, les investigations menées sur les eaux de l'aquifère supra-toarcien ont pour objectif de préciser les caractéristiques bio-physico-chimiques de l'aquifère afin d'évaluer les choix possibles d'implantation et de fonctionnement du pilote.

## 3- Cinétiques de dénitrification en conditions dynamiques

Le dimensionnement et l'évaluation préalable des performances d'un pilote de dénitrification *in situ* nécessite de disposer de valeurs de cinétique caractéristiques du processus biologique qui puissent être introduites dans des calculs prédictifs. Dans les aquifères, la densité bactérienne est plus importante à la surface de la matrice rocheuse que dans l'eau (Landreau et al., 1988; Hazen et al., 1991; Lehman et al., 2001). En présence d'un substrat adéquat, les bactéries croissent à la surface du support solide. Rittmann (1993) suppose que ce développement se fait préférentiellement sous forme de microcolonies éparses en milieu oligotrophe évoluant vers la formation d'un biofilm continu lorsque la charge en substrat augmente. Les caractéristiques structurales du biofilm conditionnent alors pour partie les taux de réaction (Bishop et al., 1995; Seker et al., 1995; Picioreanu et al., 1999b). Si ces caractéristiques dépendent des espèces bactériennes, elles sont aussi conditionnées par l'hydrodynamique du système (van Loosdrecht et al., 1995; Liu and Tay, 2002); hydrodynamique influencée en retour par le développement du biofilm (Taylor et al., 1990; Thullner et al., 2002; Arnon et al., 2005; Seifert and Engesgaard, 2007). De plus, les vitesses d'écoulement influencent

potentiellement le transfert de masse de la phase fluide aux bactéries (de Beer et al., 1996; Dykaar and Kitanidis, 1996). Ces effets de dynamique font que les vitesses de réaction obtenues en statique (batches) sont difficilement transposables au milieu naturel où l'eau circule. L'objectif premier est donc de définir des grandeurs cinétiques dans un contexte dynamique. Pour ce faire, un pilote *ex situ* a été créé sur lequel des essais de dénitrification en condition d'écoulement sont menés sur colonne. D'autre part, la dénitrification est un problème multi-échelle d'une réaction se déroulant au niveau de la bactérie ( $\mu\text{m}$ ) mais devant être intégrée d'un point de vue opérationnel à l'échelle métrique voir hectométrique. Les développements théoriques et mathématiques nécessaires au changement d'échelle entre local et darcéen font l'objet de recherches actuelles (Aspa et al., 20XX; Davit et al., 2009; Golfier et al., 2009; Orgogozo et al., 2010). Cependant, ces techniques d'upscaling supposent une connaissance approfondie ou des hypothèses fortes sur les hétérogénéités du milieu et du biofilm. De surcroît, les calculs se révèlent *a priori* impossibles pour des problèmes d'échelles métriques à pluri-décamétriques. En conséquence, le passage du  $\mu\text{m}$  à  $10^2$  m s'appuie ici sur une analyse à l'échelle intermédiaire, pour simplifier celle du pilote de laboratoire *ex situ*. La détermination de valeurs macroscopiques de cinétique de dénitrification est faite à partir de modèles homogénéisés couplant le transport et la dégradation biologique des nitrates. A cette échelle, la conduite d'essais à différentes vitesses d'écoulement cherche à estimer l'influence de l'hydrodynamique du système sur les cinétiques macroscopiques de dénitrification.

Le chapitre 1 de ce manuscrit présente les connaissances admises sur le processus de dénitrification, ainsi que les réalisations *in situ* de dispositifs de dénitrification provoquée. Il comprend aussi les facteurs susceptibles d'influencer les cinétiques macroscopiques de dénitrification et une présentation succincte des méthodologies qui permettent leur détermination. Le chapitre 2 est consacré au SEH. Il comprend une présentation des travaux antérieurs ainsi que les résultats d'investigations menées dans le cadre de ce travail sur la connectivité des puits et la connectivité des structures d'écoulement, la variabilité des réponses hydrodispersives à l'échelle de doublets de puits et les caractéristiques bio-physico-chimiques des eaux de l'aquifère supra-toarcien. Le chapitre 3 aborde les essais de dénitrification menés sur le pilote *ex situ*. Ce dernier chapitre est divisé en trois sections axées sur 1) une présentation du dispositif *ex situ*, 2) une approche descriptive des essais de dénitrification au regard des modifications hydrodynamiques du système et des performances dénitrifiantes, et 3) une discussion sur les valeurs des paramètres de transport et de cinétique obtenues à partir des modèles homogénéisés de transport réactif.

# 1 Dénitrification : définition, occurrence naturelle et provoquée, approche méthodologique à des fins de modélisation.

En raison des nombreux champs de recherche concernés par les nitrates et le processus de dénitrification (atténuation naturelle, traitement eau potable/eaux usées/eaux industrielles, transfert zone saturée/zone non saturée etc.), la littérature est extrêmement riche et variée. L'objectif ici n'est pas de fournir une revue exhaustive des travaux menés sur la problématique des nitrates et du processus de dénitrification. Ce chapitre pose simplement les bases et le contexte des travaux ultérieurs utiles à la problématique abordée. Pour ce faire, il s'attache d'abord à définir les mécanismes de dénitrification. Il traite ensuite du principe de fonctionnement d'un dispositif de dénitrification provoquée et s'appuie sur quelques exemples de réalisations. Enfin il aborde le thème de la modélisation de la dénitrification en s'appuyant sur les facteurs influençant la cinétique, les méthodes de caractérisation et l'approche générale de modélisation retenue. L'écriture explicite des cinétiques de dénitrification n'est pas traitée ici mais reportée au chapitre de modélisation pour le traitement des résultats obtenus (§ 3.3.1.2.2).

## 1.1 Mécanismes de dénitrification

### 1.1.1 Dénitrification biologique

#### 1.1.1.1 La dénitrification biologique dissimilatrice ou dénitrification *s.s*

La dénitrification biologique *sensu stricto* désigne les processus univoques stricts, qui entraînent la réduction dissimilatrice de l'ion nitrate  $\text{NO}_3^-$  sous une forme gazeuse,  $\text{N}_2\text{O}$  et/ou  $\text{N}_2$ , non susceptible d'être reprise localement dans le cycle biogéochimique de l'azote (Mariotti, 1986). La demi-équation d'oxydo-réduction s'écrit :



Il s'agit d'un processus respiratoire lors duquel certaines bactéries anaérobies facultatives (dites bactéries dénitrifiantes) utilisent les nitrates comme accepteur terminal d'électrons en lieu et place de l'oxygène. Destinée à fournir de l'énergie sous forme d'ATP (adénosine-tri-phosphate) pour l'activité cellulaire et la synthèse de nouvelles cellules, la dénitrification *s.s* prend généralement place en conditions anaérobies, i.e. lorsque la teneur en oxygène dissous n'est plus suffisante pour sustenter la respiration aérobie énergétiquement plus favorable (McCarthy, 1972; Payne, 1973). Mariotti (1986) relève cependant que la dénitrification peut débiter alors que les teneurs en oxygène dissous ne sont

pas nulles car l'énergie libre libérée par la dénitrification est très proche de celle de la respiration aérobie.

La dénitrification *s.s.* fait intervenir quatre réactions d'oxydo-réduction conduisant à la production d'espèces azotées intermédiaires. Schématisée sur la Figure 1, la réduction séquentielle des nitrates est catalysée par quatre enzymes (NaR, NiR, NOR, N<sub>2</sub>OR) répressibles par l'oxygène. Selon les auteurs, ces enzymes sont constitutives (enzymes synthétisées en permanence même en l'absence du substrat inducteur (Garcia, 1981; Tiedje, 1982)) ou non constitutives (enzymes synthétisées uniquement en présence d'une concentration minimum de l'espèce à réduire (Delwiche, 1959; Pichinoty and D'Orano, 1961; Pichinoty, 1969; Beppu, 1978)). Considéré comme un intermédiaire peu stable, l'oxyde nitrique NO est souvent négligé lors du suivi des produits de dénitrification (Betlach and Tiedje, 1981; Tiedje, 1982; Smith et al., 2004). Le détail des voies physiologiques et biochimiques par lesquelles s'opère la transformation d'une espèce azotée par transfert d'électrons n'est pas exposé ici mais reste disponible dans les revues de Payne (1973), Focht and Verstraete (1977) et Knowles (1982).

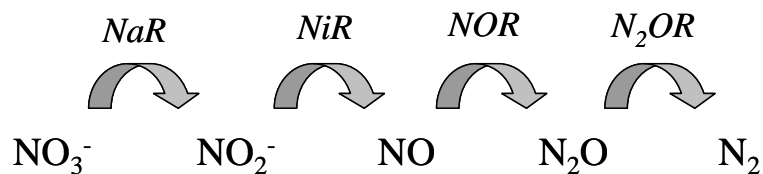
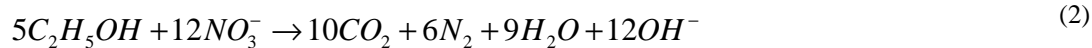


Figure 1 : Séquence de réduction enzymatique lors de la dénitrification. La réduction de l'ion nitrate  $\text{NO}_3^-$  en ion nitrite  $\text{NO}_2^-$  fait intervenir la nitrate réductase NaR, la réduction de l'ion nitrite  $\text{NO}_2^-$  en oxyde nitrique NO fait intervenir la nitrite réductase Nir, la réduction de l'oxyde nitrique NO en oxyde nitreux  $\text{N}_2\text{O}$  fait intervenir l'oxyde nitrique réductase NOR et la réduction de l'oxyde nitreux  $\text{N}_2\text{O}$  en azote gazeux  $\text{N}_2$  fait intervenir l'oxyde nitreux réductase N<sub>2</sub>OR.

La réaction complète d'oxydo-réduction nécessite un donneur d'électrons. La nature du donneur d'électrons définit deux mécanismes de dénitrification associés à des métabolismes bactériens différents :

#### 1- La dénitrification hétérotrophe,

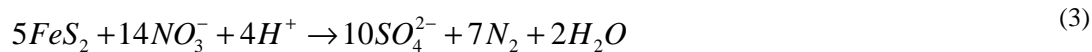
La dénitrification hétérotrophe est le fait de bactéries utilisant le carbone organique comme source d'énergie et de carbone cellulaire. Ces bactéries sont capables d'utiliser une large palette de source carbonée (alcool, sucres, acides organiques etc.). L'équation complète d'oxydo-réduction est donnée à titre d'exemple pour une réaction avec l'éthanol, source de carbone exogène communément employée en traitement de l'eau :



De nombreux genres bactériens participent à ce processus parmi lesquels *Pseudomonas*, *Alcaligenes* sont les plus fréquemment isolés (Gamble et al., 1977).

## 2- La dénitrification autotrophe,

La dénitrification autotrophe est le fait de bactéries utilisant une source de carbone minéral (dioxyde de carbone, bicarbonates, carbonates) pour la synthèse bactérienne et tirant leur énergie de l'oxydation d'un substrat inorganique tel que le soufre, l'hydrogène ou encore le fer ferreux. L'équation complète d'oxydo-réduction pour une réaction avec la pyrite  $FeS_2$ , minéral présent dans les formations calcaires régionales, peut alors s'écrire sous la forme générique :



Pour la dénitrification sur soufre, *Thiobacillus denitrificans* représente l'espèce la plus étudiée et dont l'existence dans les aquifère est démontrée (Kölle et al., 1985; Le Bideau, 1996; Schwientek et al., 2008). Cette souche est capable d'oxyder différents substrats tels que les ions thiosulfates, le soufre élémentaire ou comme vu ci-dessus la pyrite  $FeS_2$  (Baalsrud and Baalsrud, 1954; Baldensperger and Garcia, 1975; Trouvé, 1998). Les bactéries catalysant la réaction d'oxydation du fer ferreux sont à ce jour mal connues. Certaines ne seraient pas chimiolithoautotrophes strictes au sens qu'elles peuvent oxyder le fer et réduire les nitrates pour la production d'énergie tout en utilisant une source de carbone organique pour se développer (Straub et al., 1996; Weber et al., 2001). Les espèces les plus communément rencontrées pour une réaction avec l'hydrogène sont *Paracoccus Denitrificans* et *Alcaligenes Eutrophus* (Tiedje, 1982).

### 1.1.1.2 La dénitrification assimilatrice

Si la voie dissimilatrice, i.e. la dénitrification *s.s.* représente la voie principale de réduction des nitrates en conditions anaérobies, un autre mécanisme acte simultanément. Il s'agit de la réduction assimilatrice des nitrates. La réduction assimilatrice des nitrates est une réaction biologique permettant la synthèse de protéines, d'acides aminés et d'acides nucléiques au travers de l'assimilation de formes réduites de l'azote (Chapelle, 2001). Lors de ce processus, l'ion nitrate est tout d'abord réduit en nitrite puis en ammonium avant d'être converti en matière organique, i.e. en nouvelle biomasse. La quantité de biomasse produite par quantité de nitrates réduits définit le rendement cellulaire  $Y_N$  dont quelques

valeurs sont données à titre d'exemple dans le Tableau 1. Cette voie métabolique ne peut être considérée comme de la dénitrification *s.s.* en ce sens que l'azote reste ré-oxydable en nitrate à la mort de l'organisme.

	$Y_N$ (g biomasse/g $\text{NO}_3^-$ )
Ethanol	0,186 *
Méthanol	0,119 *
Acide acétique	0,124 *
Glucose	0,325 *
Ions thiosulfates	0,137 **

Tableau 1 : Exemples de rendements cellulaires  $Y_N$  pour quelques sources d'énergie. \* d'après (Rohmann and Sontheimer, 1985), \*\* d'après (Justin and Kelly, 1978)

### 1.1.1.3 La nitrammonification ou réduction dissimilatrice des nitrates en ammonium

En conditions strictes d'anaérobiose et lorsque la quantité de matière organique fermentescible est importante, (Fazzolari et al., 1990) notent que la production d'ammonium prend le pas sur la production de formes azotées gazeuses. Cette réduction appelée nitrammonification, majoritairement engendrée par des organismes fermentatifs telles que les bactéries entériques (Knowles, 1982; Cole, 1990) ne peut cependant être considérée comme de la dénitrification *s.s.*, l'ammonium restant potentiellement ré-oxydable en nitrate.

### 1.1.2 Dénitrification chimique

Des études menées en batch ainsi que sur des carottes de sols ou de sédiments ont montré que la dénitrification pouvaient avoir une origine chimique par réaction, en conditions anaérobies, entre les nitrates et des formes réduites du fer (Buresh and Moraghan, 1976; Huang and Zhang, 2002; Yang and Lee, 2005), du manganèse (Luther et al., 1997) ou de l'aluminium (Luk and Au-Yeung, 2002). Cependant, les conditions de pH, de température, de stœchiométrie et de catalyse nécessaires à la réduction significative des nitrates semblent trop restrictives pour constituer une composante majeure de l'atténuation naturelle des nitrates dans les eaux souterraines ou d'un procédé de traitement (Fanning, 1999). De plus, ce type de réaction conduit souvent à la formation d'ion ammonium en lieu et place de l'azote gazeux (Ottley et al., 1997; Alowitz and Scherer, 2002).

### 1.1.3 Synthèse et mécanisme d'intérêt

La Figure 2 reprend les différentes voies de réduction des nitrates reconnues à ce jour. Ce schéma pointe la dénitrification biologique s.s. comme le processus d'intérêt sur lequel se focaliseront les travaux à venir.

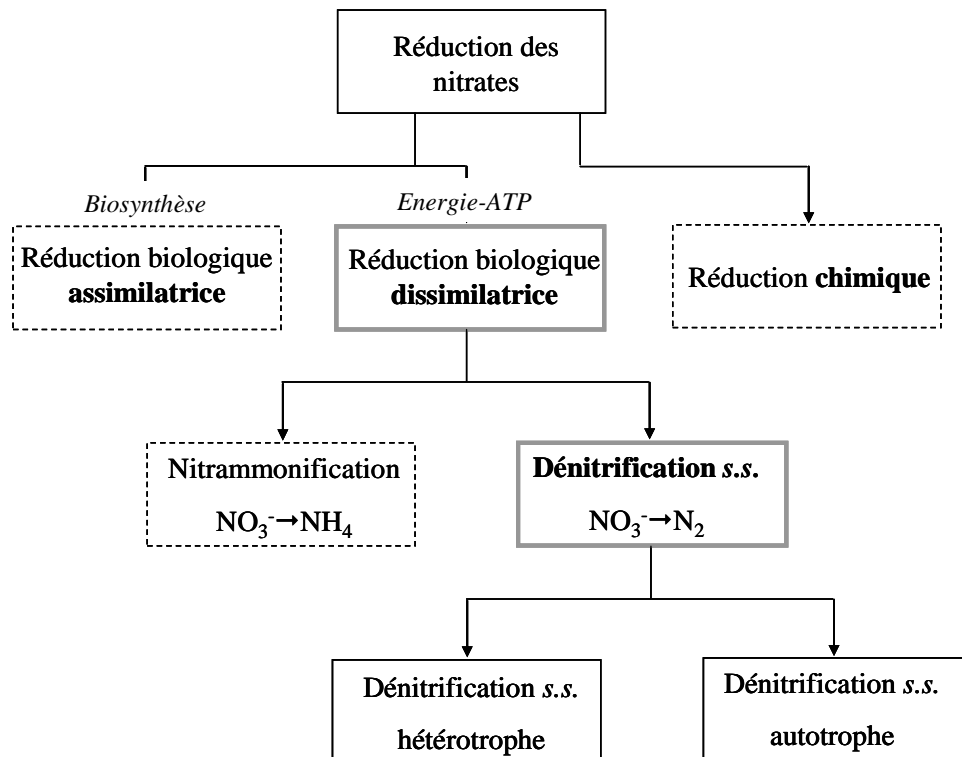


Figure 2: Différentes voies de réduction des nitrates. La voie biologique dissimilatrice (dénitrification s.s.) constitue le processus d'intérêt pour la suite des travaux.

## 1.2 Les procédés de dénitrification provoquée *in situ* : principe, exemples

### 1.2.1 Principe : le mimétisme forcé d'un processus naturel d'atténuation

L'atténuation naturelle des nitrates par dénitrification s.s. est un processus rencontré dans des environnements aussi variés que les sols, les lacs, les ripylsives et les aquifères. De nombreux exemples sont détaillés dans les revues de (Hiscock et al., 1991; Mariotti, 1994; Rivett et al., 2008).

Le processus hétérotrophe se cantonne généralement aux aquifères superficiels pour lesquels un transfert rapide du carbone organique contenu dans les horizons de surface permet de sustenter l'activité bactérienne (Trudell et al., 1986; Starr and Gillham, 1993). Dès que ces transferts s'amenuisent ou disparaissent (type de sols, niveau piézométrique bas, mise en captivité de la nappe

etc.), le carbone organique est oxydé dans les strates supérieures et n'est plus disponible sous forme réduite pour permettre une activité bactérienne intense permettant tout d'abord la création de conditions d'anaérobie puis la persistance d'un processus de dénitrification (Chapelle, 2001). Starr and Gillham (1993) montrent ainsi que l'ajout de glucose dans un aquifère superficiel permet de déclencher la réduction biologique des nitrates à la suite de la consommation de l'oxygène dissous. L'absence de dénitrification ne provient donc pas de l'absence des bactéries dénitrifiantes mais de conditions de nutrition défavorables. Dans certains cas, il semble qu'un processus de dénitrification hétérotrophe prenne place dans des aquifères profonds (> 20 m). Par exemple, pour l'aquifère calcaire du Lincolnshire, Lawrence and Foster (1986) concluent qu'en dépit des faibles teneurs en COD dans l'eau mobile des fractures (< 3 mg/L), la dénitrification hétérotrophe est permise par une source de carbone endogène, i.e. de carbone organique intégré à la matrice rocheuse, dont la solubilisation engendre des teneurs en COD dans l'eau matricielle comprise entre 10 et 30 mg/L. Le mécanisme de dénitrification autotrophe est aussi rapporté, la matrice rocheuse fournissant le stock de minéraux réduits, généralement sous la forme de pyrite (Kölle et al., 1985; Le Bideau, 1996; Pauwels et al., 1998; Schwientek et al., 2008; Zhang et al., 2009). Kölle et al. (1985) précisent cependant que le potentiel d'oxydation de la pyrite dépend de sa structure microscopique et par conséquent, que la totalité du stock de pyrite n'est pas disponible pour la dénitrification. Tout comme le carbone endogène, le stock de pyrite ne représente pas une source d'énergie pérenne puisque non renouvelée. Dans ces environnements, le potentiel dénitrifiant de l'aquifère a donc une durée de vie limitée.

Dans les aquifères, en conditions naturelles, i.e. sans contamination des eaux par une pollution carbonée, la quantité et la disponibilité de la source d'énergie (organique ou minérale) est le facteur limitant de la réaction. Dans ce contexte, Mariotti (1994) note qu'une alternative curative consiste à provoquer ou stimuler l'activité dénitrifiante en recréant, dans l'aquifère, les conditions nécessaires à l'apparition du processus de dénitrification. Il s'agit ici de reproduire ce qui est fait de manière involontaire dans le cas d'aquifères pollués par des effluents de stations d'épuration (Smith et al., 1991; Spalding et al., 1993), des dérivés de pétrole (Lu et al., 1999; Schürmann et al., 2003) ou encore des organochlorés (Nex, 2004), aquifères au sein desquels des processus de dénitrification soutenus sont observés. Par mimétisme, le principe d'une unité de dénitrification provoquée *in situ* est de fournir une source d'énergie exogène et continue aux bactéries autochtones pour permettre l'instauration de conditions d'anaérobie et sustenter de manière pérenne l'activité dénitrifiante. La différence fondamentale entre un procédé provoqué et une pollution involontaire est la capacité à contrôler la zone de contamination/décontamination en condition provoquée, capacité nécessitant alors une bonne compréhension des mécanismes hydrodynamiques et réactifs du site pressenti.



1.2.2 Exemples : dispositifs pilotes de dénitrification provoquée *in situ*, contexte de fonctionnement.

1.2.2.1 Dispositifs pilotes

Les dispositifs de traitement *in situ* se divisent en deux catégories :

1- Barrière ou mur perméable réactif (BPR),

Un dispositif BPR est une tranchée creusée perpendiculairement au sens d'écoulement de la nappe et remplie d'un mélange de roche aquifère et d'une source d'énergie sous forme solide (organique ou minérale) (Robertson and Cherry, 1995; Schipper et al., 2005; Rocca et al., 2007; Moon et al., 2008). D'un point de vue technique, ces dispositifs sont lourds de mise en œuvre et se cantonnent aux premiers mètres sous la surface du sol (donc au traitement de nappes superficielles). Ces dispositifs sont donc exclus du champ de réflexion pour une application dans les aquifères profonds.

2- Dispositif d'injection/pompage en puits.

Ce procédé concerne les dispositifs où la source d'énergie est injectée sous forme liquide au sein de l'aquifère par le biais d'un ou plusieurs forages. Ces dispositifs possèdent donc l'avantage d'utiliser l'aquifère comme un véritable réacteur biogéochimique fournissant à la fois les bactéries dénitrifiantes et le support solide (roche) pour le développement de ces mêmes bactéries. A propos de ce dernier point, plusieurs auteurs notent en effet que les bactéries dénitrifiantes sont préférentiellement présentes et actives à la surface de la matrice et souvent absentes ou tout du moins inactives dans l'eau mobile (Lawrence and Foster, 1986; Landreau et al., 1988; Iribar et al., 2008).

En dépit d'études ayant démontré la possibilité de dénitrification autotrophe à partir d'ions thiosulfates (Baldensperger and Garcia, 1975; Claus and Kutzner, 1985a; Trouvé, 1998), aucun dispositif en puits ne s'appuie sur l'injection d'un soluté inorganique soufré. Il en est de même de la dénitrification basée sur une réaction avec l'hydrogène dont l'inflammabilité et la faible constante de dissolution dans l'eau nécessite la mise au point de technologies plus élaborées et donc plus coûteuses (Chaplin et al., 2009). A ce jour, les dispositifs *in situ* testés reposent donc entièrement sur la réduction biologique des nitrates par voie hétérotrophe. Deux principales configurations d'implantation de puits sont rapportées :

a) Doublet de puits (Figure 3)

Le premier puits sert d'injecteur de la source de carbone organique et/ou de l'eau chargée en nitrates (qui dans ce cas proviendra d'un troisième puits) tandis que le second puits permet d'extraire l'eau dénitrifiée sur la distance séparant les deux puits.

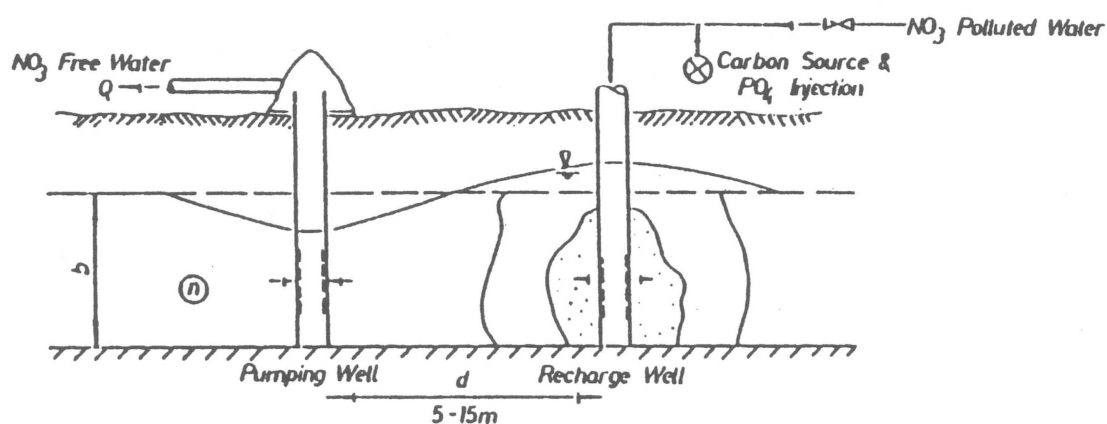


Figure 3 : Dispositif en doublet de puits d'après Mercado et al.(1988)

b) Dispositif Daisy (Figure 4)

La configuration Daisy comprend un puits central de pompage et plusieurs puits d'injection placés concentriquement autour du puits central. Un dispositif plus élaboré est proposé par Braester and Martinell (1988) composé de deux cercles d'injection, l'un pour l'eau polluée et le second pour oxygéner l'eau dénitrifiée avant qu'elle ne soit pompée. Ce procédé est le plus efficace et l'unique en fonctionnement à ce jour.

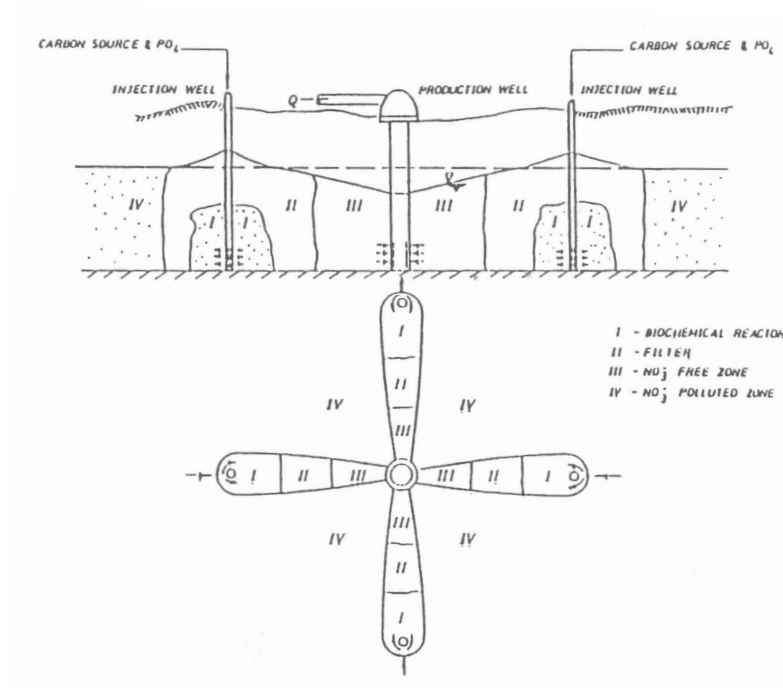


Figure 4 : Dispositif Daisy d'après Mercado et al.(1988)

### 1.2.2.2 Caractéristiques de fonctionnement

Le Tableau 2 recense les dispositifs pilotes rapportés dans la littérature. Si le contexte souterrain d'application est comparable d'un auteur à l'autre, les conditions de fonctionnement (nature et quantité de carbone organique, ajout de phosphates etc.) varient. Indépendamment de la configuration du dispositif, ces choix influencent les rendements épuratoires.

- La source de carbone.

Le choix d'une source de carbone organique est fait en fonction de sa capacité à être assimilée par les bactéries, du taux de croissance bactérienne qu'elle engendre, de son coût et des contraintes réglementaires en vigueur.

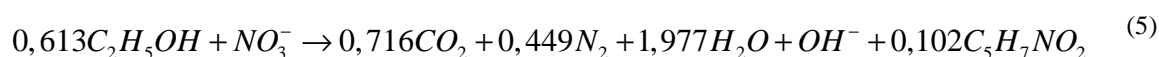
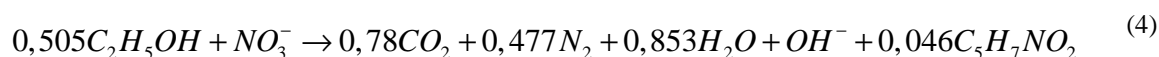
Le glucose ou le sucrose sont généralement délaissés car ils favorisent de très forts développements bactériens (et donc les problèmes de colmatage), la production d'ammonium par nitrammonification et le blocage de la réaction au stade nitrites (Mercado et al., 1988; Akunna et al., 1993).

En comparaison de l'éthanol et de l'acide acétique, le méthanol est plus difficilement assimilable par les bactéries. Les vitesses de dénitrification sont plus faibles et il est difficile de stabiliser les rendements de dénitrification (Rohmann and Sontheimer, 1985; Akunna et al., 1993; Christensson et al., 1994).

Si l'on se focalise sur l'éthanol et l'acide acétique, i.e. sur les deux sources de carbone autorisées par le Ministère de la Santé pour le traitement d'eaux destinées à la consommation humaine en France, les rendements et vitesses de réaction sont souvent proches mais la quantité de carbone nécessaire pour dénitrifier une masse unitaire de nitrates est plus importante pour l'acide acétique que pour l'éthanol (4,3 gC/gN en comparaison de 2,9 gC/gN) (Rohmann and Sontheimer, 1985; Mohseni-Bandpi and Elliott, 1998). En batch sur souche sélectionnée, Blaszczyk (1993) montre que les vitesses de dénitrification sont supérieures pour l'éthanol en comparaison de celles obtenues avec de l'acide acétique et que la production de nitrites est moindre. Le retour d'expérience sur un réacteur biologique Nitrazur montre que le remplacement de l'acide acétique par de l'éthanol permet de réduire l'apparition sporadique des nitrites de même que la concentration à laquelle ces anions apparaissent (Richard and Thébault, 1992). Les auteurs notent d'autre part, que l'utilisation d'éthanol est moins coûteuse que l'acide acétique et qu'il y a moins de problème de corrosion dans les canalisations. Hamon and Fustec (1991) comme Cirinesi et al. (1992) privilégient l'utilisation de l'éthanol à l'acide acétique car l'acide acétique engendre une diminution du pH au point d'injection qui peut inhiber la dénitrification.

- Le ratio C/N

Le ratio C/N molaire définit les besoins spécifiques en carbone des bactéries pour la dénitrification d'une quantité unitaire de  $N-NO_3^-$ . En se basant sur la relation stœchiométrique (2), le ratio C/N pour une réaction entre l'éthanol et les nitrates est normalement de 0,83. Si l'on s'en réfère au Tableau 2, le ratio C/N utilisé est bien souvent supérieur à cette valeur. La relation stœchiométrique réelle diffère de la relation stœchiométrique théorique car une partie du carbone organique est utilisée pour la synthèse de biomasse. Différents ratios stœchiométriques réels sont alors rapportés et illustrés par les exemples suivants :



La relation (4) annoncée par Hamon and Fustec (1991) conduit à un ratio C/N de 1,01. La relation (5) proposée par Mateju et al. (1992) conduit à un ratio de 1,22.

Lorsque l'eau contient de l'oxygène dissous, la quantité de carbone organique apportée doit tout d'abord sustenter la respiration aérobie (création des conditions anaérobies) puis la réduction de la quantité voulue de nitrates. (Philipot, 1985) propose alors la relation (6) pour des concentrations exprimées en mg/L.

$$[C_2H_5OH] = 1,96(\Delta N - NO_3^-) + 0,55[O_2] \quad (6)$$

- L'ajout de phosphates

Le phosphore est nécessaire à la croissance bactérienne. En stations de traitement *ex situ*, il est généralement ajouté sous forme de  $H_3PO_4$  (Philipot, 1985; Richard and Thébault, 1992). Hunter (2003) rapporte que le manque de phosphore engendre l'accumulation de nitrites lors d'essais de dénitrification sur colonne impliquant la circulation d'eau souterraine. Dans le cas de traitement *in situ* tels que ceux rapportés dans Tableau 2, la majorité des auteurs s'affranchissent de cet apport supplémentaire. Pour Hamon and Fustec (1991), l'amélioration des performances dénitrifiantes mesurées sur colonne par l'ajout de concentrations en phosphates allant de 0,1 à 0,5 mg/L n'est pas suffisante pour justifier son utilisation sur le pilote *in situ*.

### 1.2.2.3 Contexte d'application

La quasi-totalité des expériences recensées dans le Tableau 2 est conduite à de faibles profondeurs dans des aquifères superficiels sableux libres. Ces caractéristiques diffèrent notablement de celles d'un aquifère profond captif fracturé et karstifié, aquifère qui fera l'objet de l'étude à venir.

D'une part, la faible profondeur et l'absence de confinement des nappes œuvrent en faveur d'une diversité et d'une densité bactérienne plus importante que dans les systèmes profonds en raison de transfert de bactéries des sols vers les nappes non négligeables, et de conditions d'oxygénation et d'apports nutritionnels plus importants (Chapelle, 2001). Cette différence peut être modulée pour les environnements karstiques où la rapidité des écoulements et l'existence de points d'entrée à infiltration rapide (gouffre, doline) favorisent les échanges avec la surface sur des distances importantes (Ford and Williams, 2007).

D'autre part, les aquifères considérés peuvent être assimilés à des milieux continus et les vitesses d'écoulement moyennes sont de l'ordre de  $10^{-5}$ - $10^{-4}$  m.s<sup>-1</sup>. Pour ces milieux, le taux de dénitrification est attaché à un temps de résidence moyen supérieur à la journée et une distribution bactérienne homogène. Aucune de ces études n'est confrontée à un milieu hétérogène caractérisé par des vitesses élevées et par une forte variabilité 1) des temps de séjour (vitesses élevées dans les chenaux/vitesses lentes dans la matrice), 2) des surfaces spécifiques colonisables par les bactéries, 3) de la distribution des flux massiques entre les structures d'écoulement et 4) de la connectivité des puits. Ces éléments contrôlent les performances de l'unité de traitement en conditionnant les pertes de solutés injectés (Mercado et al. (1988) justifie par exemple l'échec de son procédé par l'absence de connexion entre l'un des puits d'injection et le puits de pompage), la distribution des bactéries et leur développement (Geesey and Mitchell, 2008) et la distribution des temps de séjour. L'implantation d'un dispositif de traitement en milieu fracturé profond captif constitue donc un nouveau challenge.

Référence	Dispositif	Aquifère				Nombre de puits d'injection	D m	Q m <sup>3</sup> /h	Ts j	u m/s	O <sub>2</sub> mg/L	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	Rdt %	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> produits mg/L	Source de carbone	C/ N molaire	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg/L
		De	à														
Braester et Martinell, 1988	Daisy	Sable grossier	libre	0	13	16	18	216	NC	-	NC	100	> 75	NC	Méthanol	NC	Non
Mercado et al., 1988	Daisy	Sable argilo-calcaire	NC	49	100	1/3 *	15-25	50-60	NC	-	6	62	10	NC	Sucrose	1,75	Oui
Hamon et Fustec, 1991	Daisy	Sable grossier	libre	0	7	30	25	30	0,95	3.10-4	9,6	98	70	0,2 – 0,5	Ethanol	1,02 – 1,4	Non
Janda et al., 1988	Daisy	Sable grossier	NC	0	15	4	12-15	20	1-2	10-4	NC	90-110	30-40	0,4	95% d'éthanol + 5 % de méthanol	0,83	Non
Khan et Spalding, 2004	Daisy	Sable grossier	libre	3	25	8	18	24	4-5	5.10-5	6,8	53	20-45	< 1	Acétate	1,2 – 1,8	Non
Kruithof, 1985	Doublet	NC	NC	NC	NC	1	25	33	NC	NC	8,5	80	30-50	0,55	Méthanol	0,96	Non
Chalupa, 1985	Doublet	Sable grossier	libre	3	16	1	15	23	5	9.10-5	NC	54	> 90	0,07	Ethanol	1,2	Non

Tableau 2 : Exemples de dispositifs de dénitrification in situ

*D* la distance entre le puits de pompage et le/les puits d'injection, *Q* le débit, *Ts* le temps de séjour moyen, *u* la vitesse moyenne, *Rdt* le rendement de dénitrification. \* dans l'expérience de Mercado et al. (1988), trois puits servent pour l'injection mais un seul est opérationnel.

### 1.3 Modélisation de la dénitrification : échelle, facteurs d'influence et méthodologie de caractérisation

#### 1.3.1 Approche macroscopique de la réaction de dénitrification

Le transport réactif d'un soluté biodégradable constitue un problème multi-échelle d'une réaction se déroulant au niveau de la bactérie ( $\mu\text{m}$ ) mais devant être intégrée d'un point de vue opérationnel à l'échelle métrique voir décimétrique (Figure 5). Résoudre ce problème à l'échelle métrique (pilote de laboratoire) ou décimétrique (pilote *in situ*) passe dans l'idéal par la considération de l'ensemble des processus ou facteurs d'influence actant à l'échelle du pore voir à l'échelle microscopique. Cette approche est illusoire au regard des capacités numériques actuelles et des données microscopiques disponibles (morphologie des pores, morphologie des cellules bactériennes et de l'assemblage de ces cellules etc.). Opérationnellement, on résout le transport réactif d'un soluté à l'échelle macroscopique (ou échelle de Darcy), i.e. à l'échelle d'un volume élémentaire représentatif pour lequel des paramètres moyens caractéristiques des processus dominants (convection, dispersion, sorption, diffusion, cinétique de réaction) sont définis. Par la suite nous parlerons donc de cinétique macroscopique, cinétique pouvant différer de la cinétique intrinsèque de réaction (cinétique caractéristique de la bactérie) puisque susceptible d'intégrer l'effet de processus actant à l'échelle microscopique.

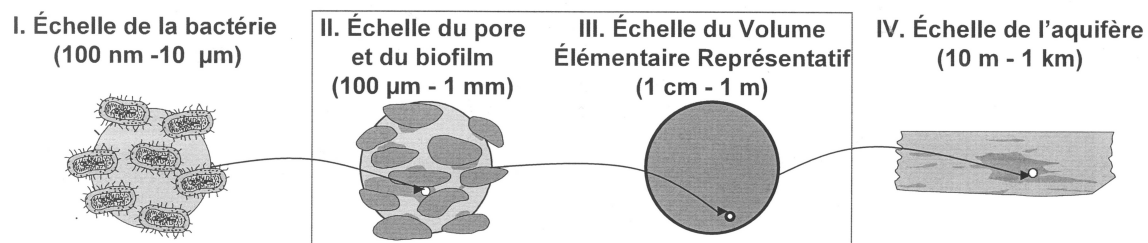


Figure 5 : Aspect multi-échelle d'une réaction de biodégradation

#### 1.3.2 Facteurs influençant la cinétique macroscopique de dénitrification

##### 1.3.2.1 Propriétés microbiologiques, morphologiques et structurales du biofilm

###### 1.3.2.1.1 Le biofilm : définition

Dans les aquifères, la densité bactérienne est plus importante à la surface de la matrice rocheuse que dans l'eau (Landreau et al., 1988; Hazen et al., 1991; Lehman et al., 2001). En présence d'un substrat adéquat, les bactéries croissent à la surface du support solide. Rittmann (1993) suggère que ce développement se fait préférentiellement sous forme de microcolonies éparses en milieu oligotrophe

évoluant vers la formation d'un biofilm continu lorsque la charge en substrat augmente (Figure 6). Le biofilm est alors constitué de microcolonies bactériennes comprises dans une matrice de polymères extracellulaires (PEC) et séparées les unes des autres par des vides interstitiels (chenaux connectés). Les PEC sont composés majoritairement de polysaccharides et de protéines et représentent 50 à 90 % de la masse carbonée du biofilm (Flemming et al., 2000).

Dans le traitement d'un problème réactif, la capacité de dégradation des bactéries libres et des flocs bactériens provenant du détachement du biofilm est souvent négligée (Baveye and Valocchi, 1989). L'entité réactive de référence est alors le biofilm dont les caractéristiques microbiologiques, morphologiques et structurales influencent, dans le cas du processus de dénitrification, le taux de réduction des nitrates et des composés intermédiaires ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ).

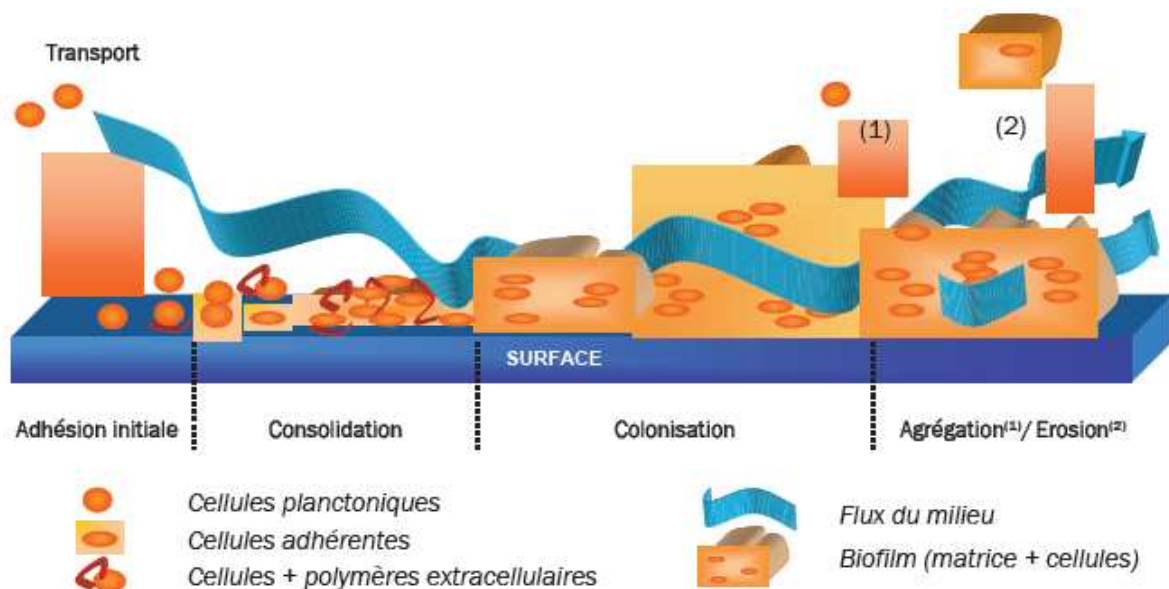


Figure 6 : Formation d'un biofilm (Boutaleb, 2007; Marconnet, 2007)

*Adhésion initiale :* les bactéries planctoniques (ou libres) et les substrats contenus dans l'eau sont transportés au contact de la surface du solide. Par le jeu d'interactions physico-chimiques, les bactéries se fixent au solide ou aux bactéries déjà fixées. *Consolidation :* La consolidation de l'adhésion est réalisée par la synthèse de polymères extracellulaires PEC renforçant la cohérence des cellules bactériennes entre elles. Cette phase s'accompagne de changement phénotypique de la cellule bactérienne. *Colonisation :* Lorsque les bactéries sont fixées de manière irréversible et que les conditions sont favorables, la colonisation se poursuit. Les cellules se multiplient et la surface se couvre d'une structure microbienne multicouche tridimensionnelle. Au cours de cette phase de croissance, une compétition entre les microorganismes voit le jour, certaines espèces deviennent prédominantes par rapport à d'autres. *Agrégation/Erosion :* la croissance du biofilm rentre dans une phase de ralentissement où un équilibre se met en place entre le taux de multiplication et d'accumulation des microorganismes, le taux de lyse bactérienne et le taux de détachement influencé par l'hydrodynamique du système.



#### 1.3.2.1.2 Caractéristiques microbiologiques

En fonction du matériel enzymatique dont dispose une souche bactérienne, on distingue les bactéries dénitrifiantes strictes des bactéries dénitrifiantes partielles (Payne, 1973). Les bactéries dénitrifiantes strictes possèdent la chaîne complète de réductases et assurent la réduction des nitrates en azote gazeux. A l'inverse, les bactéries dénitrifiantes partielles ne sont pas en mesure de synthétiser l'ensemble des réductases, certaines ne disposent que de la nitrate réductase NaR assurant uniquement l'étape de dénitrification  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$ , d'autres ne possèdent pas la réductase  $\text{N}_2\text{OR}$ , l'oxyde nitreux étant alors le produit final de la réduction des nitrates, d'autres encore sont incapables d'effectuer le passage  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  (Vangnai and Klein, 1974; Pichinoty et al., 1978; Knowles, 1982; Kuenen et al., 1992). D'une espèce à l'autre, la vitesse de réduction de chaque composé azoté varie. Lors d'essais en batch, Betlach and Tiedje (1981) montrent que la cinétique de dénitrification  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  d'une part et le rapport entre la cinétique de dénitrification  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  et la cinétique de dénitrification  $\text{NO}_2/\text{N}_x\text{O}$  d'autre part, diffèrent entre deux souches bactériennes (*P. fluorescens* vs. *Flavobacterium* sp.). Lazarova et al. (1994) aboutissent à des conclusions similaires en condition dynamique pour une étude comparative entre un biofilm constitué de *Ps. Aeruginosa* et *Ps. Stutzeri*. En conséquence, dans les milieux naturels caractérisés par des populations bactériennes mixtes, la vitesse de réduction des nitrates en azote gazeux  $\text{N}_2$  est fonction des espèces composant le biofilm et de leur proportion relative, caractéristiques influencées et amenées à évoluer avec les conditions physico-chimiques de l'environnement souterrain (Bengtsson and Bergwall, 1995).

#### 1.3.2.1.3 Caractéristiques morphologiques et structurales

Le biofilm est une structure tridimensionnelle dont les caractéristiques microscopiques telles que la densité volumique, l'épaisseur et la topologie de surface (ou coefficient de rugosité) jouent un rôle clé dans le transfert de masse aux bactéries :

- La densité volumique.

La densité volumique est la masse de bactéries par unité de volume biofilm. Elle est corrélée au coefficient de diffusion effective des solutés dans le biofilm (Fan et al., 1990) et joue un rôle antagoniste sur la dégradation d'un soluté. D'une part, son augmentation (i.e. l'augmentation du nombre de bactéries dans un même volume) génère un pôle bactérien réactionnel plus important se traduisant potentiellement par une augmentation du taux de dégradation macroscopique du soluté. D'autre part, cette même augmentation diminue le coefficient de diffusion effectif engendrant alors une limitation du transport de soluté au sein du biofilm associée à une diminution du taux de dégradation du soluté (Tanyolac and Beyenal, 1998; Horn and Morgenroth, 2006). Pour une densité

volumique moyenne intégrée sur l'épaisseur totale de biofilm, il existe généralement une valeur seuil au-delà de laquelle la réaction n'est plus seulement contrôlée par la cinétique intrinsèque des bactéries mais se voit limitée par la diffusion au sein du biofilm (Seker et al., 1995).

- L'épaisseur.

Quand les bactéries se développent, l'épaisseur du biofilm augmente. Bien que la quantité totale de bactéries et donc le pôle réactionnel potentiel soit plus important pour un biofilm épais, le taux de dégradation du substrat n'est pas forcément plus élevé car une couche inactive de bactéries se développe à la base du biofilm (Bishop et al., 1995; Seker et al., 1995). La profondeur de pénétration d'un soluté est une fonction de l'épaisseur et de la densité, deux paramètres dont la relation varie selon les auteurs et dépend généralement de la gamme d'épaisseurs testée (Rabah and Dahab, 2004).

- Le coefficient de rugosité.

Le coefficient de rugosité permet de quantifier l'irrégularité de la surface du biofilm. Dans la littérature, l'influence de ce paramètre sur le transfert de masse à l'interface fluide/biofilm diverge. Pour Zhang et al. (1994), l'augmentation du coefficient de rugosité favorise le transfert de masse au sein du biofilm en raison d'une surface d'échange fluide/biofilm plus importante. A l'inverse, Eberl et al. (2000) et Wäsche et al. (2002) concluent que le transfert de masse diminue lorsque le coefficient de rugosité augmente. Comme le suggère Picioreanu et al. (1999b), ces divergences proviennent très probablement de la manière de définir le coefficient de rugosité et des vitesses d'écoulement testées.

Les caractéristiques morphologiques et structurales vont donc avoir une influence sur le transfert de masse au sein du biofilm, influence s'exprimant à l'échelle microscopique et susceptible de se répercuter sur la cinétique macroscopique de réaction.

### 1.3.2.2 Hydrodynamique du système, i.e. vitesses d'écoulement et flux massiques

Les caractéristiques morphologiques et structurales du biofilm sont conditionnées par :

- les espèces bactériennes en présence (Claus and Kutzner, 1985b; Lazarova et al., 1994; Wiesman, 1994; Donlan, 2002),
- les vitesses d'écoulement (Vieira et al., 1993; van Loosdrecht et al., 1995; Melo and Bott, 1997; Liu and Tay, 2002),
- la nature et la charge en carbone et nutriments (Villasenor et al., 2000; Alves et al., 2002).

Les vitesses d'écoulement et les flux massiques sont des variables susceptibles d'être ajustées dans un système de traitement. Elles peuvent avoir une influence directe sur les propriétés du biofilm tel que

reporté sur la Figure 7. Il est généralement admis que l'augmentation des vitesses d'écoulement génère un biofilm plus fin, plus dense avec un faible coefficient de rugosité (Vieira et al., 1993; van Loosdrecht et al., 1995; Melo and Bott, 1997) tandis que l'augmentation de la charge en substrat génère un biofilm plus épais, moins dense avec un coefficient de rugosité élevé (Beyenal and Lewandowski, 2000; Wäsche et al., 2002). L'influence des vitesses d'écoulement et des forces de cisaillement et de collision qui en découlent est rapportée pour des expériences en canalisation ( $u > 10^1 \text{ m.s}^{-1}$ ) ou en lit fluidisé. Aucune expérience ne traite de cette influence dans un poreux. Seuls Seiler and Vomberg (2005) évoquent une limitation du développement du biofilm dans un aquifère fracturé en raison de vitesses d'écoulement de l'ordre de  $10^{-3}$ - $10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ .

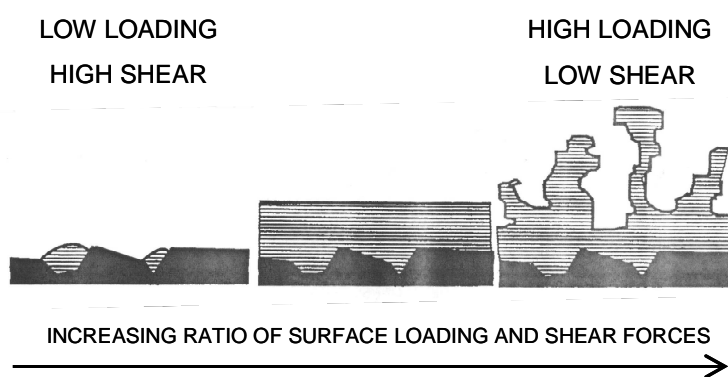


Figure 7 : Effet des forces de cisaillement et de la charge en substrat sur la morphologie du biofilm d'après (de Beer et al., 1996)

D'autre part, les vitesses d'écoulement et la pression s'exerçant dans le système poreux sont susceptibles d'influer cette fois ci directement sur l'accessibilité du soluté aux bactéries. Par exemple, à l'échelle du pore, les travaux de Dykaar and Kitanidis (1996) comme ceux de de Beer et al. (1996) indiquent que l'augmentation des vitesses locales tend à favoriser le transfert de masse de la phase liquide vers le biofilm. A l'échelle d'une colonne et pour un système poreux abiotique constitué de billes de Catsan, Delay et al. (1997) notent que lorsque la vitesse moyenne d'écoulement augmente, le coefficient macroscopique de transfert de masse entre la phase fluide mobile de la macroporosité et la phase fluide immobile contenue dans la microporosité des grains de Catsan augmente lui aussi. Reste aujourd'hui à savoir si ces variations, pour une gamme de vitesses donnée, ont un impact notable sur la cinétique macroscopique de réaction.

### 1.3.3 Méthodologies d'acquisition des cinétiques de dénitrification

#### 1.3.3.1 Batch ou colonne : avantages et limites des méthodes

La prédiction du fonctionnement d'un dispositif de traitement nécessite de disposer de valeurs de cinétiques. La détermination des cinétiques de dégradation se fait souvent en laboratoire selon deux voies, les essais statiques en batch et les essais dynamiques en colonne.

Les essais en batch consistent en une phase liquide (eau naturelle, eau synthétique) pouvant être mise en contact avec une phase solide (sédiments, sol) dans un système clos. Les bactéries sont contenues dans les échantillons naturels (eau, roche etc.) ou inoculées à la suite de cultures de souches sélectionnées. Différentes variables (concentrations en éléments dissous, fractionnement isotopique, gaz, quantité de bactéries) sont alors suivies au cours du temps. Cette technique est utilisée depuis le début du XX siècle à des fins fondamentales de caractérisation des mécanismes de dénitrification.

Quelques exemples d'application sont proposés pour :

- déterminer l'ordre cinétique de réaction et la valeur des paramètres intrinsèques de cinétique (Bowman and Focht, 1974; Claus and Kutzner, 1985b; Constantin, 1995; Peyton et al., 2001; Vasiliadou et al., 2006)
- évaluer l'influence de la température, du pH, de la pression partielle en oxygène dissous (Nommik, 1956; Skerman and MacRae, 1957; Dawson and Murphy, 1972; Maag et al., 1997),
- évaluer l'influence de la nature de sources énergétiques (organique ou minérale), l'influence de la concentration en nutriments supplémentaires (Bowman and Focht, 1974; Blaszczyk, 1993; Kim et al., 2002; Foglar et al., 2005; Greenan et al., 2006; Nair et al., 2007),
- comprendre les mécanismes d'inhibition (Kowalenko, 1979; Yeomans and Bremner, 1985; Soto et al., 2007).

Les études en batch menées sur du matériel aquifère sont le plus souvent rapportées pour des environnements superficiels où les prélèvements sont facilités et limités aux dix premiers mètres sous la surface du sol (Starr and Gillham, 1993; Le Bideau, 1996; Smith, 1996). Ces tests sont de bons indicateurs de la présence ou de l'absence de bactéries dénitrifiantes. En revanche, utilisés à des fins de modélisation du transport réactif d'un soluté dans l'aquifère étudié, les paramètres de cinétique obtenus échouent généralement à retranscrire la réactivité du système aquifère (Killingstad et al., 2002). Ce biais a plusieurs origines :

- les cinétiques intrinsèques de dénitrification sont dépendantes des conditions physico-chimiques (température, oxygène dissous, pH etc.) (Nommik, 1956). Or, il est généralement difficile de reproduire et maintenir les conditions physico-chimiques du

milieu naturel en laboratoire, d'autant plus dans un système clos tel qu'un batch (Mandelbaum et al., 1997).

- la cinétique macroscopique d'un système où l'eau circule intègre des effets dynamiques (convection, dispersion, diffusion ou transfert de masse fluide mobile/ fluide immobile ou fluide mobile/biofilm) associés à une distribution bactérienne souvent inhomogène, effets dont les batchs s'affranchissent (Sturman et al., 1995).

En ce sens, les essais dynamiques en colonne constituent un support expérimental, certes incapable de traduire l'hétérogénéité du système naturel, mais plus fidèle en terme de fonctionnement macroscopique dynamique que ne le sont les batchs. Ces dispositifs sont le plus souvent constitués d'une colonne décimétrique à métrique remplie de sol ou de matériau aquifèreensemencé naturellement ou artificiellement par une culture de souches bactériennes. Un flux ascendant ou descendant de soluté est appliqué et permet de juger, sous différentes conditions opérationnelles, des rendements épuratoires (Soares et al., 1988; Hamon and Fustec, 1991; Schnobrich et al., 2007), de la cinétique macroscopique de dénitrification (Sadeghi and Kunishi, 1991; Zysset et al., 1994; Strong and Fillery, 2002) et de l'influence du développement bactérien sur les propriétés de transport du milieu (Vandevivere and Baveye, 1992; Seifert and Engesgaard, 2007).

#### 1.3.3.2 Modèles macroscopiques de transport réactif

Les modèles continus macroscopiques remplacent les effets des caractéristiques microscopiques par des paramètres effectifs moyens à l'échelle de Darcy (convection, dispersion, sorption, dégradation). On distingue alors deux méthodologies permettant d'établir ces paramètres effectifs moyens.

*La première méthode*, encore peu utilisée opérationnellement, repose sur des techniques de changement d'échelle ('upscaling'). Les paramètres effectifs tels que la dispersion ou la réaction découlent de la description des processus à l'échelle microscopique (échelle des hétérogénéités) en employant une technique de passage micro-macro échelle. Le changement d'échelle permettant d'établir les caractéristiques physico-chimiques du biofilm considéré comme une phase continue (passage de l'échelle de la bactérie à celle du biofilm) a été développée par Wood and Whitaker (1998) et Wood et al. (2002) à partir de la méthode de prise de moyenne volumique (Whitaker, 1999). Les travaux actuels de Aspa et al. (20XX), Golfier et al. (2009), Orgogozo et al. (2010), s'attachent à l'étape suivante, i.e. au passage de l'échelle du biofilm à l'échelle macroscopique correspondant à celle attendue pour des calculs prédictifs sur système de traitement. Ces changements d'échelle nécessitent le calcul de coefficients effectifs basé sur la morphologie et les fractions volumiques de différentes entités (cellule/matrice PEC pour l'étape 1, biofilm/fluide pour l'étape 2). Or, la caractérisation géométrique et structurale 3-D d'un biofilm n'est à ce jour pas maîtrisée. Les avancées

technologiques actuelles laissent à penser que cette caractérisation est envisageable dans les années à venir (Davit et al., 20XX). Cependant, les difficultés expérimentales actuelles conduisent à 1) approximer les coefficients par le biais de solutions analytiques ou numériques issues d'une géométrie simplifiée de biofilm ou 2) à accéder indirectement aux paramètres morphologiques du biofilm par le biais de modèles numériques de croissance bactérienne (Picioreanu et al., 1999a; Kreft et al., 2001). L'influence de ces approximations sur les paramètres effectifs sont en cours d'étude (Aspa et al., 20XX; Orgogozo, 2007; Orgogozo et al., 2010). D'autre part, ces résolutions numériques nécessitent la mise en œuvre de calculs extrêmement coûteux en temps et incidemment non envisageables pour un problème d'échelle métrique à hectométrique.

*La seconde méthode* consiste à écrire la description équivalente des paramètres directement à l'échelle macroscopique en faisant abstraction de l'hétérogénéité structurale et morphologique du biofilm. En fonction de la manière dont le soluté est transporté de la phase fluide aux bactéries, deux groupes principaux de modèles se distinguent :

- Le premier groupe comprend les modèles où la concentration du soluté dans la phase fluide est égale à la concentration du soluté dans la phase biofilm, ce qui est équivalent à une vision du biofilm sans effet de diffusion (Option A de Baveye and Valocchi (1989)) . Ces modèles font l'hypothèse que le temps de transport par diffusion au sein du biofilm est négligeable devant le temps de transport par convection. Le biofilm n'occupe pas explicitement un volume et les bactéries sont représentées soit par une concentration soit directement intégrées dans la cinétique. Il s'agit du modèle utilisé par Clement et al. (1997) pour l'étude du transport et la croissance de bactéries sur des colonnes de sol en conditions dénitrifiantes. L'auteur considère ici une concentration en bactéries pour la phase fluide et une concentration en bactéries attachées au solide. C'est aussi le concept utilisé par Chun et al. (2009) ou Sadeghi and Kunishi (1991) pour l'étude de la dénitrification sur un réacteur biologique pour le premier et une carotte de sol pour le second. Cette fois-ci la biomasse n'est pas écrite explicitement, elle est incluse dans le terme réactif d'ordre un ou zéro. Pour la modélisation à l'échelle de site, les travaux de Killingstad et al.(2002) et Smith et al. (2001) peuvent être cités. Ils s'attachent à la modélisation de l'atténuation naturelle des nitrates d'une part et à l'atténuation provoquée des nitrates d'autre part au droit d'un aquifère constitué de sables et de graviers (site de Cape Cod, USA).

- Le second groupe comprend les modèles où l'on distingue explicitement une phase biofilm immobile d'une phase fluide mobile en imposant une limitation du transfert de masse d'une phase à l'autre par un processus de diffusion. Le processus de diffusion est parfois écrit sous la forme générale de la diffusion d'un soluté nécessitant une approximation de l'épaisseur traversée et de la surface d'échange (Molz et al., 1986; Taylor and Jaffé, 1990). Widdowson et al. (1988) se sert de cette approche pour simuler le transport réactif d'un soluté contenant du carbone, de l'oxygène dissous et

des nitrates ainsi que la croissance bactérienne qui en résulte. Plus généralement, l'échange interphase est traduit au travers d'un processus d'ordre 1 faisant intervenir un coefficient d'échange macroscopique entre deux compartiments (fluide/biofilm) occupant chacun une fraction de la porosité initiale (Baveye and Valocchi, 1989; Wood et al., 1994; Seifert and Engesgaard, 2007). Cette dernière approche aboutit à des modèles double-milieu comparables à ceux développés pour le transport non réactif de soluté dans des systèmes hétérogènes où l'on sépare des zones d'écoulement rapide de zones stagnantes ou à circulation lente (Coats and Smith, 1964; van Genuchten and Wierenga, 1976; De Smedt and Wierenga, 1979; Delay et al., 1997). A l'échelle d'une colonne de laboratoire, Seifert and Engesgaard (2007) utilise ce type de modèle pour évaluer le transport d'un soluté inerte en présence d'un biofilm. Schäfer et al. (1998) propose un modèle tridimensionnel basé sur cette ségrégation entre phase mobile et immobile pour la simulation du transport réactif de différents contaminants. Un exemple d'application à l'échelle d'un site est donné par Kinzelbach and Schafer (1991) pour la simulation de la dénitrification dans un aquifère superficiel alluvial (Vallée du Rhin, Allemagne). Tout comme Frenzel et al. (1996), l'auteur relève que dans le cas d'une application à l'échelle d'un site, le coefficient d'échange mobile/immobile relève plus d'une limitation du transfert entre des zones à circulation rapide et des zones à circulation lente que d'une évaluation directe de la limitation du transfert entre l'eau mobile et le biofilm immobile.

Cette approche macroscopique qui consiste à considérer directement les paramètres moyens de vitesse, de dispersion et de réaction apparaît certes, comme une vision très simplifiée du problème réactionnel, mais cependant plus opérationnelle à ce jour au regard des données accessibles sur site ou en laboratoire, et des capacités numériques disponibles.





## **2 Approche hydrologique du potentiel du SEH vis-à-vis de la réalisation d'un pilote de dénitrification *in situ***

Dans le cadre du 12<sup>ème</sup> Contrat Plan Etat-Région (CPER 2002-2006) et du 1<sup>er</sup> Contrat Projet Etat (2007-2013), l'équipe Eau-Milieus fracturés du laboratoire HydrASA a entrepris le développement d'un Site Expérimental Hydrogéologique (SEH) au droit de deux aquifères d'extension régionale : l'aquifère supra-toarcien (dit aussi aquifère du Dogger) et l'aquifère du Lias Inférieur et Moyen. En vue d'une application à la protection, la gestion et l'exploitation des ressources en eau souterraine, l'objectif scientifique du SEH est de permettre l'acquisition de mesures à long terme, le développement de concepts fondamentaux, de méthodologies et d'outils métrologiques servant la modélisation du fonctionnement des aquifères carbonatés hétérogènes. Cet objectif affirmé lui confère une place au sein de dispositifs nationaux tel que le Service National d'Observation H<sup>+</sup> (SNOH<sup>+</sup>) incluant les sites hydrogéologiques de Ploemeur (56), Cadarache (13) et Montpellier (34). Depuis 2002, le site a été l'objet de nombreuses investigations nées d'impulsions locales, de collaborations nationales et internationales. Ces investigations se sont focalisées sur l'aquifère supra-toarcien conduisant à l'acquisition et au traitement d'une quantité importante de données géologiques, géochimiques, météorologiques et hydrauliques.

Cette première partie se propose tout d'abord de synthétiser les travaux antérieurs recensés sur l'aquifère supra-toarcien au droit du SEH et de ses environs. Suivent ensuite quatre points ayant fait l'objet d'investigations supplémentaires cherchant à combler les quelques lacunes de caractérisation pouvant influencer l'implantation d'un pilote de dénitrification. Ces investigations sont présentées sous la forme de compléments d'informations concernant 1) la structure des écoulements, 2) les caractéristiques de transport en conditions forcées, 3) la dynamique actuelle des nitrates au droit du SEH et 4) les populations bactériennes dénitrifiantes autochtones.

### **2.1 Contexte d'étude**

#### **2.1.1 Présentation du SEH**

Le SEH est implanté à 3 km au sud-est de Poitiers (Vienne, 86) sur la commune de Mignaloux-Beauvoir au lieu dit du Deffend. Le site s'étend sur une dizaine d'hectares de jachère et de bois appartenant à l'Université de Poitiers. Les campagnes de foration se sont étalées de 2002 à 2005. Le site compte aujourd'hui 32 forages destructifs verticaux (31 forages de 130 mètres de profondeur, 1 forage de 160 mètres de profondeur), 2 forages carottés verticaux (130 et 165 mètres de profondeur) et 2 forages carottés obliques (114 et 120 mètres de profondeur verticale). Les forages destructifs sont pour la majeure partie équipés sur les 20 à 50 premiers mètres d'un tubage acier non cimenté doublé

d'un tubage PVC crépiné dont la longueur varie de 80 à 130 mètres. Les coupes techniques ainsi que l'équipement détaillé de ces forages et des carottés verticaux sont fournis par Bernard (2005). Les forages sont répartis suivant une configuration « five spot » permettant une investigation à différentes échelles (Figure 8).

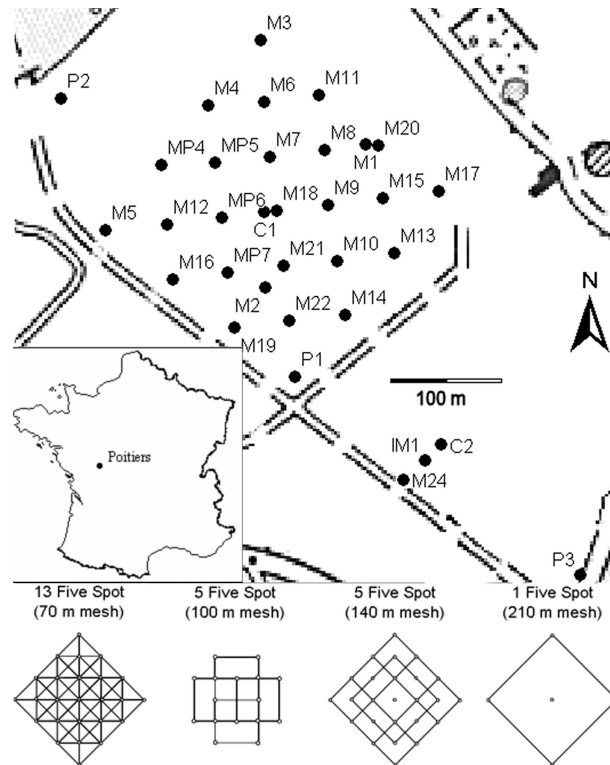


Figure 8: Dispositif en "five spots" des forages du SEH

## 2.1.2 Contexte géologique régional et local

### 2.1.2.1 Formations sédimentaires

Le SEH est implanté au sein d'une entité géologique nommée « Seuil du Poitou » (Figure 9) faisant la transition entre deux bassins sédimentaires d'âges mésozoïques-cénozoïques : le bassin Parisien au nord-est et le bassin Aquitain au sud-ouest. Le seuil se présente comme un large anticlinal dont la couverture jurassique recouvre le bombement du socle Hercynien (Gabilly and Cariou, 1997). La transgression marine du Mésozoïque (Lias inférieur) marque le commencement du recouvrement sédimentaire du seuil. L'immersion de ce dernier se poursuit jusqu'au Jurassique supérieur. Les terrains du Jurassique supérieur sont ensuite érodés lors d'une phase d'émersion (Crétacé inférieur). Au Crétacé supérieur, les formations sont de nouveau immergées lors des transgressions

cénomaniennes. Au Tertiaire et Quaternaire s'enchaînent différentes phases d'érosion et de dépôts décrites de la manière suivante par Gabilly and Cariou (1997) :

- A l'Éocène, l'érosion met à nu les calcaires du Jurassique moyen (Bajocien-Bathonien) qui subissent une karstification. Ces karsts disparaissent sous un épandage d'origine continentale en provenance des massifs anciens. Une nouvelle phase érosive détruit partiellement ces épandages.

- A la fin de l'Éocène et au début de l'Oligocène, des dépôts lacustres recouvrent les terrains jurassiques et éocènes.

- Au Pliocène et au Quaternaire, l'érosion se poursuit, localement compensée par des dépôts continentaux.

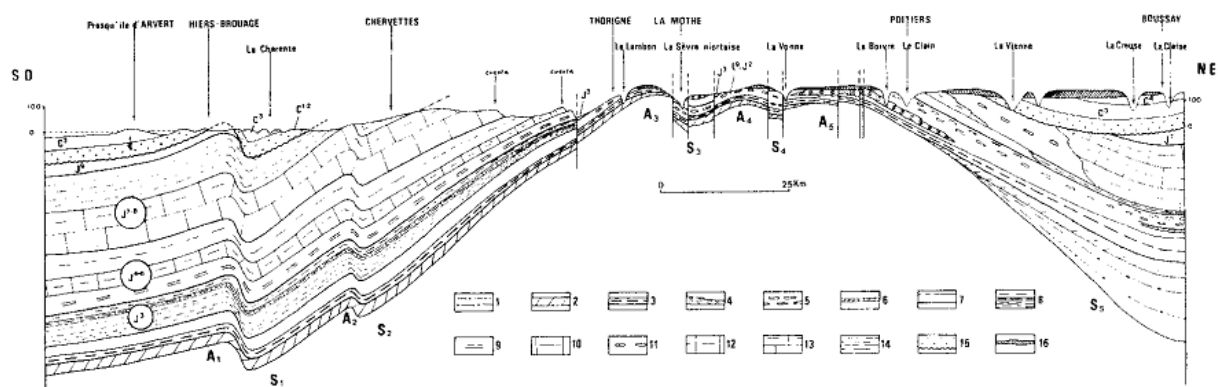


Fig. 9.- Coupe transversale du Seuil du Poitou.

**Stratigraphie.** - 1. Série argilo-sableuse (Permo-Trias ? à Hettangien); - 2. Calcaires dolomitiques sinémouro-hettangiens; - 3. Pliensbachien et Toarcien; - 4. Calcaire oolithique (Aalénien et Bajocien inférieur); - 5. Calcaires grenus à silex (Bajocien, Bathonien et Oxfordien); - 6. Dolomies bajociennes; - 7. Calcaire fin à Céphalopodes; - 8. Callovien aquitain à dominante marneuse; - 9. Marnes de l'Oxfordien inférieur et moyen; - 10. Calcaires argileux de l'Oxfordien supérieur (versant aquitain); - 11. Calcaires grenus à silex de l'Oxfordien (versant parisien); - 12. Calcaire argileux oxfordien (versant parisien); - 13. Calcaires micritiques argileux au sommet (Kimméridgien inférieur, versant aquitain); - 14. Marnes à *Exogyra virgula* (Kimméridgien supérieur); - 15. Cenomanien; - 16. Couverture tertiaire; - L 9 J 2 - Aalénien à Bathonien; - J 3. Callovien; - J 4-6. Oxfordien; - J 7-8. Kimméridgien; - J 9. Portlandien; - C 1 2. Cenomanien; - C 3. Turonien; - C 4. Sénonien.

Figure 9 : Seuil du Poitou d'après Gabilly et Cariou (1997)

Le SEH est implanté sur la partie septentrionale du seuil. La Figure 10 reprend succinctement les puissances des formations sédimentaires présentes au droit du site. Le détail des faciès sédimentaires établis par Gaumet et al. (2005) est disponible en annexe 1.

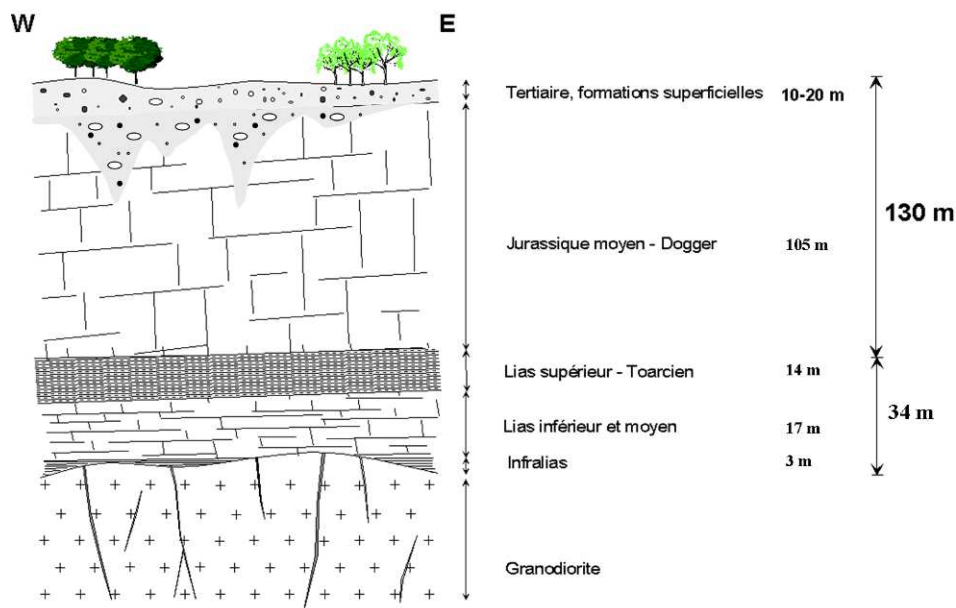


Figure 10 : Coupe géologique succincte au droit du SEH

### 2.1.2.2 Singularités lithochimiques

Une attention particulière est portée aux constituants de la roche représentant un pôle énergétique potentiel support de dénitrification (carbone organique, pyrite). Des analyses en roche totale ont été conduites sur des échantillons du forage carotté oblique C4. Ces analyses ont été effectuées par le CRPG Nancy. La Figure 11 reporte les pourcentages massiques en fer, soufre et carbone organique en fonction de la profondeur.

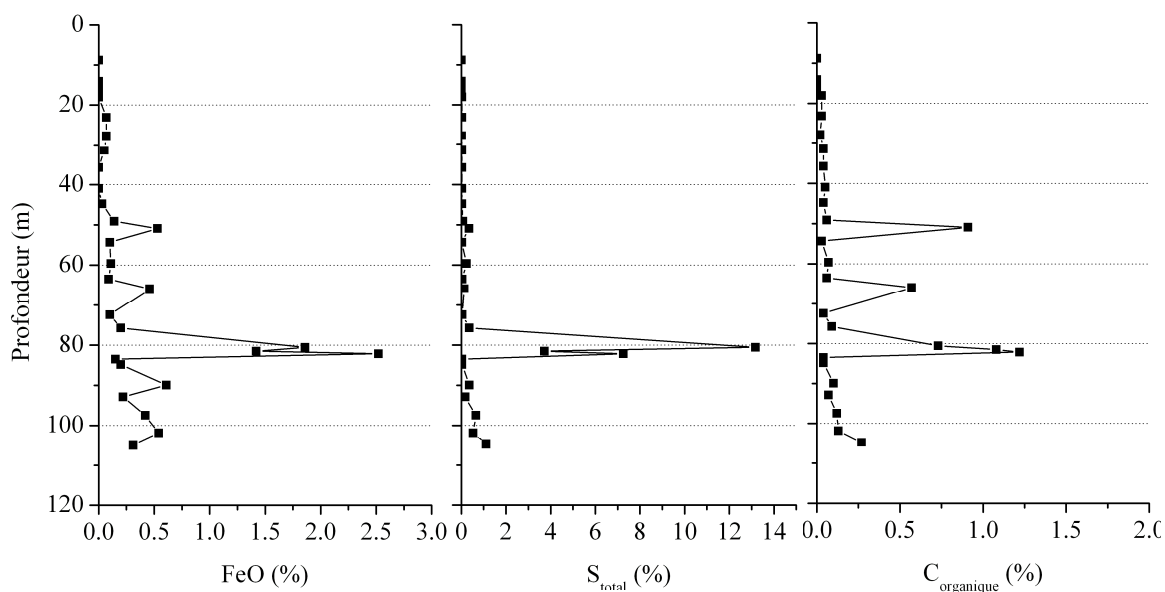


Figure 11 : Pourcentages massiques en fer, soufre et carbone organique analysés sur des échantillons du carotté oblique C4 (profondeurs verticales recalées pour un angle de forage égal à 30°).

Les pics de soufre et de fer apparaissent à des profondeurs similaires : 50 et 80 m. Leur combinaison confirme la présence de pyrite dans la roche échantillonnée, pyrite mise en évidence par analyse au microscope à balayage électronique (MEB) (Chatevaire, 2006). Entre 75 et 83 mètres de profondeur, les pics de fer et de soufre sont corrélés à une forte augmentation du pourcentage de carbone organique. Sur le carotté C4, les fractures recensées à ces profondeurs sont remplies par des argiles dont l'origine n'est à ce jour pas déterminée (Figure 12). Une hypothèse continentale (démantèlement de la chaîne hercynienne) est cependant proposée par A.E.Albani (communication personnelle, 2007). A l'échelle du site, les fortes teneurs en uranium de ces argiles (200 ppm au maximum) ont permis leur détection par diagraphie de rayonnement gamma naturel. Audouin (2007) a ainsi mis en évidence que les fractures/chenaux situés entre 70 et 100 m de profondeur étaient particulièrement affectés par ces remplissages. Les principaux ouvrages concernés sont les puits M2, M3, M4, M5, M6, M12, M16, M19, M22, M24, MP7 et P3.



Figure 12 : Argiles de remplissage riches en fer, soufre et carbone organique et présentes dans les fractures/chenaux. Ces argiles sont principalement observées entre 70 et 100 m de profondeur sur les puits M2, M3, M4, M5, M6, M12, M16, M19, M22, M24, MP7 et P3.

### 2.1.2.3 Fracturation et karstification

L'aquifère supra-toarcien présente une double porosité de fractures et de chenaux (Mourier et al., 1986). Au droit du site, la réalisation d'imageries optiques de paroi, de mesures de débitmétrie verticale et l'étude de la fracturation locale sur carotté ont permis d'établir trois principales familles de fractures subverticales orientées N0, N90 et N135 (Gaumet et al., 2005; Bourbiaud et al., 2007; Audouin et al., 2008). Ces investigations montrent que les fractures interceptent trois plans d'écoulement karstifiés développés à 50, 85 et 115 m de profondeur. Le niveau karstique supérieur (50 m), de faible extension, s'est développé dans les calcaires à silex du Bajocien supérieur, le niveau intermédiaire (85 m) dans les strates dolomitisées du Bajocien inférieur et le niveau inférieur (115m) au sein des calcaires bioclastiques de l'Aalénien supérieur. D'autre part, une campagne de sismique réflexion a conduit à l'élaboration d'un bloc de vitesses 3D converties par la suite en pseudo-porosités (Figure 13). Les auteurs Mari et al. (2009) filtrent les porosités de manière à faire ressortir les

principales structures perméables. Ainsi, le niveau à 85 m est le seul à persister lorsqu'un filtre à 30% de porosité est imposé. Pour un seuillage à 10% de porosité, deux niveaux supplémentaires apparaissent à 110-115m et 35-40m. Ce niveau à 35-40 m n'avait jamais été décrit auparavant. Il s'est développé dans les calcaires à silex du Bathonien.

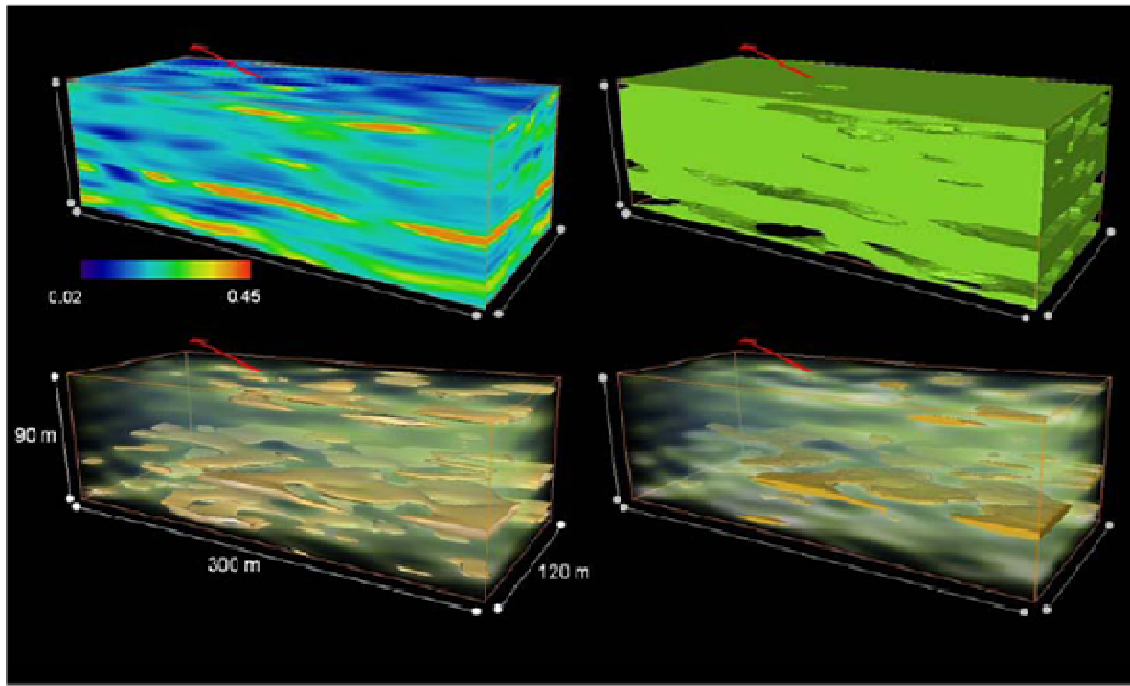


Figure 13: Bloc 3D de porosités calculées à partir des pseudo-vitesses sismiques ( d'après (Mari et al., 2009)). La flèche rouge indique le nord. Haut gauche: bloc de porosités brutes non seuillées, haut droite : porosité < 10%, bas gauche : porosité  $\geq 10\%$ , bas droite : porosité  $\geq 30\%$ .

De la même manière que la densité de fracturation est inégale entre les forages investigués (Gaumet et al., 2005; Audouin et al., 2008), l'extension spatiale des amas karstifiés est hétérogène. Seul le niveau à 85 m est uniformément réparti et intercepté par la majorité des puits. Le niveau à 115 m concerne principalement les bordures nord-ouest et sud-ouest du site. Le niveau à 50 m est peu représenté. La Figure 14, initialement proposée par Audouin (2007), synthétise les niveaux interceptés par chaque puits. Certains puits tels que M8, M9, M18, M10 et M14 n'interceptent aucun plan karstique et présentent une fracturation faible.

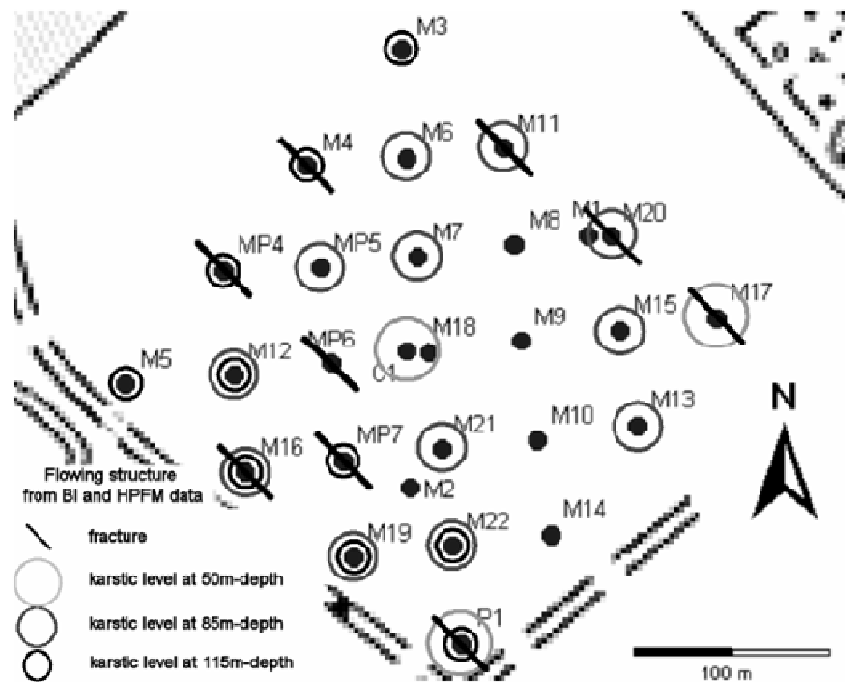


Figure 14: Principales structures d'écoulement identifiées sur le SEH par diagraphie de puits et flowmétrie d'après Audouin (2007)

### 2.1.3 Contexte hydrogéologique

#### 2.1.3.1 Hydrogéologie générale

L'aquifère infra-toarcien et l'aquifère supra-toarcien sont isolés hydrauliquement par les marnes du Toarcien. La nappe captive de l'infra-toarcien est contenue dans les calcarénites et calcaires dolomitiques du Lias moyen et inférieur. L'aquifère supra-toarcien est, quant à lui, constitué des calcaires partiellement dolomités et calcaires à silex de l'Aalénien et du Bajocien. La nappe supra-toarcienne est généralement libre mais peut devenir localement captive sous des placages argilo-sableux tels qu'observés au droit du SEH. Dans les zones d'affleurements calcaires, l'infiltration d'une partie des eaux météoriques se fait rapidement, quelquefois à la faveur de gouffres. Sous les recouvrements tertiaires, la percolation d'une partie des eaux emmagasinées dans les dépôts superficiels participe à l'alimentation de la nappe. L'inertie de la nappe est grande d'une période à l'autre de l'année et n'est pas rompue au voisinage des gouffres. Le niveau de base actuel des deux vallées drainantes principales du Clain et de la Vienne n'atteint pas la surface du Toarcien, de sorte que seule la partie supérieure de l'aquifère subit une vidange saisonnière (Bourgueil and Gabilly, 1971). Le SEH se situe sur le bassin versant du Clain. Les campagnes piézométriques menées par Bernard (2005) entre 2002 et 2005 dans un rayon de 5 km autour du SEH montrent toutes un comportement type « selle hydrogéologique ». La Figure 15 en témoigne avec le tracé d'un

écoulement divergent composé de lignes de courant orientées NNO et OSO et une ligne de partage des eaux passant à proximité du SEH. Quelle que soit la période de l'année, la nappe supra-toarciennne alimente le Clain. Le gradient hydraulique naturel est de 3/1000.

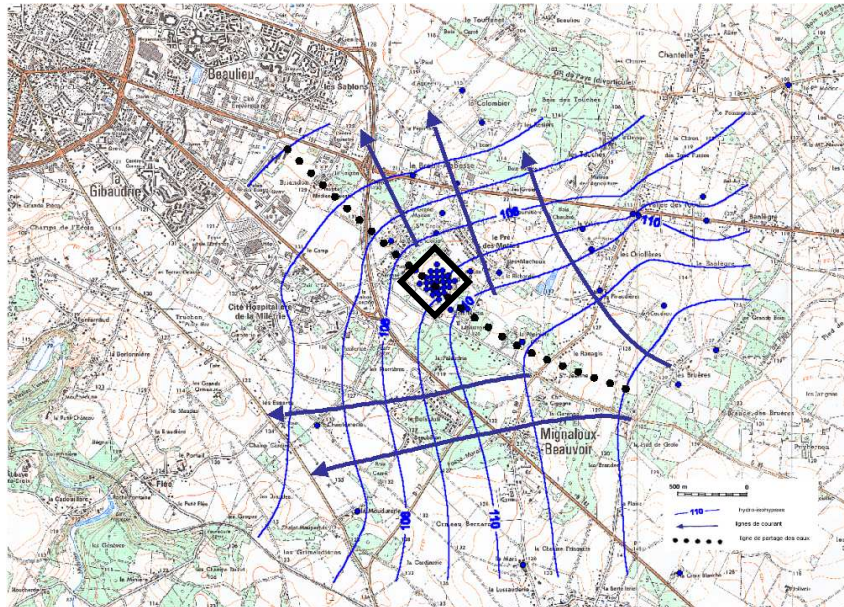


Figure 15: Carte piézométrique établie en mai 2003 d'après Bernard (2005). Le comportement divergent est établi pour l'ensemble des campagnes réalisées entre 2002 et 2005. Le SEH est situé au centre du carré noir.

La productivité de la nappe est variable et étroitement liée à la fracturation et à l'interception des niveaux karstiques. A l'échelle du site, les essais de pompage ont montré une productivité variant de quelques m<sup>3</sup>/h à 200 m<sup>3</sup>/h pour des puits espacés de seulement 5 mètres (Bernard, 2005).

### 2.1.3.2 Structure des écoulements

La forme convexe des courbes de rabattement obtenues lors des tests d'interférence démontre que l'aquifère ne peut être considéré comme un milieu poreux homogène (Bernard, 2005). L'auteur conclut alors à « l'existence d'une anisotropie et d'une hétérogénéité des écoulements, à mettre en relation avec le caractère fracturé du milieu qui peut privilégier certaines directions d'écoulement ». Ce dernier point est abordé par Audouin (2007) pour qui les chocs hydrauliques investissent spécifiquement les chemins d'écoulement préférentiels et permettent ainsi une caractérisation de leurs propriétés hydrauliques. Ainsi l'analyse du rapport transmissivité/coefficient d'emménagement conduit à l'élaboration d'une carte de diffusivité (D) déterminant les liens hydrauliques préférentiels entre les forages (Figure 16). Les diffusivités calculées couplées aux diagraphies de puits permettent à l'auteur d'identifier les niveaux mettant en relation les différents puits : « la forte connexion entre les puits M13-M22 semble se faire par le niveau karstique localisé à 90 m alors que les puits M5-M12 et



M16 sont mis en relation par le niveau à 115 m » et de conclure que « les écoulements au sein de l'aquifère calcaire au droit du SEH sont fortement contraints par les structures karstiques subhorizontales et les fractures subverticales. »

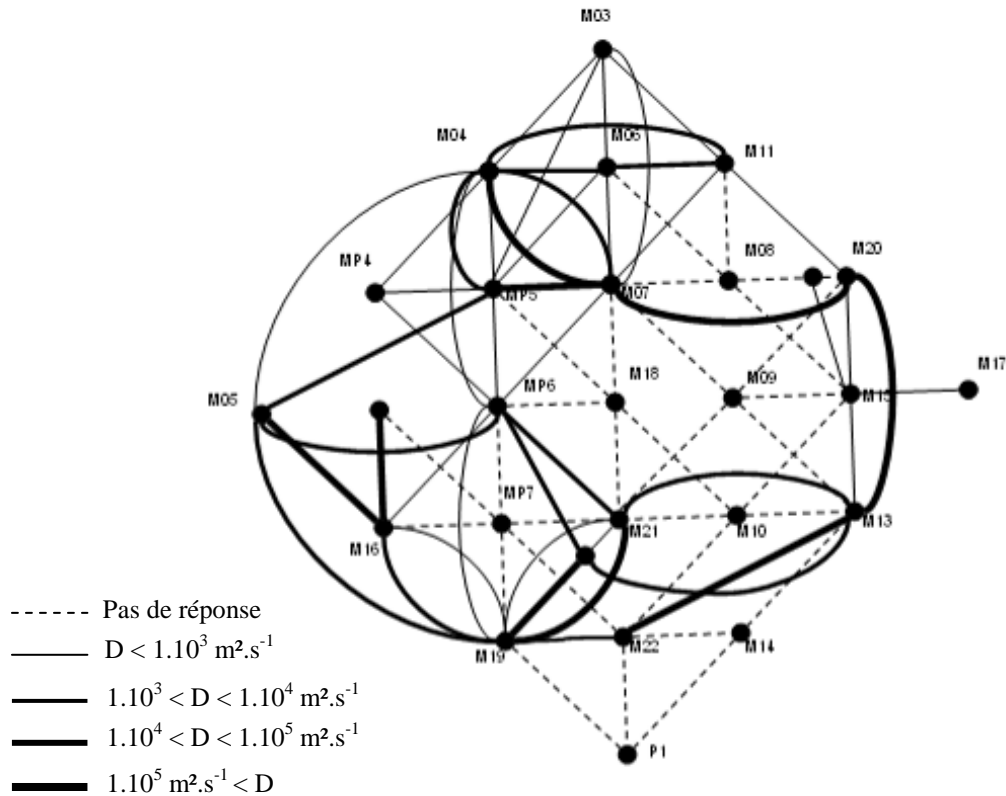


Figure 16: Carte des diffusivités obtenues par l'interprétation de chocs hydrauliques réalisés sur le SEH d'après Audouin (2007).

### 2.1.3.3 Grandeurs hydrodynamiques caractéristiques

Les campagnes de pompages d'interférence réalisées en 2004 et 2005 ont permis de tester différents modèles d'écoulement élaborés sur la base d'approches déterministes ou stochastiques (Delay et al., 2004; Neumann et al., 2004; Delay et al., 2007). Le modèle double milieu de Kaczmaryk and Delay (2007) et la méthode stochastique des abaques de Riva et al. (2009) appliqués aux données fournissent des valeurs de transmissivités allant de  $0.7 \times 10^{-3}$  à  $2.1 \times 10^{-3} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ . Kaczmaryk and Delay (2007) testent deux autres modèles incluant un terme hyperbolique: le modèle double milieu homogène et le modèle double milieu fractal. Le terme hyperbolique permet de mimer la propagation rapide d'une onde de pression. Les auteurs déterminent des paramètres capacitifs quasi similaires entre les campagnes 2004 et 2005 avec un coefficient d'emménagement spécifique de fractures  $S_{sf}$  allant de  $2.4 \times 10^{-7}$  à  $4.8 \times 10^{-6} \text{ m}^{-1}$  et un coefficient d'emménagement spécifique de matrice  $S_{sm}$  de  $1.4 \times 10^{-6}$  à  $3.5 \times 10^{-5} \text{ m}^{-1}$ .



## 2.2 Complément d'information 1 : connexions préférentielles et écoulements verticaux

L'aquifère supra-toarcien se caractérise par une stratification des écoulements en 4 plans principaux (§2.1.2.3). Dans l'idée de l'implantation d'un pilote *in situ*, il est intéressant de savoir si cette stratification constitue un avantage pour confiner le procédé de traitement à une profondeur donnée. Cette réalisation peut notamment avoir un intérêt non négligeable pour 1) limiter la contamination de l'aquifère par l'effluent et/ou par la source de nutriments injectés et 2) utiliser les propriétés physico-chimiques d'un niveau en particulier si celles-ci s'avèrent être favorables au processus de dénitrification. L'isolation du niveau de traitement nécessite de tracer préalablement les écoulements pour s'assurer que les connexions entre les plans karstiques sont faibles. Classiquement, les tests entre packers (pression et traceurs) sont utilisés pour répondre à ces attentes (Bourke, 1987; Cacas et al., 1990; Birgersson et al., 1993; Abelin et al., 1994). Cependant, leur laborieuse mise en œuvre s'adapte difficilement dans les puits à parois instables caractéristiques des aquifères fracturés karstiques. Simple d'acquisition, la température de l'eau constitue une alternative qualitative aux tests précédents. Dans un système où les écoulements majeurs se font à la faveur de zones préférentielles suivant de fortes vitesses, la température de l'eau devient un traceur à la signature naturelle imposée par la température de l'encaissant. Le principe de base repose alors sur l'interprétation des déformations du gradient géothermique local. En l'absence de flux et d'arrivée d'eau conséquente dans le puits, la température de l'eau augmente graduellement avec la profondeur suivant le gradient géothermique local. Lorsque le forage intercepte des structures hydrauliquement actives et que des écoulements suffisants ont lieu entre ces structures, la distribution verticale des températures diffère de celle donnée par le gradient géothermique local (Keys, 1990). Si une méthodologie rigoureuse est observée, à savoir l'utilisation d'une sonde à faible temps de réponse et la descente de cette dernière à petite vitesse dans le puits, l'interprétation des profils de température constitue une source fiable d'informations sur le fonctionnement hydrodynamique d'un aquifère (Anderson, 2005; Goldscheider and Drew, 2007). Une application classique de cette mesure est de localiser les zones hydrauliquement actives par détection d'anomalies sur le profil de température (Trainer, 1968; Drury, 1989; Barton et al., 1995; Khristoforova and Khritoforov, 2006). L'interprétation de profils isothermes renseigne d'autre part sur les écoulements verticaux dans le forage et par voie de conséquence sur la distribution des gradients de charge hydraulique locaux (Keys, 1990; Bidaux and Drogue, 1993). En milieu fracturé, les rares études en « cross-borehole » constituent une utilisation particulièrement intéressante de la température pour la détermination de connexions préférentielles entre puits et structures d'écoulement. Ce type d'étude consiste à solliciter un puits et à regarder les modifications de la température dans un puits distant du puits pompé. Schürch and Buckley (2002), dont l'étude se déroule dans un aquifère fracturé karstique, détectent ainsi des modifications de la température de l'eau dans des puits situés à 60 et 285 m du puits sollicité. Ils en déduisent alors des circulations préférentielles le long d'une limite stratigraphique.

Dans l'objectif de juger de connexions inter-plan au droit du SEH, des profils de température pour différentes conditions hydrodynamiques ont été réalisés. Leur interprétation a été confrontée à des mesures de flowmétrie obtenues pour des conditions hydrodynamiques comparables (collaboration avec O. Bour et S. Ruelleu de l'UMR 6118, Géosciences, Rennes). L'intérêt de la combinaison des mesures de température et de flowmétrie pour le traçage des écoulements et la détermination de connexions préférentielles fait l'objet d'un article soumis à Journal of Hydrology (annexe 2). Les paragraphes suivants se focalisent sur les données de température en présentant dans un premier temps la méthodologie (échantillonnage, interprétation) et dans un deuxième temps une synthèse des principales conclusions.

## 2.2.1 Méthodologie

### 2.2.1.1 Echantillonnage

Les profils de température ont été réalisés en juin et novembre 2007 dans différentes conditions hydrodynamiques. Lors de la campagne de juin 2007, 28 forages ont été investigués en conditions :

- d'écoulement ambiant « naturel » (A),
- d'écoulement forcé par pompage au puits (PMW, Pumping at the Monitored Well)
- d'écoulement forcé par pompage sur un puits distant du puits observé, i.e. en cross-borehole (PDW, Pumping at a Distant Well).

Le pompage au puits (PMW) se caractérise par un stress de courte durée ( $\approx 1$  h) réalisé à l'aide d'une pompe placée au sein du forage à un débit moyen de  $12 \text{ m}^3/\text{h}$  pouvant être abaissé à  $3 \text{ m}^3/\text{h}$  pour les puits non productifs (M1, M9, M8, M18, M10, M14). Ce type de pompage génère un écoulement radial convergent dans l'environnement proche du puits pompé. L'acquisition des données de température débute  $\frac{1}{2}$  h après le début du pompage. En novembre 2007, la méthodologie de pompage change (campagne PDW). Elle considère un pompage à fort débit ( $\approx 40 \text{ m}^3/\text{h}$ ) générant un écoulement radial convergent à l'échelle du site. Le puits de pompage M7 a été retenu pour sa position centrale et son unique niveau producteur situé à 87 m de profondeur (Figure 17). Les mesures de température sont réalisées sur 12 puits entourant M7 une fois qu'un régime pseudo-permanent est instauré.

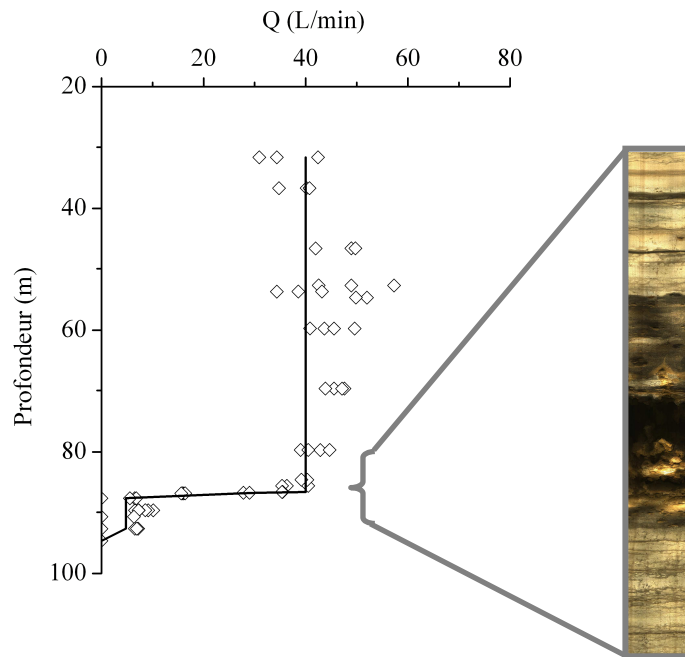


Figure 17 : Flowmétrie et diagraphie optique du puits M7 d'après Audouin (2007). Ce forage intercepte un plan karstique unique à 87-89 m de profondeur.

Les profils de température sont réalisés à l'aide d'une sonde multiparamètres (TROLL 9000) descendue manuellement à une vitesse suffisamment lente pour ne pas perturber la colonne d'eau ( $\approx 2 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ). La précision de la sonde est de  $0,1^\circ\text{C}$ .

#### 2.2.1.2 Interprétation des profils de température

L'interprétation des profils de température repose sur deux points :

- les différences de température entre la température mesurée et celle escomptée d'après le gradient géothermique local,
- les variations de température pour différentes conditions hydrodynamiques.

##### 2.2.1.2.1 Cas école

La Figure 18 présente les bases de la méthode d'interprétation. En l'absence d'écoulement entre zones conductrices ou d'interception de ces zones conductrices, la température de l'eau au sein du forage suit le gradient géothermique local imposé par la roche environnante. La température de l'eau augmente alors graduellement en fonction de la profondeur. Lorsque le puits intercepte des zones productrices et qu'il existe des écoulements entre ces zones, la température de l'eau est imposée par la zone ayant la plus forte charge hydraulique. Ainsi dans le cas de la Figure 18a, l'écoulement est descendant, la

température du profil est donc imposée par la zone conductrice superficielle. De par sa profondeur, la température caractéristique de la zone productrice induit des températures plus faibles que celles escomptées. On parle d'anomalie négative. Dans le cas (b), l'écoulement est ascendant. La température de l'eau est imposée par l'arrivée profonde. Le profil de températures indique donc des températures supérieures à celles escomptées, on parle d'anomalie positive.

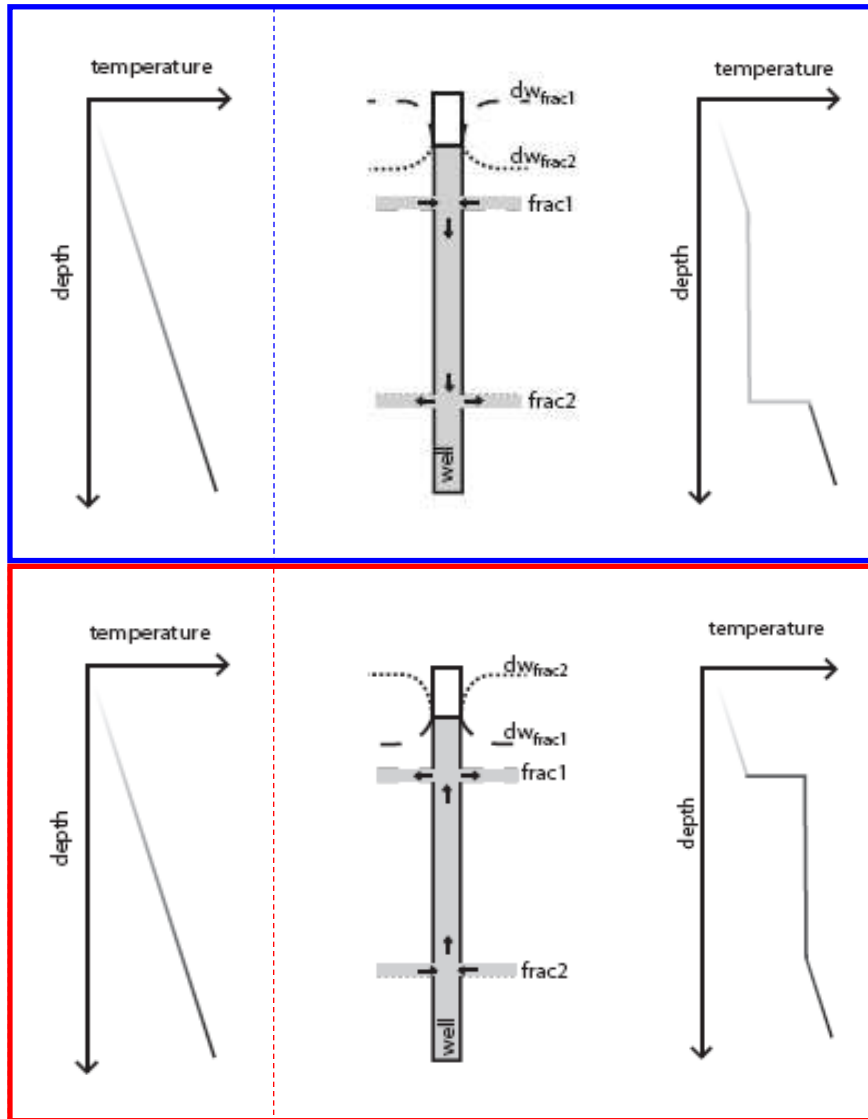


Figure 18 : Cas école de modifications d'un profil de température par des écoulements verticaux entre zones productrices. a) cas d'une anomalie négative, b) cas d'une anomalie positive. Dans les deux cas, le cadre de droite représente le gradient géothermique naturel en l'absence d'écoulement vertical.

### 2.2.1.2.2 Exemple des forages MP7 et M2

Avant de s'attacher à la description des profils, il est important de noter qu'en raison des propriétés de conductivité thermique des tubages acier et de l'absence de cimentation entre la roche et le tubage, il est possible de tracer thermiquement les écoulements ayant lieu derrière le tubage acier (annexe 2). Pour cette raison les exemples choisis sont présentés sur la totalité de la profondeur du puits.

#### *Gradient géothermique naturel*

Les forages non productifs M1 et M14 servent de référence pour le gradient géothermique naturel qui est de 2,5 °C/100m au droit du SEH (Figure 19).

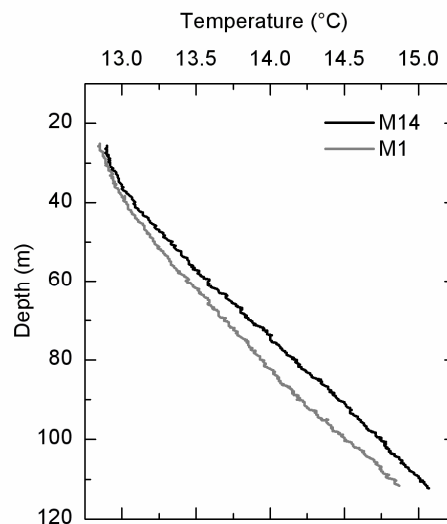


Figure 19 : Gradient géothermique mesuré au droit du SEH

#### *Forage MP7*

Quelles que soient les conditions hydrodynamiques (A, PMW, PDW) et la profondeur, les profils indiquent une température constante de 13 °C (Figure 20). En conditions A et PDW, cette anomalie négative indique sans équivoque un écoulement descendant entre le plan karstifié à 30-35m et le plan karstifié profond à 115 m. Un écoulement descendant en conditions PDW signifie que le plan karstique intercepté par le puits M7 (85-89 m) est en connexion avec le plan karstique profond intercepté par le puits MP7 (110-115 m).

Le pompage au puits engendre généralement un écoulement ascendant. Cependant, dans le cas particulier du forage MP7, Audouin (2007) note qu'un pompage à 3 m<sup>3</sup>/h est insuffisant pour

permettre l'inversion du flux descendant ambiant. Le profil de température en PMW donne donc lieu à deux hypothèses :

- A 12 m<sup>3</sup>/h comme à 3 m<sup>3</sup>/h, le pompage local est insuffisant pour inverser le flux ambiant. Dans ce cas, la température de l'eau est toujours celle du niveau karstique superficiel (30-35 m).
- le pompage à 12 m<sup>3</sup>/h est suffisant pour inverser le flux ambiant. Dans ce cas, la température anormalement basse du niveau profond témoigne d'une alimentation de ce dernier par un niveau superficiel. Ce phénomène peut être engendré par l'existence de fractures subverticales mettant en connexion préférentielle les deux plans karstiques dans l'environnement du puits. Comme nous allons le voir pour le puits M2, ce type de fonctionnement est observé sur d'autres puits (annexe 2).

Seul le puits MP7 est affecté par une incertitude sur le sens des flux en condition de pompage au puits (PMW). Pour l'ensemble des autres puits du site, le débit de pompage est suffisant pour inverser les flux ambiants.

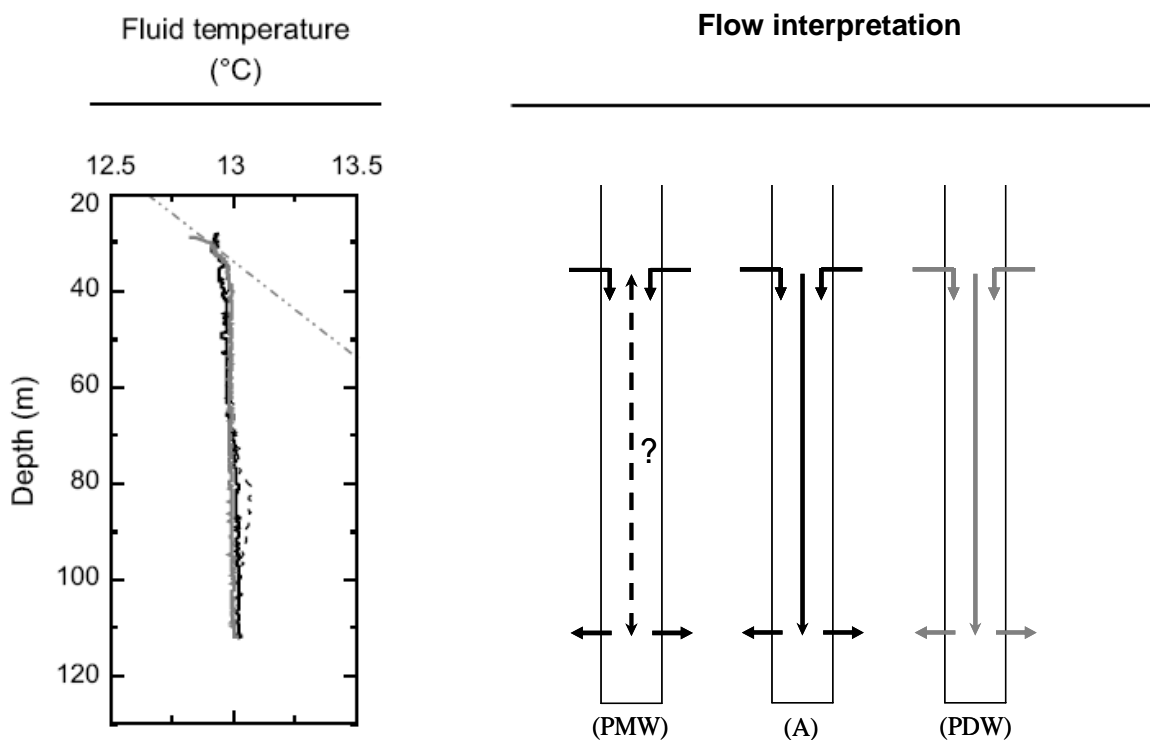


Figure 20 : Profils de température mesurés au forage MP7 en ambiant (A), pompage au puits (PMW) et pompage déporté en M7 (PDW).



## *Forage M2*

Dans ce cas précis, l'interprétation des profils débute par le profil en pompage au puits (PMW). La flowmétrie effectuée par Audouin (2007) nous assure que le débit de pompage au puits (PMW) est suffisant pour créer un écoulement ascendant. La Figure 21 indique que la température de l'eau croît de 115 m de profondeur (13,5 °C) à 60 m de profondeur (14,4 °C) avec une nette augmentation à partir de 70 m. La température anormalement faible du niveau karstique 110-115 m témoigne d'une alimentation de ce niveau par des eaux en équilibre thermique avec des strates superficielles. A l'inverse, l'arrivée d'eau située vers 65-70 m apporte une eau anormalement chaude par rapport à la température d'équilibre à cette profondeur (>14,4 °C au lieu de 13,7-13,8 °C). Ces mesures signifient que l'arrivée à 65-70 m est alimentée par des eaux en équilibre avec des niveaux plus profonds. Notons que la profondeur 65-70 m n'est pas associée à un plan karstique mais caractérise probablement une zone fracturée.

Sur la base de ces interprétations il est alors possible de comprendre les écoulements en ambient (A) et en pompage déporté (PDW) :

- En ambient, le profil est constant de 63 à 109 m de profondeur indiquant un écoulement descendant de l'arrivée anormalement chaude située entre 65-70 m vers le niveau profond à 110-115 m. On peut noter une baisse de la température pour des profondeurs supérieures à 109 m. Cette baisse de température témoigne d'un mélange des eaux provenant de 65-70m avec des eaux plus froides confirmant ainsi l'alimentation partielle du niveau profond par des eaux d'origine superficielle.

- La similitude des profils PMW et PDW indique qu'en conditions PDW, l'écoulement est ascendant de 110-115 m de profondeur vers les niveaux supérieurs. En conséquence, l'initiation du pompage sur M7 met en évidence une connexion préférentielle entre le plan karstique à 85-89 m de profondeur sur M7 et la zone productrice à 65-70 m sur M2.

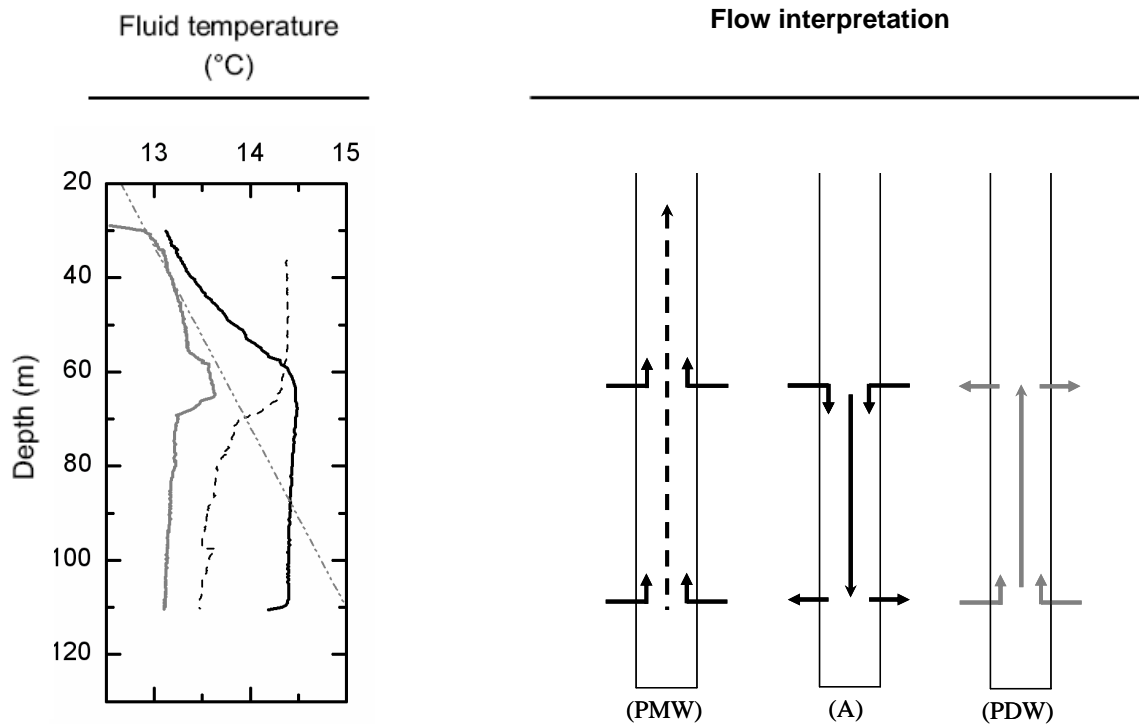


Figure 21 : Profils de température mesurés sur le forage M2 en ambient (A), pompage au puits (PMW) et pompage déporté en M7 (PDW). Seules les principales arrivées (110-115 m, 65-70 m) sont représentées.

### 2.2.2 Synthèse des résultats

Au travers des exemples présentés précédemment, il est important de retenir que dans le contexte hydrogéologique local, une anomalie de température a deux origines possibles :

- l'écoulement d'une eau dont la signature thermique témoigne d'une équilibration avec le niveau perméable par lequel elle s'écoule (cas école),
- l'écoulement d'une eau dont la signature thermique n'est pas à l'équilibre avec le niveau perméable par lequel elle s'écoule et dont l'écoulement rapide (condition nécessaire pour une non équilibration) est rendu possible par l'existence de structure (chenaux/fractures) de forte transmissivité.

Chaque anomalie doit en conséquence être traitée comme un cas particulier. C'est pourquoi nous ne présentons pas ici de cartes d'isothermes par profondeur. Ces cartes pourraient conduire à de fausses interprétations en amalgamant des processus responsables de ces anomalies.

Les points clés à retenir peuvent être synthétisés de la manière suivante :

- En ambient, 75 % des forages échantillonnés témoignent d'anomalies de température positives ou négatives (Figure 22).

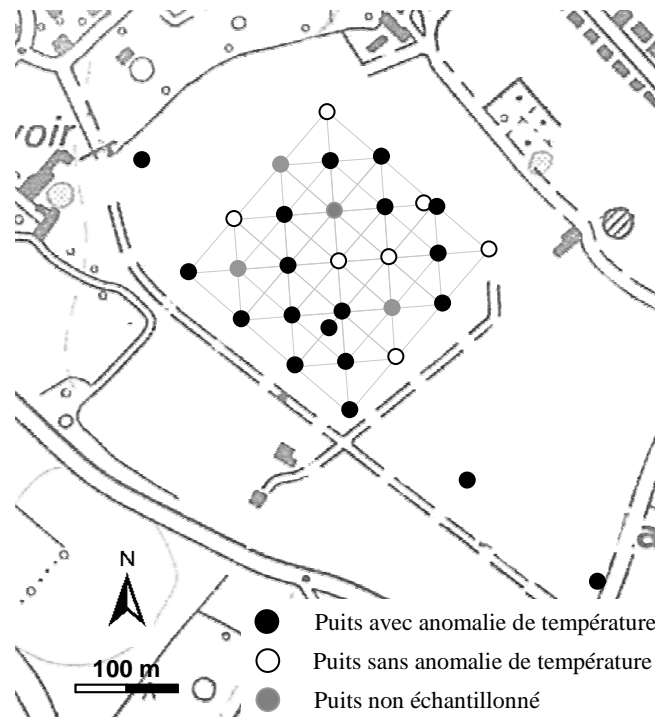


Figure 22 : Localisation des puits avec anomalies de température en écoulement ambient (A).

- Les anomalies témoignent de l'existence non négligeable de connexions entre les différents plans karstiques au droit des forages mais aussi dans leur environnement. Sont mises en évidence des connexions :
  - entre le plan superficiel 30-35 m et le plan intermédiaire 85-89 m,
  - entre le plan superficiel 30-35 m et le plan profond 110-115 m,
  - entre le plan intermédiaire 85-89 m et le plan profond 110-115 m.

Plusieurs puits (M2, M5, MP4, MP5, M16, M11) témoignent de zones productrices entre 65 et 75 mètres. Une synthèse des connexions par puits est présentée sur la Figure 23,

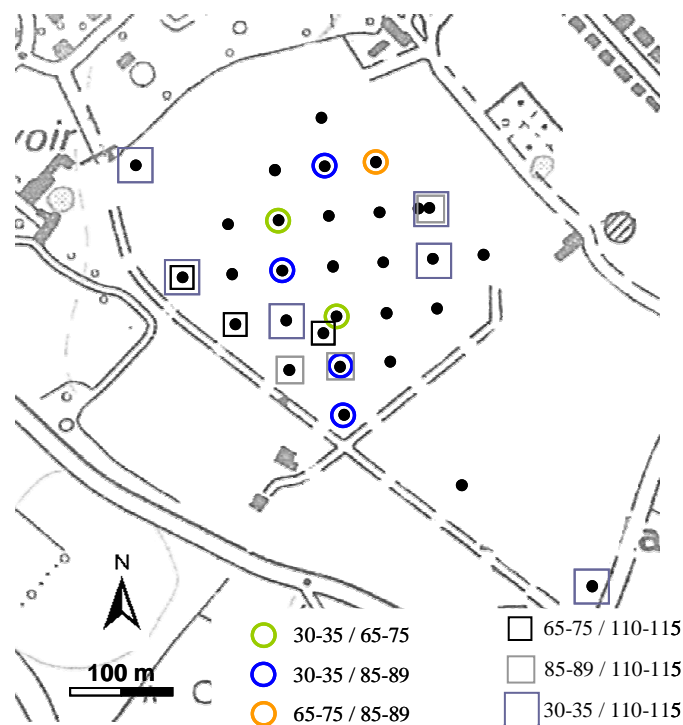


Figure 23 : Inventaires des écoulements inter-plans toutes conditions hydrodynamiques confondues (A, PMW, PDW). Profondeurs en mètres.

- En raison du caractère très transmissif de certaines structures de l'aquifère (chenaux, fractures subverticales), de faibles variations de charge hydraulique peuvent modifier considérablement les échanges entre plans. Si l'on prend l'exemple des forages MP7 (détaillé ci-dessus) et M5 (détaillé en annexe 2) espacés de seulement 106 mètres, on remarque que les deux forages interceptent des niveaux karstiques identiques (30-35 m et 110-115 m) mais que l'écoulement ambiant est descendant dans MP7 tandis qu'il est ascendant dans M5. Cette caractéristique aura pour conséquence d'engendrer des mélanges complexes entre différentes masses d'eau.
- Pour des conditions forcées à l'échelle du site (PDW), les profils de température mesurés sur les puits autres que le puits pompé M7 indiquent que le niveau sollicité par le pompage sur M7 (87 m) est en connexion préférentielle avec les niveaux principaux 110-115 m (M5, M15) et 30-35 m (MP6) et le niveau fracturé annexe 60-70 m (M13, M2).

### 2.2.3 Conclusion

Quelles que soient les conditions hydrodynamiques prévalant au droit du site (écoulement ambiant ou forcé), les profils de température indiquent des anomalies de température. Ces anomalies témoignent d'écoulements verticaux au sein des forages. Ces écoulements ne sont apparemment pas le seul fait de la foration qui induit une mise en relation de niveaux de charges hydrauliques différentes. En effet, les

anomalies de signature thermique témoignent de phénomènes identiques dans l'environnement des puits probablement rendus possible par l'existence de fractures subverticales. Dans le cadre de l'installation d'un pilote de dénitrification *in situ* demandant l'injection d'une source de nutriments ou d'un effluent à traiter, les échanges inter-plans mis en évidence en condition d'écoulement ambiant ou radial convergent tendent à limiter, sans moyen technique supplémentaire (packers), le confinement du traitement sur un niveau karstique.



## 2.3 Complément d'information 2 : Comportements hydrodispersifs

Les profils de température fournissent une information qualitative sur les échanges inter-plans. Dans le cadre d'un pilote incluant un pompage radial convergent, il est maintenant nécessaire de juger de l'influence de ces échanges sur le transfert d'un soluté. Il est notamment indispensable de disposer d'une mesure quantitative évaluant les pertes de soluté injecté. Pour répondre à cette question, des essais de traçage à la fluorescéine ont été réalisés entre différents doublets de puits : MP6-M7, M6-M7, M11-M7, M20-M7.

De plus, l'aquifère étudié se caractérise par des écoulements préférentiels, une géométrie du réseau de fracturation/chenaux et une densité de fracturation spatialement hétérogènes (Bourbiaud et al., 2007; Mari et al., 2009) ainsi que des propriétés hydrauliques tranchées entre la matrice calcaire ( $3 \times 10^{-11} < K < 8 \times 10^{-7} \text{ m.s}^{-1}$  d'après Chatevaire (2006)) et le système fractures/chenaux ( $K > 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$  d'après Audouin (2007)). Ces caractéristiques sont susceptibles d'influencer l'intensité de la dénitrification en conditionnant :

- la répartition des masses dans différents compartiments de l'aquifère (matrice/fracture/chenaux) aux propriétés de surfaces spécifiques réactives différentes,
- les vitesses d'écoulement de l'eau régulant le développement du biofilm d'une part et les temps de séjour dans le système d'autre part.

L'analyse des formes de courbes de restitution et la détermination des temps caractéristiques (temps moyen  $t_m$ , temps au pic de concentration  $t_{pic}$ ) constituent un premier pas vers la caractérisation des comportements hydrodispersifs.

### 2.3.1 Méthodologie des essais de traçage

#### 2.3.1.1 Conditions expérimentales

Les traçages s'effectuent entre un puits d'injection (M6, MP6, M11 ou M20) et un puits de pompage, le puits M7 (Figure 24). L'objectif étant de tester des connexions d'importance différente, les doublets ont été sélectionnés en fonction de la carte de diffusivité établie par Audouin (2007) (Figure 16). Ainsi le doublet M20-M7 se caractérise par une diffusivité supérieure à  $10^5 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ , les doublets M11-M7 et MP6-M7 par des diffusivités comprises entre  $10^3$  et  $10^4 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$  et le doublet M6-M7 par une diffusivité inférieure à  $10^3 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$  (cf. §2.1.3.2). Notons au passage que ces diffusivités extrêmement élevées, hors gamme pour un aquifère standard, découlent de l'interprétation de chocs hydrauliques investissant spécifiquement les chemins d'écoulement préférentiels.

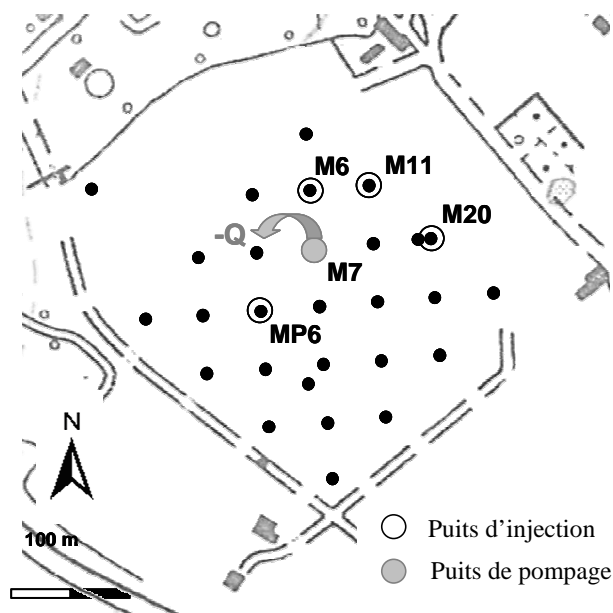


Figure 24 : Doublets retenus pour les essais de traçage

Afin qu'un régime pseudo-permanent soit en place pendant le traçage, le pompage débute huit jours avant l'essai. La pompe installée sur M7 possède une capacité de  $70 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ . Elle est positionnée à 50 m de profondeur. On rappelle que le puits M7 intercepte un niveau karstique unique à 87 m de profondeur (Figure 17). Selon les doublets, le débit moyen de pompage varie de 50 à  $72 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  (Tableau 3). L'injection instantanée du traceur s'effectue à l'aide d'une canne disposant d'un embout perforé. La solution injectée est chassée gravitairement par 180 litres d'eau (soit environ trois fois le volume de la canne pour une injection à 85 mètres). Les profondeurs d'injection sont reportées dans le Tableau 3.

Doublet	Date	Q ( $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ )	Distance inter-puits (m)	Profondeur d'injection (m)
M6-M7	18/10/2007	50	50	85
M11-M7	06/11/2007	72	70	85
MP6-M7	26/07/2007	70	70	70
M20-M7	04/10/2007	70	100	85

Tableau 3 : Débits, distances et profondeurs d'injection

Les traçages utilisent de l'uranine appelée communément fluorescéine ( $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{Na}_2\text{O}_5$ ). Il s'agit d'un traceur artificiel fluorescent classiquement utilisé en milieu souterrain en raison d'un seuil de détection bas (jusqu'à  $0,002 \mu\text{g/L}$  pour des eaux de turbidité nulle analysées avec un spectrofluorimètre de dernière génération) et de son faible coût (en comparaison d'autres traceurs fluorescents) (Käss, 1998). Les longueurs d'onde des spectres d'excitation et d'émission maxima sont respectivement de 491 et 512 nm.



Pour les doublets M20-M7 et MP6-M7, les échantillons sont prélevés manuellement ou automatiquement à l'aide d'un préleveur programmable. Les pas de temps varient de 2 minutes à 1 heure. Les échantillons, conservés dans le noir, sont ensuite analysés dans les 48 h sur un spectrofluorimètre FluoroMax®-3. Pour les doublets M6-M7 et M11-M7, une sonde fluorimètre GGUN-FL analyse en continu l'eau de pompage (pas de temps d'acquisition égal à 1 minute). Ces analyses sont doublées, à pas de temps plus espacés, de prélèvements manuels et automatiques permettant de vérifier l'étalonnage de l'appareil de terrain. Le fond géochimique en fluorescéine est nul pour les essais M6-M7, M20-M7 et M11-M7. Pour le doublet MP6-M7, une erreur expérimentale a nécessité de réitérer le traçage. Pour cette raison le fond géochimique est de 0,3 µg/L lors du second traçage.

### 2.3.1.2 Critères de comparaison des courbes de restitution

Trois critères ont été retenus pour une première analyse des courbes de restitution :

#### 1- Le taux de restitution

Le taux de restitution permet d'évaluer les « pertes » de soluté dans le système étudié pour en déduire l'état des connexions entre les puits testés. Le taux de restitution Tx se calcule à partir de la courbe de restitution par :

$$Tx(\%) = \frac{Q \int_0^{\infty} C dt}{M} * 100 \quad (7)$$

dt le pas de temps d'échantillonnage [T<sup>-1</sup>]

C la concentration mesurée [M.L<sup>-3</sup>]

Q le débit [L<sup>3</sup>.T<sup>-1</sup>]

M la masse injectée [M]

#### 2- Le temps moyen de transit du traceur t<sub>m</sub> et la variance des temps σ<sub>t</sub><sup>2</sup>

Ces deux moments temporels sont établis respectivement comme :

$$t_m = \frac{\int_0^{\infty} tC(t)dt}{\int_0^{\infty} C(t)dt} \quad (8)$$

et

$$\sigma_t^2 = \frac{\int_0^{\infty} (t-t_m)^2 C(t)dt}{\int_0^{\infty} C(t)dt} \quad (9)$$

Le calcul des intégrales requiert un temps d'acquisition suffisamment long pour répondre à la limite supérieure de l'intégrale, i.e.  $t \rightarrow \infty$ . En pratique, les relations (8) et (9) ont du sens lorsque les calculs sont effectués sur une courbe de restitution pour laquelle les concentrations aux derniers temps d'échantillonnage tendent vers 0. Dans notre cas, l'acquisition a parfois été interrompue précocement (cas M11-M7 et M6-M7). Pour les doublets concernés, la fin des queues de restitution est approchée à l'aide d'une exponentielle décroissante.

Dans le cas d'un écoulement monodimensionnel en milieu homogène semi-infini, les paramètres  $t_m$  et  $\sigma_t^2$  peuvent être rattachés aux paramètres de transport d'une équation d'advection-dispersion (Fried and Combarous, 1971; Wang, 1987):

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - u \frac{\partial C}{\partial x} \quad (10)$$

$u$  la vitesse moyenne de pore [ $L.T^{-1}$ ]

$D$  la dispersion longitudinale du milieu en [ $L^2.T^{-1}$ ] égale au produit de la dispersivité  $\alpha$  et de la vitesse  $u$

avec :

$$u = \frac{x}{t_m} \quad (11)$$

$x$  la distance entre le puits pompé et le puits d'injection [ $L$ ].

et

$$\alpha = \frac{x}{2} \left( \frac{\sigma_t}{t_m} \right)^2 \quad (12)$$

$\alpha$  la dispersivité [ $L$ ]

Toutefois, les tests conduits par Maloszewski and Zuber (1990) démontrent que l'utilisation abusive des relations (11) et (12), notamment dans des systèmes hétérogènes tels que les milieux fracturés, conduit bien souvent à une estimation erronée des paramètres de vitesse moyenne et de dispersion. En raison de l'asymétrie des courbes de restitution et des composantes multimodales parfois observées, la méthode des moments sera limitée à la comparaison des opérateurs mathématiques  $t_m$  et  $\sigma^2$ .

### 3- La forme des courbes de restitution

Cette approche se base sur les travaux de Hauns et al. (2001) qui évaluent l'impact de la géométrie des conduits karstiques et des structures géologiques (piscine, by-pass, rapide) sur la forme des courbes de restitution au travers d'un pourcentage de retard R. La méthode consiste à modéliser le pic de la courbe de restitution à partir d'une solution analytique 1D de l'équation (10) en milieu infini et pour une injection instantanée (Crank, 1956; Bear, 1972):

$$C(t) \equiv \frac{1}{\sqrt{4\pi D_{pic} t}} e^{\left( -\frac{(L-u_{pic}t)^2}{4D_{pic}t} \right)} \quad (13)$$

$u_{pic}$  la vitesse d'écoulement moyenne caractérisant le pic [ $L.T^{-1}$ ]

$D_{pic}$  la dispersion décrivant l'étalement des concentrations au pic [ $L^2.T^{-1}$ ]

On considère alors le temps  $t_{pic}$ , temps pour lequel la concentration maximum  $C_{max}$  est atteinte, et le temps  $t_{mid}$ , temps associé à la moitié de la concentration maximum ( $C_{mid} = C_{max}/2$ ). On peut alors définir les termes u et D de l'équation (13) de la manière suivante (Hauns et al., 2001):

$$u_{pic} = \frac{L}{t_{pic}} \quad (14)$$

$$D_{pic} = -\frac{(L-u_{pic}t_{mid})^2}{4t_{mid} \ln\left( \frac{1}{2} \sqrt{\frac{t_{mid}}{t_{pic}}} \right)} \quad (15)$$

Puisque

$$\exp\left( -\frac{(L-u_{pic}t_{mid})^2}{4D_{pic}t_{mid}} \right) = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{t_{mid}}{t_{pic}}} \quad (16)$$

Une fois  $u_{pic}$  et  $D_{pic}$  calculés, une courbe modèle peut être tracée à partir de la relation **(13)** et comparée à la courbe expérimentale. Un facteur de retard appelé R est alors calculé à partir de la différence d'aire  $A_{exp}$  et  $A_{pic}$  sous les deux courbes :

$$R(\%) = \frac{A_{exp} - A_{pic}}{A_{pic}} * 100 \quad (17)$$

### 2.3.2 Résultats des essais de traçage

Les taux de restitution sont supérieurs à 60 % et peuvent atteindre 90 % (Figure 25). Le nettoyage des puits d'injection par pompage indique qu'une partie de la masse non restituée se trouve au fond du forage résultant probablement d'effets densitaires entre l'eau et la solution de fluorescéine à 20 g.L<sup>-1</sup>.

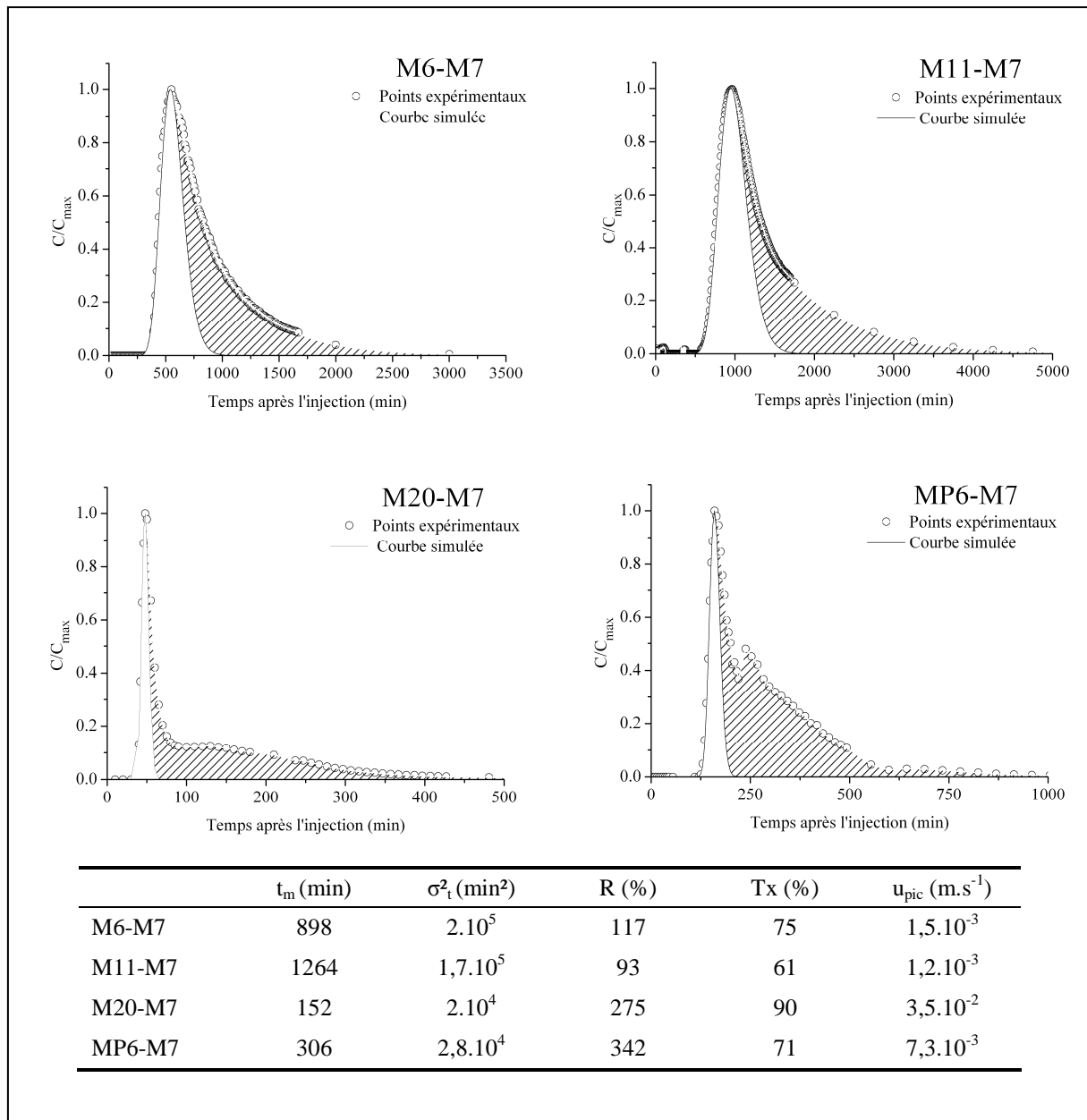


Figure 25 : Courbes de restitution obtenues et paramètres généraux associés aux essais de traçage. La partie hachurée correspond au facteur de retard R, différence entre la courbe en advection-dispersion calée au pic et la courbe expérimentale.

A débit comparable ( $\approx 70 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ), le temps moyen de transit  $t_m$  du traceur varie de 152 à 1264 minutes pour des distances inter-puits respectives de 100 et 50 mètres.

Les courbes témoignent de queues de restitution non simulables par une seule équation d'advection dispersion (facteur retard  $R > 90 \%$ ). Deux gammes de facteur retard peuvent être dissociées :

- Les courbes présentant un R supérieur à 250 % (M20-M7 et MP6-M7). La variance des temps est de l'ordre de  $2\text{-}3 \cdot 10^4 \text{ min}^2$ . Les pics de concentration sont abrupts et les concentrations faiblement diluées. Un double pic est observé pour le doublet MP6-M7.

- Les courbes ayant un R autour de 100 % (M6-M7 et M11-M7). La variance des temps est d'un ordre de grandeur supérieur à celle des doublets M20-M7 et MP6-M7. Les pics sont moins abrupts et le facteur de dilution plus important.

### 2.3.3 Discussion-conclusion

Les pertes de soluté dans le système souterrain s'échelonnent de 10 à 40 %. Alors que les pertes les plus importantes (30-40 %) semblent limitantes quant à l'installation d'un procédé de traitement (pollution incontrôlée du milieu), l'observation des forages d'injection permet d'affirmer qu'elles sont surévaluées. L'évaluation du risque de pollution incontrôlée nécessiterait la détermination de la masse restée au puits d'injection par effet densitaire. Si l'on considère alors que les taux obtenus sont des taux minimums, on peut avancer qu'en dépit de circulations inter-plans (30-35 m sur MP6, 100 m sur M20), les connexions sont suffisamment développées pour limiter la perte de soluté.

Pour un débit de pompage de  $70 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ , les temps moyens de transit varient de 3 à 21 h indépendamment de la distance inter-puits. En conséquence, les essais de traçage démontrent qu'à débit imposé, la gestion des temps de séjour d'un soluté ne passe pas par la gestion de l'écartement entre forages mais nécessite indéniablement l'évaluation des connexions inter-puits. Dans ce contexte, il apparaît que les données de diffusivité établies par chocs hydrauliques fournissent une information qualitative (connectés/non connectés) mais que la valeur même de diffusivité est insuffisante pour prédire les temps relatifs de transfert de masse entre deux forages. Si l'on classe les doublets par diffusivité croissante, on obtient  $M6 < MP6 / M11 < M20$  tandis que l'inverse des temps  $1/t_m$  et  $1/t_{pic}$  donnent  $M11 < M6 < MP6 < M20$ . Alors que la diffusivité ne voit que les principales structures conductrices de pression (chenaux), la distribution des concentrations en fonction du temps intègre, en supplément, la géométrie du réseau ainsi que l'échantillonnage de zones à réponse lente en pression (matrice fracturée). Les essais de traçage sont donc indispensables pour évaluer les connexions entre puits.

L'influence de l'injection sur le développement anormal des queues de restitution ne peut être écartée. Cependant, ces formes de courbe sont classiquement observées dans des environnements à porosités multiples (chenaux/fractures/matrice). Elles résultent de l'hétérogénéité des vitesses engendrée par la variabilité des propriétés hydrodynamiques et/ou structurales de l'aquifère. Comme précisé en introduction, ces caractéristiques vont conditionner la réaction de dégradation au travers de la partition de la masse entre différents compartiments de l'aquifère aux temps de séjour et propriétés réactives différenciés. Si l'on prend l'exemple des surfaces spécifiques réactives, il est ainsi probable que les chenaux karstiques présentent une potentialité dénitrifiante moins importante qu'un réseau de fractures en raison d'une surface spécifique moindre. A l'heure actuelle, les études portant sur la relation entre

la typologie des réseaux de fractures/chenaux (orientation, ouverture, densité, rugosité, régularité) et la forme des courbes de restitution concluent que différentes architectures sont en mesure de conduire à des courbes de restitution identiques (Hauns et al., 2001; Johnston et al., 2009). Sur la base de ce constat, il est donc délicat de chercher à ségréger les processus responsables des formes de courbe et les fractions massiques concernées. L'évaluation avancée des potentialités dénitrifiantes du site associées aux comportements hydrodispersifs observés nécessite le développement de modèles continus ou discrets qui puissent résoudre correctement le transport et la réaction de dénitrification.

Les premières conclusions pouvant être avancées concernent les doublets M20-M7 et MP6-M7 dont la composante convective prononcée témoigne d'une chenalisation des écoulements au travers d'une ou deux connexions directes et rapides avec le puits de pompage. Ces caractéristiques sont susceptibles de rendre les doublets M20-M7 et MP6-M7 particulièrement sensibles à des variations de concentrations d'entrée dans le système générant alors des pics de soluté dans les eaux de sortie. Les temps caractéristiques plus élevés des doublets M11-M7 et M6-M7 peuvent avoir plusieurs origines. D'une part, le traceur peut échantillonner des structures de propriétés hydrauliques différentes de celles échantillonnées sur les doublets M20-M7 et MP6-M7. D'autre part, le traceur peut échantillonner des structures de propriétés hydrauliques identiques mais dont la géométrie diffère. Cette dernière hypothèse semble cependant peu probable au regard de l'échelle considérée (70/100 m) et du facteur 10 sur les temps de transfert entre les deux groupes de doublets.

Un dernier point concernant les vitesses  $u_{pic}$  mérite d'être relevé. Le développement du biofilm (adhésion, croissance) dépend pour partie des forces de cisaillement qui s'exercent dans le milieu (Derlon et al., 2008), forces variant en fonction de la vitesse de l'eau et de l'état du support en contact. Les vitesses  $u_{pic}$ , qui s'échelonnent de  $1,2 \cdot 10^{-3}$  à  $3,5 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ , constituent des repères potentiels à tester sur le pilote *ex situ* pour juger de leur influence sur l'implantation du biofilm et les performances de dénitrification.





## 2.4 Complément d'information 3 : Dynamique des nitrates au droit du SEH

La dynamique des nitrates au droit du site est le reflet de l'activité dénitrifiante naturelle. Le succès du pilote repose sur la connaissance des zones dénitrifiantes actives ou des zones dont les conditions physico-chimiques sont les plus favorables à l'initiation d'un processus de dénitrification. Afin d'appréhender cette problématique, il convient de faire le point sur les sources et de différencier les processus affectant les concentrations en nitrates. Lorsque les composantes de l'écoulement souterrain sont connues, l'inter-comparaison des concentrations en cations et anions majeurs permet de dissocier correctement le processus de dénitrification des processus de mélange entre masses d'eau (Panno et al., 2001; Molénat et al., 2002; Pauwels and Talbo, 2004; Duff et al., 2007). L'analyse des isotopes de l'azote  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  est bien souvent associée à cette démarche pour confirmer ou infirmer les processus mis en jeu (Mariotti et al., 1988; Smith et al., 1991; Sebilo et al., 2003). Cette technique seule engendre cependant des incertitudes lorsque des sources de signatures isotopiques différentes affectent les mêmes eaux (Xue et al., 2009). Il devient alors nécessaire d'y coupler d'autres analyses telles que des mesures isotopiques de l'oxygène (Liu et al., 2006; McCallum et al., 2008) ou du soufre (Schwientek et al., 2008). L'étude suivante adopte une démarche principalement basée sur l'interprétation de la chimie des majeurs et de quelques analyses de pesticides pour comprendre la dynamique des nitrates dans les eaux de l'aquifère supra-toarcien au droit du SEH. Des analyses isotopiques du  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates sont aussi disponibles. L'objectif est de cerner 1) si une atténuation naturelle des nitrates est observable, 2) si celle-ci est caractéristique de certaines zones ou plans de l'aquifère. L'étude s'appuie sur les résultats de trois campagnes de prélèvements détaillées dans le Tableau 4.

Campagne	Date	Objet	Collaboration
P2007	04/2007	Cations et anions majeurs	-
P2008	06/2008	Cations et anions majeurs, isotopes $\delta^{15}\text{N}$	M. Sebilo (BIOEMCO, UMR 7618)
P2009	05/2009	Pesticides	-

Tableau 4 : Récapitulatif des campagnes d'hydrochimie

## 2.4.1 Méthodologie

### 2.4.1.1 Prélèvements

La campagne P2007 concerne 24 puits interceptant l'aquifère du Dogger et 1 puits interceptant l'aquifère infra-toarcien. Les prélèvements sont réalisés en sortie de pompe après ½ heure de pompage à 12 m<sup>3</sup>/h (pour les puits non productifs le débit est abaissé à 3 m<sup>3</sup>/h).

La campagne P2008 intéresse 8 puits interceptant l'aquifère cité précédemment. Le prélèvement est effectué en ambient ou en pompage à 12 m<sup>3</sup>/h, directement au sein du forage à l'aide d'un préleveur automatisé (Water sampler, Robertson Geologging). Ce mode de prélèvement permet d'échantillonner préférentiellement certaines zones productrices. La Figure 26 replace les échantillons dans le contexte d'écoulement au moment du prélèvement. La détermination des principales arrivées d'eau et le sens des écoulements verticaux résultent de l'analyse des profils de température et de flowmétrie (§ 2.2). Lorsqu'une circulation préférentielle intervient dans l'environnement du puits engendrant une signature thermique anormale, l'origine de l'eau est précisée par  $T_{\text{shallow}}$  lorsque l'influence est superficielle et  $T_{\text{deep}}$  pour une influence profonde.

P2009 est une campagne pour laquelle 8 puits sont échantillonnés à l'aide d'un préleveur à main à des profondeurs identiques à P2008.

L'annexe 3 recense les puits concernés par les différentes campagnes de prélèvements.

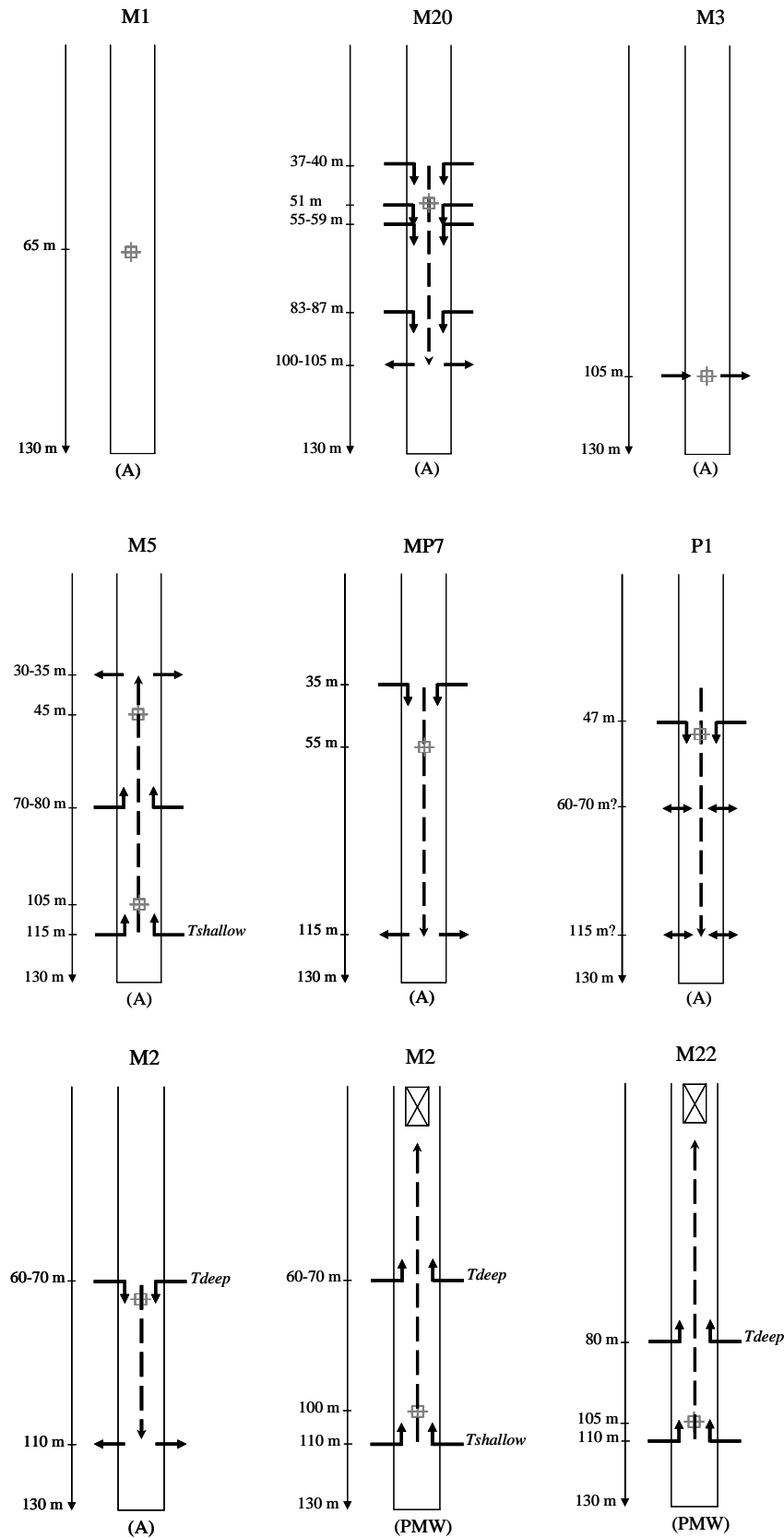


Figure 26: Puits échantillonnés lors de la campagne P2008. Les principales structures conductrices ainsi que le sens des flux sont établis à partir des profils T-Flow (§ 2.2). Conditions hydrodynamiques : (A) ambient, (PMW) pompage au puits.

### 2.4.1.2 Analyses

Les échantillons sont filtrés à 0,22 µm sur des filtres nylon. Ils sont ensuite conservés à 4 °C et analysés dans les 72 heures. Les échantillons destinés aux analyses isotopiques du  $\delta^{15}\text{N}$  sont congelés. Pour chaque campagne, les éléments analysés ainsi que les méthodes d'analyse sont reportés dans le Tableau 5.

Eléments analysés	Campagne concernée	Méthodes	Laboratoire d'analyse
$\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{Cl}^-$ et $\text{SO}_4^{2-}$	P2007, P2008	Chromatographie ionique (NF EN ISO 10304)	IANESCO pour P2007, HydrASA pour P2008
$\text{PO}_4^{3-}$	P2007, P2008	Flux continu (NF EN ISO 15681-2) en 2007, chromatographie ionique en 2008	IANESCO pour P2007, HydrASA pour P2008
$\text{HCO}_3^-$	P2007, P2008	Potentiométrie (NF EN ISO 9963-1)	IANESCO
$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$	P2007, P2008	Spectrométrie d'absorption atomique (NF EN ISO 7980)	IANESCO
$\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$	P2007, P2008	Spectrométrie d'émission de flamme (NF T 90-019) pour P2007 et P2008	IANESCO
$\text{NH}_4^+$	P2007, P2008	Flux continu (NF EN ISO 11732)	IANESCO
Carbone Organique Dissous COD	P2007	Oxydation chimique (NF EN 1484)	IANESCO
Triazine, Isoproturon	P2009	Chromatographie phase liquide couplée à un spectromètre de masse	IANESCO
Glyphosate et AmPA (Acide aminométhylphosphonique)	P2009	Chromatographie phase liquide couplée à un spectrofluorimètre	IANESCO
$\delta^{15}\text{N}$	P2008	Microquantité/spectromètre de masse isotopique	BIOEMCO (M. Sebilo)

Tableau 5 : Eléments analysés sur les échantillons prélevés et techniques d'analyse

## 2.4.2 Résultats et discussion

### 2.4.2.1 Ségrégation en provinces hydrochimiques

Les eaux de l'aquifère supra-toarcién ont un faciès bicarbonaté calcique (Figure 27). Sur la base des différences de concentrations en nitrates, chlorures, bicarbonates, sodium, calcium et des différences de valeurs de conductivité  $\sigma$  mesurées entre les différents puits, une ségrégation en 4 provinces chimiques est réalisée (Tableau 6). L'utilisation du test non paramétrique de Mann Whitney (annexe 4) nous assure que les moyennes caractéristiques en nitrates, chlorures et conductivité diffèrent entre les groupes 1/2, 1/3, 1/4, 2/3 et 3/4. Notons qu'au regard du faible nombre de puits dans les provinces 2 et 4, le test de Mann Whitney ne peut être appliqué pour s'assurer de la différence de moyenne. Cependant, les valeurs de conductivité et de concentrations en  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  du groupe 2 sont toujours supérieures à celles du groupe 4. On considère donc que ces deux provinces ont des caractéristiques chimiques dissociées. Hormis pour la comparaison des groupes 3/4, le test de Mann Whitney appliqué aux cations  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^+$  indique une différenciation similaire à celle établie pour les paramètres  $\sigma/\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$ . Pour les bicarbonates  $\text{HCO}_3^-$ , la ségrégation 1/3, 1/4 et 2/3 persiste. En revanche, les moyennes sont statistiquement égales entre les groupes 1/2 et les groupes 3/4. Le potassium, le magnésium et les sulfates ne constituent pas des paramètres discriminants des 4 groupes d'eaux.

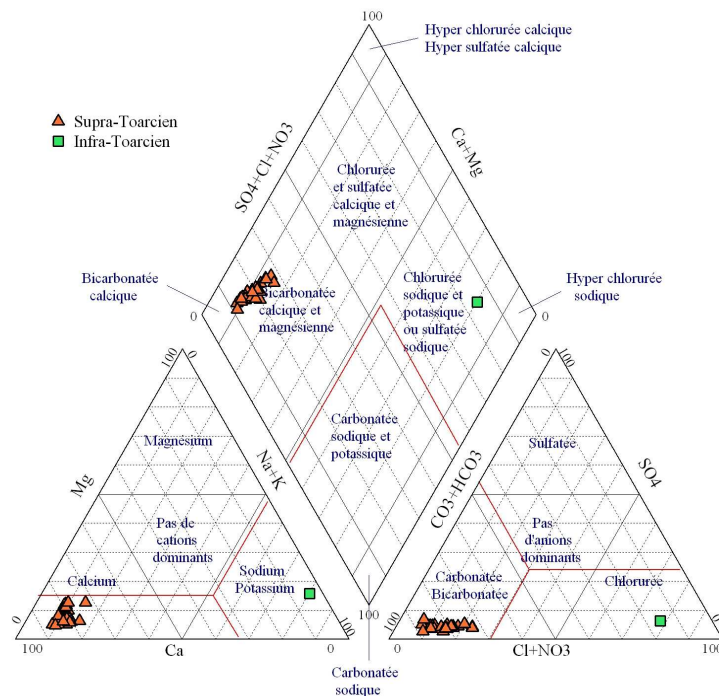


Figure 27 : Analyses hydrochimiques des eaux des aquifères supra-toarcién et infra-toarcién reportées dans un diagramme de Piper. Les eaux supra-toarciennes ont un faciès bicarbonaté-calcique ; les eaux infra-toarciennes un faciès chloruré-sodique.

La minéralisation des eaux est décroissante du groupe 1 au groupe 4. La baisse des concentrations affecte simultanément les deux pôles principaux de la minéralisation, i.e. le pôle des équilibres calco-carboniques ( $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$ ) et le pôle des apports anthropiques ( $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-/\text{Na}^+$ ). Les concentrations en nitrates s'échelonnent de 0 à 52 mg/L pour des puits espacés de seulement 200 mètres. Le groupe 1 a une teneur moyenne de  $37 \pm 7$  mg $\text{NO}_3^-$ /L, le groupe 2 de  $15 \pm 1$  mg $\text{NO}_3^-$ /L, le groupe 3 de  $11 \pm 1$  mg $\text{NO}_3^-$ /L et le groupe 4 de  $3 \pm 4$  mg $\text{NO}_3^-$ /L. Ni ammonium, ni nitrite, ni phosphate ne sont détectés. Les groupes 1 et 2 montrent des teneurs en oxygène dissous de 3,4 mg/L, le groupe 3 témoigne de concentrations deux fois moindre et le groupe 4 en est quasiment dépourvu. Les teneurs en carbone organique dissous (COD) sont inférieures à 1 mg/L.

	$\sigma$	COD	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{Cl}^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	pH*	$\text{O}_2^*$
	$\mu\text{S/cm}$	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L		mg/L
<b>Groupe 1</b>	727	0,6	127	6,7	22	1,3	372	37	30	16	7,06	3,4
(M8, M1, M10, M14, M3, M6, M4, M11, M15, M17, M20)	27	0,2	4	1,2	3	0,3	15	7	6	3	0,08	0,7
<b>Groupe 2</b>	642	0,4	117	4,8	16	1	356	15	20	13	7,04	3,4
(M5, M16, MP7)	2	0,2	3	0,3	0,6	0	1	1	0	0,6	0,03	0,4
<b>Groupe 3</b>	599	0,4	104	8,5	13	1	336	11	17	14	7,12	1,6
(M2, M21, M22, MP4, MP5, MP6, M13)	7	0,1	5	0,8	1	0,1	6	1	1	0	0,07	0,3
<b>Groupe 4</b>	573	0,5	101	7,5	12	0,8	327	3	15	17	7,16	0,3
(P1, M24, M19)	14	0,3	8	3,1	1	0,2	12	4	1	3	0,09	0

Tableau 6: Caractéristiques chimiques des groupes d'eaux supra-toarciennes échantillonnées sur le SEH. Les écart-types sur la mesure sont indiqués en italique. \* mesurés in situ à l'aide d'une sonde multiparamètres (Cf. §2.2).

La Figure 28 reporte les groupes 1, 2, 3 et 4 formant des provinces à l'échelle du site. On remarque alors que :

- la province 1 comprend à la fois des puits non productifs (M1, M8, M9, M10, M14), i.e. des puits interceptant uniquement la matrice calcaire faiblement perméable et des puits productifs (M20, M11, M6, M3, M4, M7, M15, M17), i.e. des puits interceptant des structures fortement perméables telles que les fractures et des chenaux karstiques,
- les provinces 2, 3 et 4 sont constituées de forages productifs interceptant un ou plusieurs niveaux producteurs (§ 2.1.2.3 et § 2.2),
- les provinces ne s'organisent pas selon le gradient hydraulique régional symbolisé par la flèche orientée NNO.

- les remplissages argileux riches en pyrite et matière organique sont présents au sein des 4 provinces.

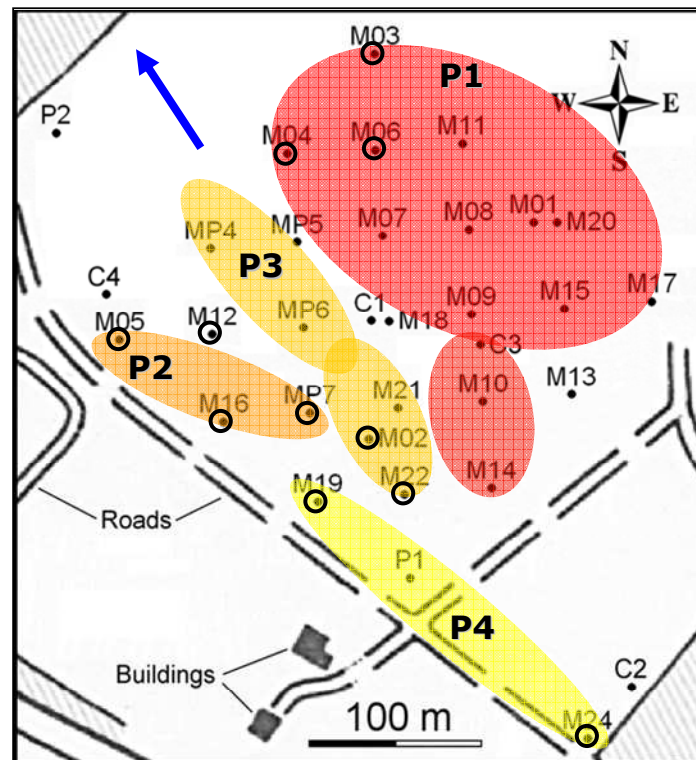


Figure 28 : Provinces hydrochimiques supra-toarciennes P1, P2, P3 et P4. La flèche bleue indique le sens et l'orientation du gradient hydraulique régional. Les puits cerclés en noir sont affectés par des remplissages argileux riches en pyrite et matière organique (§ 2.1.2.2).

L'hydrochimie d'un échantillon P2007 est influencée par le mélange des eaux provenant des niveaux sollicités par le pompage. La campagne P2008 (Tableau 7) permet de déterminer si la représentation en province est un artefact du mode de prélèvement, i.e. si la zonation est indépendante ou non du niveau producteur stimulé. Les puits M1, M20 et M3 appartiennent initialement à la province 1, les puits M5 et MP7 à la province 2, les puits M2 et M22 à la province 3 et le puits P1 à la province 4. En raison des circulations préférentielles existant entre les plans karstiques, la comparaison des données nécessite de prendre en compte la profondeur du niveau échantillonné ET l'origine superficielle ou profonde de cette eau (Figure 26).

Well & Sampling depth (m)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	Cl <sup>-</sup> mg/L	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/L	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Mg/L	Ca <sup>2+</sup> mg/L	Na <sup>+</sup> Mg/L	K <sup>+</sup> mg/L	Mg <sup>2+</sup> mg/L	Pesticides* µg/L	T** °C	O <sub>2</sub> ** mg/L	pH** -
M1-65	30,6	31,7	22,9	375	130	20	1,4	11	0,27	13,6	1,7	7,14
M20-51	37,6	33,2	15	383	135	20	1,9	6	0,23	13,2	4	7
M3-105	28,6	26,4	16	367	125	17	1,3	8	0,18	14,67	2,7	7,16
M5-45	14,5	20,5	13,1	363	120	15	1	5,5	0,09	13,8	3,2	6,99
M5-105	14,2	20,4	12,9	364	120	15	1	5,5	-	13,9	3,3	7,21
MP7-55	14,3	20,8	11,6	360	120	15	1	4,5	0,08	13	3,7	7,1
M2-66	8,8	18,5	14,5	330	105	12	1,1	8,5	0	14,5	1,4	7,14
M2-100	9,7	18,5	16,1	329	105	12	1	8,5	-	(13,5)	(3,4)	(7,08)
M22-105	10,6	18,4	16	336	110	12	1,2	8,5	0,07	14,7	1,5	7,24
P1-47	0	16,5	21,8	321	97	12	0,9	10	0	13,9	0,2	7,15

Tableau 7 : Résultats hydrochimiques P2008. \* triazine, isoproturon, glyphosate et AmPA lors de P2009, \*\* conductivité électrique à 25°C, température, oxygène dissous et pH mesurés in situ en juin 2007 pour des conditions hydrodynamiques similaires à P2008.

Les points M3-105 et M22-105 échantillonnent des eaux à l'équilibre thermique avec le niveau karstique profond 105-110 m. Les analyses montrent des caractéristiques chimiques différenciées. Il en est de même pour les points M20, MP7 et P1 qui échantillonnent des eaux à l'équilibre avec le niveau superficiel 30-40 m. Dans les deux cas, les puits appartiennent initialement à des provinces hydrochimiques différentes pour des eaux provenant d'un même niveau producteur.

Les prélèvements M20 et M3 échantillonnent des eaux respectivement équilibrées avec les niveaux 37-40 m et 105 m (Figure 26). Le prélèvement M1 échantillonne une eau matricielle (puits non producteur). Les concentrations en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup> et HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> mesurées sur ces trois puits sont comparables aux moyennes de la province 1 en 2007. Ces puits ont une chimie identique pour des modes d'alimentation (matrice/fractures-chenaux) ou des niveaux d'alimentation (37-40 m / 105 m) différents.

En conséquence, malgré un échantillonnage par niveau (P2008), la zonation chimique mise en évidence par des échantillons moyens par puits (P2007) perdure. A l'échelle du site, l'existence de provinces (province 2 mise à part, voir ci dessous), n'est apparemment pas liée à la stratification des écoulements. La zonation n'est pas le reflet de caractéristiques chimiques typiques des différents plans karstiques.

La province 2 semble constituer l'exception à la règle. En effet, les eaux échantillonnées sur M5 à 105 m sont en partie d'origine superficielle (visible par anomalie de signature thermique). Cette origine



superficielle se traduit par des teneurs en oxygène dissous et des concentrations identiques à celles de l'échantillon MP7 à 55 m. Une signature chimique locale du niveau 30-40 m serait à l'origine de la province 2. Cette signature semble très localisée car le prélèvement M2-100m, lui-même sous influence superficielle en pompage ( $T = 13,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ), témoigne d'une chimie différente de celle de la province 2 et appartenant typiquement à la province 3. Il en est de même pour le prélèvement M20-51 qui échantillonne le plan superficiel mais dont la chimie diffère significativement de celle de la province 2.

Afin d'expliquer les différences de chimie mesurables à l'échelle du site, d'autres conjectures doivent être envisagées. L'éventualité d'une dilution des eaux supra-toarciennes par les eaux infra-toarciennes est rejetée. En effet, la nappe supra-toarcienne, séparée de la nappe infra-toarcienne par 10 à 15 mètres de marnes sèches à la foration, possède une charge hydraulique supérieure (10 m d'eau) à celle de la nappe infra-toarcienne. En conséquence, si échanges entre aquifère il y avait, ils seraient tels que l'écoulement se ferait de la nappe supra-toarcienne vers la nappe infra-toarcienne. A titre d'information, les eaux de l'aquifère infra-toarcien ont un faciès chloruré-sodique. Le détail des analyses est disponible en annexe 3.

Cette éventualité écartée et avant de s'intéresser particulièrement au pôle des nitrates, quelques hypothèses peuvent être avancées quant à la variabilité des concentrations en  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  :

- infiltration et minéralisation

Le contexte géologique peut avoir un rôle non négligeable sur la minéralisation des eaux en conditionnant l'infiltration des eaux météoriques : infiltration rapide à la faveur de gouffres d'une part, infiltration lente au travers des recouvrements tertiaires d'autre part (§ 2.1.3.1). En collaboration avec T. Bariac (BIOEMCO) des analyses du  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau sont en cours.

- géochimie de l'aquifère

Les eaux des groupes 1, 2, 3, et 4 étant toutes à l'équilibre avec la calcite et sous-saturées vis-à-vis de la dolomite, les variations inter-groupes de concentrations en  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  pourraient être engendrées par une certaine variabilité géochimique de l'aquifère. Pour les groupes 3 et 4, ce phénomène est mis en évidence sur la Figure 29. Les plus faibles ratios  $\text{Ca}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  de ces deux groupes sont corrélés à une augmentation des ratios  $\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  suggérant l'influence des calcaires dolomitiques.

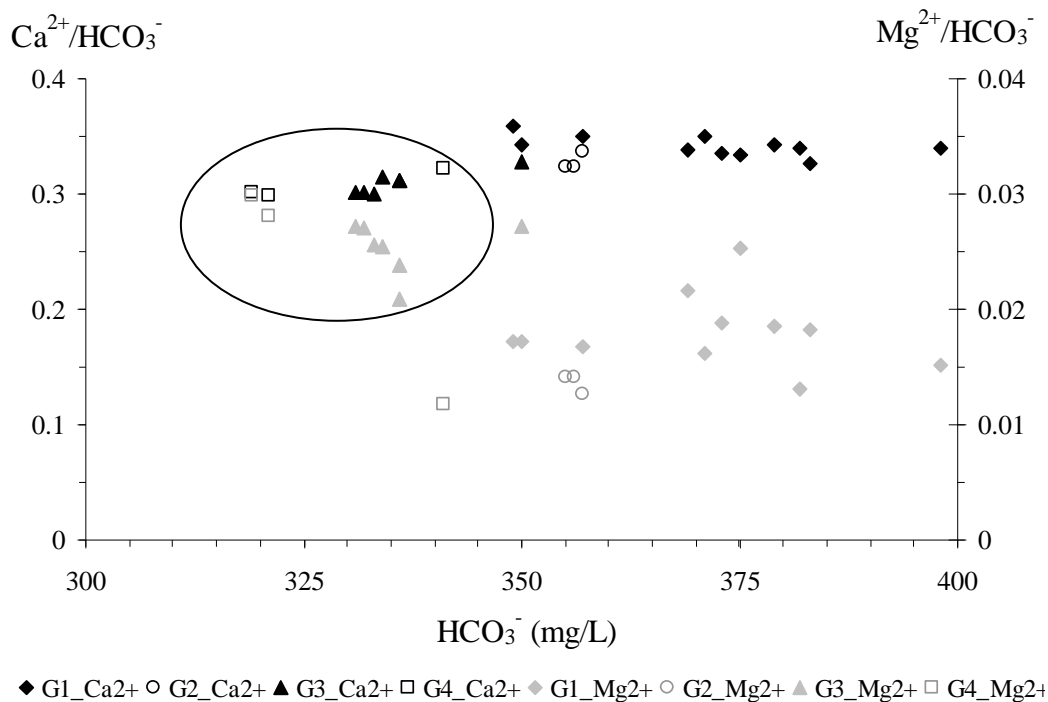


Figure 29: Ratios  $\text{Ca}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  et  $\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  vs.  $\text{HCO}_3^-$  pour les groupes G1, G2, G3 et G4. Les groupes 3 et 4 se caractérisent par une baisse du ratio  $\text{Ca}^{2+}/\text{HCO}_3^-$  accompagnée d'une augmentation du ratio  $\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$ .

- activité bactérienne

L'activité bactérienne, au travers de la production de  $\text{CO}_2$  est susceptible de conditionner les concentrations en  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{HCO}_3^-$ .

#### 2.4.2.2 Pôle $\text{NO}_3^-$ : Dilution vs. dénitrification

Les ratios  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  sont décroissants du groupe 1 au groupe 4 (Figure 30a). Cette décroissance s'accompagne d'une décroissance des concentrations en chlorures. Le groupe 1 se distingue des autres groupes par des concentrations en nitrates et chlorures respectivement supérieures à 30 mg/L et 20 mg/L et un ratio caractéristique  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  supérieur à 1. Au sein de cette province, les concentrations en chlorures diminuent alors que les ratios  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  restent constants (Figure 30b). La baisse des concentrations en nitrates résulte donc d'un processus de dilution par des eaux ayant les mêmes ratios caractéristiques. Le léger chevauchement des concentrations en chlorures des groupes 1 et 2 associé à une diminution du ratio  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  pour le groupe 2 ne peut pas être attribué à une dénitrification des eaux du groupe 1. En effet :

- le ratio  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  du groupe 2 ne montre pas de forte augmentation en comparaison de celui du groupe 1, i.e. il n'y a pas de preuve de dénitrification autotrophe,

- les concentrations en carbone organique dissous semblent trop faibles pour subvenir à une activité dénitrifiante hétérotrophe active.

En conséquence, la province 2 constitue bien une entité dissociée de la province 1.

Les provinces 2, 3 et 4 se caractérisent par des concentrations inférieures à  $16 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$  et  $20 \text{ mgCl}^-/\text{L}$ . La décroissance du ratio  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  du groupe 2 au groupe 4 s'accompagne d'une augmentation du ratio  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  (Figure 30ab). Cette corrélation est assujettie à une diminution des concentrations en chlorures. Au sein du groupe 4, il semble toutefois possible de distinguer un fonctionnement différent. Deux puits indiquent une baisse de ratio  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  indépendante de la concentration en chlorures. Une forte augmentation du ratio  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  est observée pour l'un des deux puits. Pour rappel, cette province est en condition de quasi-anaérobiose favorisant l'initiation d'un processus de dénitrification. Au regard de la variabilité des réponses  $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-}$  et des conditions d'oxydo-réduction, la province 4 se caractérise probablement par des concentrations initiales en nitrates assez faibles (entre 5 et  $10 \text{ mg/L}$ , puits M19) affectées localement par un processus de dénitrification biologique et/ou chimique.

La province 3 semble résulter d'un mélange entre les eaux de la province 4 et les eaux de la province 2. Ainsi, si l'on se base sur les concentrations moyennes en chlorures (élément conservatif), l'attribution d'un coefficient de 0,4 aux concentrations de la province 2 et de 0,6 à celles de la province 4 permet d'obtenir des concentrations comparables à celles de la province 3. Ce calcul est valide pour l'ensemble des éléments analysés sauf pour les nitrates et sulfates en raison des processus annexes affectant leur concentration.

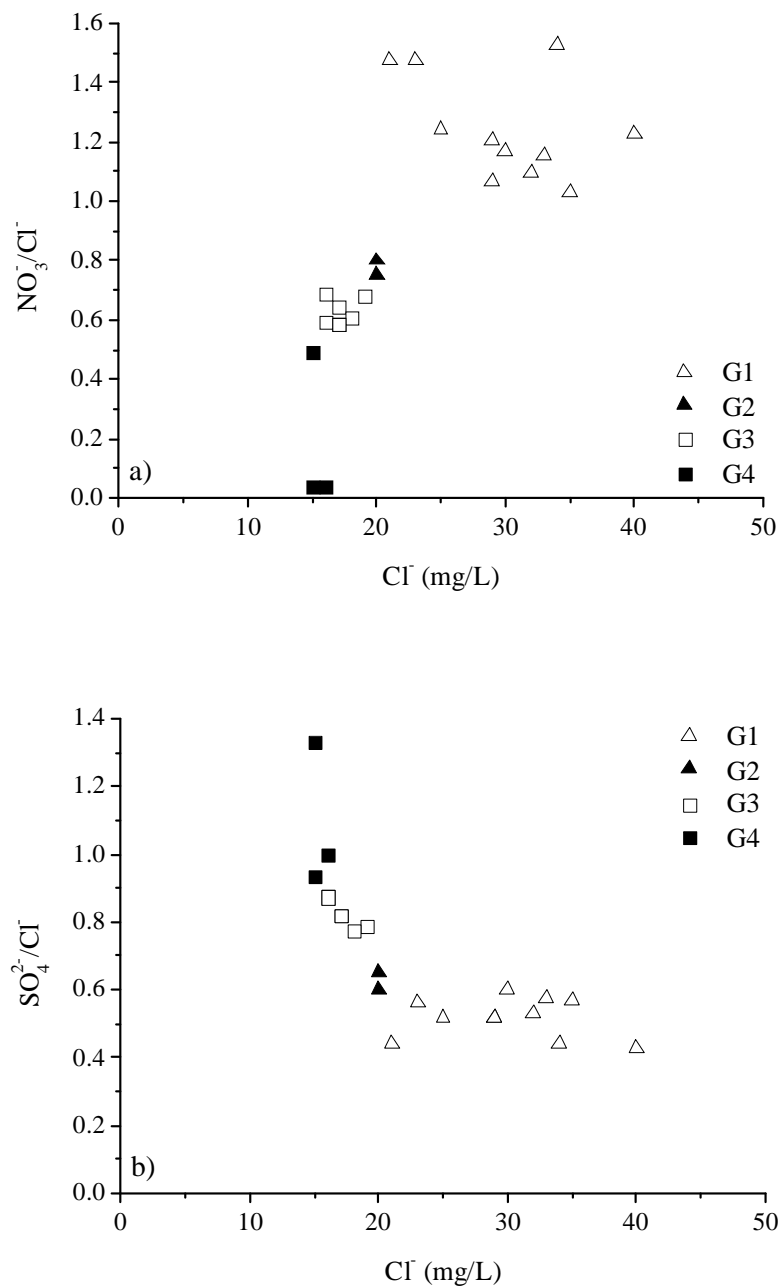


Figure 30 : Ratios caractéristiques des différents groupes d'eaux ségrégués à l'échelle du SEH. a)  $NO_3^-/Cl^-$  vs.  $Cl^-$ , b)  $SO_4^{2-}/Cl^-$  vs.  $Cl^-$

#### 2.4.2.3 Influence couplée de l'hydrodynamique locale et des pressions anthropiques

L'existence de concentrations en nitrates et de ratio  $NO_3^-/Cl^-$  différenciés entre les groupes 1, 2 et 4 signifie que ces provinces géographiques sont soumises à des apports nitrates d'importance différente. En se basant sur la carte piézométrique de la campagne 2003 et en délimitant un rectangle correspondant potentiellement aux zones de recharge proches du site (Figure 31), l'examen des

assolements de part et d'autre de la ligne de partage des eaux indique que la portion SO est occupée à 50 % par des zones boisées, à 25% par des cultures et à 25% par des zones urbanisées quand la portion NE est occupée à 90% par des cultures. Ces différences d'occupation anthropiques génèrent nécessairement des variations sur 1) les quantités de nitrates apportées et 2) l'origine des nitrates (intrant agricole chimique et/ou organique, eaux usées etc.). A l'échelle du site, l'influence des différentes sources de nitrates perdure en raison du contexte hydrodynamique singulier qui autorise l'écoulement juxtaposé des composantes NNO et OSO du bassin d'alimentation. La portion SO correspond aux provinces 2 et 4. La portion NE correspond à la province 1. Ces observations suggèrent une pression agricole plus importante sur les puits de la province 1 se traduisant par de plus fortes concentrations en nitrates et de plus fortes concentrations en pesticides cumulés ( $\approx 0,23 \mu\text{g/L}$  de moyenne contre  $0,05 \mu\text{g/L}$  pour les provinces 2, 3 et 4, Tableau 7).

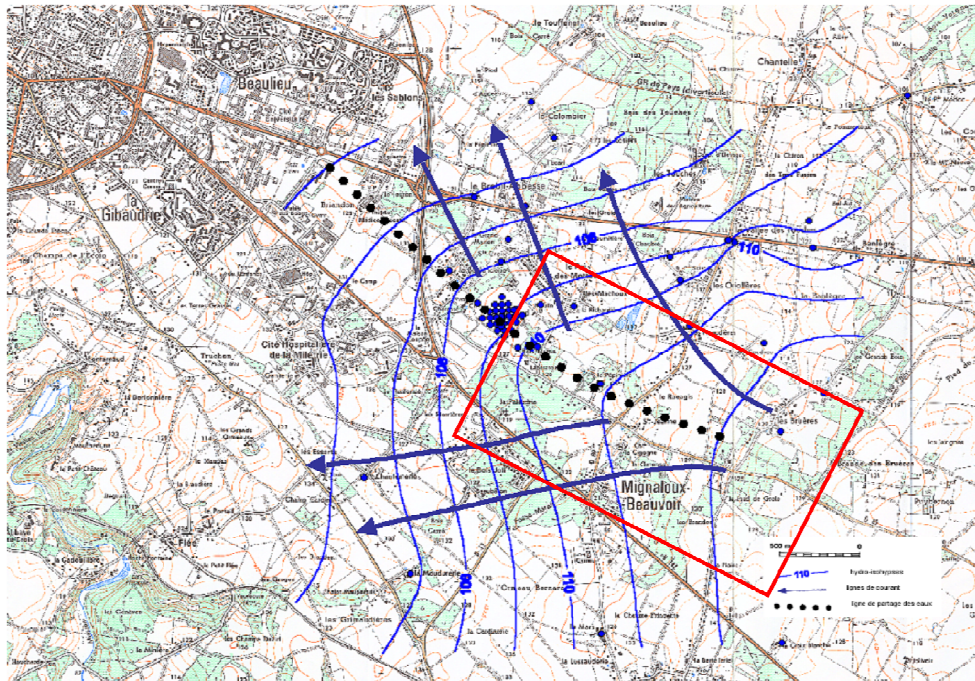


Figure 31: Zone potentielle de recharge de la nappe supra-toarcienne à proximité du SEH

#### 2.4.2.4 Complément d'information : les rapports isotopiques $\delta^{15}\text{N}$

Le rapport isotopique  $\delta^{15}\text{N}$  des nitrates traduit l'enrichissement en isotope lourd engendré par 1) le type de source azotée (0 à 4 ‰ pour les engrais minéraux, 8 à 22 ‰ pour les eaux usées et les fumiers, 0 à 8 ‰ pour la minéralisation de l'azote de la matière organique des sols (Xue et al., 2009)) et 2) les processus affectant l'azote (nitrification/dénitrification/volatilisation).

Puits-profondeur d'échantillonnage (m)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	δ <sup>15</sup> N ‰	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /Cl <sup>-</sup>
M1-65	30,6	6,9	1
M20-51	37,6	6,8	1,1
M3-105	28,6	6,7	1,1
M5-45	14,5	5,7	0,7
M5-105	14,2	2,4	0,7
MP7-55	14,3	3,7	0,7
M2-66	8,8	6,8	0,5
M2-100	9,7	3,5	0,5
M22-105	10,6	5,6	0,6
P1-47	0	-	-

Tableau 8: Rapports isotopiques mesurés sur les échantillons de la campagne P2008. Les concentrations en nitrates sont trop faibles pour mesurer le δ<sup>15</sup>N du point P1 (volume d'échantillon insuffisant).

Les puits M1, M20 et M3 indiquent des rapports isotopiques δ<sup>15</sup>N identiques pour des concentrations en nitrates différentes et des ratios NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> similaires (Tableau 8). La valeur de δ<sup>15</sup>N mesurée semble refléter la source azotée plutôt qu'un processus affectant l'azote. Une valeur moyenne de 6,7 ‰ pourrait être la trace d'apports fertilisants organiques sur la portion NE du bassin d'alimentation ou le fait d'eaux usées pouvant provenir de systèmes d'assainissement autonomes présents dans les fermes alentours.

Il apparaît que les eaux de la province 2, d'origine plutôt superficielle témoignent des rapports les plus faibles (2,4 et 3,7 ‰). Les concentrations en nitrates et les ratios NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> étant identiques entre les points, la variabilité du δ<sup>15</sup>N semble être le fait de l'influence de différentes sources. La valeur de 5,7 ‰ reste cependant à vérifier car l'écart de δ<sup>15</sup>N est grand en comparaison des autres points pour des concentrations et ratios caractéristiques strictement similaires. Il peut s'agir d'une erreur analytique.

Les rapports isotopiques mesurés sur les puits de la province 3 s'échelonnent de 3,5 à 6,8 ‰. Cette variabilité est le résultat cumulé du mélange des provinces 2 et 4 et des processus locaux de dénitrification au sein de la province 4.

### 2.4.3 Conclusion

Les analyses hydrochimiques menées au droit du SEH indiquent quatre provinces à la minéralisation décroissante ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ). Les concentrations en nitrates varient ainsi de  $37 \pm 7$   $\text{mgNO}_3^-/\text{L}$  pour la province 1 à  $3 \pm 4$   $\text{mgNO}_3^-/\text{L}$  pour la province 4. La baisse des concentrations en nitrates est indépendante du sens d'écoulement régional de l'eau, des plans d'écoulement et de la présence ou non d'argiles riches en matière organique. L'étude des ratios  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  indique l'absence de processus prononcés de dénitrification naturelle exception faite de la province 4 qui semble caractérisée par des processus locaux de dénitrification favorisés par les conditions réductrices caractéristiques de cette zone. A l'échelle du site, la dénitrification n'est *a priori* pas le processus responsable des variations de concentrations en nitrates.

Toujours à propos des nitrates, l'origine possible de cette zonation repose sur des processus de dilution entre masses d'eaux de concentrations caractéristiques différentes et l'action conjointe de la configuration hydrodynamique régionale (écoulement divergent) et des activités anthropiques susceptibles d'influencer les zones de recharge de la nappe. Il semble ainsi qu'en comparaison des zones 2, 3 et 4, la zone 1 caractérisée par les plus fortes concentrations en nitrates soit influencée par un bassin à forte pression agricole.

Pour la réalisation d'un pilote de dénitrification *in situ*, aucune zone ne semble suffisamment active pour soutenir naturellement la dénitrification d'un effluent nitraté. Cette absence d'activité dénitrifiante significative peut être la conséquence de conditions d'oxygénation limitantes ( $\text{O}_2 > 3$   $\text{mg/L}$  pour les provinces 1 et 2), de concentrations en carbone organique dissous trop faibles ( $\text{COD} < 1$   $\text{mg/L}$ ) ou encore de l'absence de bactéries adéquates. Seule la province 4 présente des caractéristiques d'oxydo-réduction plus favorables à l'initiation du processus de dénitrification et la preuve d'une activité dénitrifiante localisée. Le type de dénitrification, i.e. chimique ou biologique n'est à ce jour pas déterminé. D'autre part, l'origine des conditions réductrices caractéristiques de cette zone mériterait d'être mieux cernée avant de la considérer comme lieu potentiel d'implantation du pilote.

En collaboration avec M. Sebilo (UMR 7618, BIOEMCO), des analyses isotopiques complémentaires du  $\delta^{15}\text{N}$  et du  $\delta^{18}\text{O}$  des nitrates sont en cours et devraient apporter un éclairage supplémentaire sur la dynamique des nitrates et les processus responsables de la variabilité observée (source, dilution, dénitrification).





## 2.5 Complément d'information 4 : Populations bactériennes dénitrifiantes autochtones

Les populations bactériennes autochtones représentent la clé déterminante d'une dénitrification potentielle. Leur présence et leur diversité conditionne la réalisation du pilote par la nécessité ou non de faire appel à des souches allochtones. Bien que certaines caractéristiques physico-chimiques de l'aquifère ( $O_2 < 2 \text{ mg/L}$  pour les eaux des provinces 3 et 4, présence de pyrite dans la matrice et les argiles de remplissage) semblaient pouvoir soutenir un phénomène de dénitrification biologique, l'activité bactérienne dénitrifiante ne constitue pas actuellement un processus dominant de la dynamique des nitrates au droit du SEH. L'expérience en batch présentée ci-dessous a pour but de :

- 1) s'assurer de la présence de bactéries dénitrifiantes dans le système eau/matrice,

En raison de la difficulté d'échantillonnage, peu d'études s'attachent à la caractérisation bactérienne des aquifères profonds. Lawrence and Foster (1986), Landreau et al. (1988) et Lehman et al. (2001) s'accordent sur le fait que la majorité des espèces bactériennes sont fixées sur la matrice rocheuse. Ce constat rend l'échantillonnage quelque peu délicat. Aucun bloc de calcaire provenant de l'aquifère n'est à ce jour disponible dans les conditions requises pour les essais en batch (absence de contamination bactérienne allochtone). L'étude fait donc l'objet d'un prélèvement indirect grâce à l'immersion longue durée d'un concassé calcaire au sein des forages ; l'objectif visé étant la colonisation du concassé par les bactéries autochtones, si elles sont présentes.

- 2) tester différents donneurs d'électrons (éthanol/thiosulfates),

L'objectif est double. D'une part, on cherche à appréhender le mécanisme de dénitrification prédominant, i.e. hétérotrophe ou autotrophe. D'autre part, il s'agit de tester deux milieux de culture simplifiés qui pourraient être envisagés comme source d'électrons dans un système de dénitrification provoquée. C'est pour cette raison que les batchs ne font pas appel à des milieux de culture élaborés généralement utilisés pour la mise en évidence sélective d'espèces bactériennes telles que *Pseudomonas* (Stanier et al., 1963; Arvidsson et al., 1998) ou *Thiobacillus denitrificans* (Baalsrud and Baalsrud, 1954; Baldensperger and Garcia, 1975; Chantereau, 1980).

- 3) comparer l'activité bactérienne dénitrifiante au sein de deux provinces aux caractéristiques physico-chimiques différentes.

Le chapitre 2.4 démontre l'existence de provinces aux concentrations en nitrates différentes. Plusieurs auteurs tels que Murray et al. (1995) et Hwang et al. (2006) montrent que la répartition des populations bactériennes en termes de densité et d'espèces au sein d'un aquifère dépend de facteurs de

stress externes tels que les caractéristiques physico-chimiques de l'eau. De fait, il est juste de se demander si certaines provinces hydrochimiques sont plus favorables, en termes de pool bactérien, vis-à-vis de la dénitrification. La province 1 et la province 3 ont été retenues pour leurs caractéristiques physico-chimiques tranchées, leur représentativité à l'échelle du site et leurs caractéristiques hydrodynamiques au regard d'une exploitation possible en système provoqué (développement des puits).

### 2.5.1 Essais en batch : méthodologie

L'immersion d'un concassé calcaire doit permettre de « piéger » les bactéries autochtones potentiellement fixées sur la matrice de l'aquifère. Le concassé est issu du Bajocien supérieur exploité sur les carrières des Minières de Payré. Il est préalablement stérilisé par immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 9° chl et passé à l'étuve à 140°C pendant 24h. Le concassé ainsi stérilisé est ensuite placé dans des crépines PVC. Les crépines sont immergées à 90 m de profondeur dans les forages M3 et M11 appartenant à la province chimique 1 ( $\approx 37 \pm 7 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ ) et les forages M21, M22 appartenant à la province chimique 3 ( $\approx 11 \pm 1 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ ). Deux mois plus tard, les crépines sont retirées des forages et le concassé est immédiatement stocké en bouteille stérile préalablement remplie d'eau pompée. Le concassé des forages M21 et M22 est mélangé et l'eau de stockage provient du forage MP6 (province 3). Le concassé des forages M3 et M11 est mélangé et l'eau de stockage provient du forage M10 (province 1).

La mise en batch s'effectue dans les huit heures suivant le prélèvement. L'expérience comprend des séries témoins pour s'assurer de la stérilité du concassé avant immersion et des solutions d'amendement ainsi que des séries tests pour la mise en évidence des bactéries dénitrifiantes autochtones. La série témoin et la série test composées d'un milieu de culture favorisant les bactéries hétérotrophes sont appelées respectivement TH et H. Ces séries emploient un amendement nitrate/éthanol dont le ratio molaire C/N vaut 1,3. Parmi les substrats carbonés autorisés par le Ministère de la santé, l'éthanol est préféré à l'acide acétique en raison de ses performances supérieures vis-à-vis du processus de dénitrification (ratio de consommation C/N et production de nitrites plus faibles) (Hamon and Fustec, 1991; Richard and Thébault, 1992). La série témoin et la série test composées d'un milieu de culture favorisant les bactéries autotrophes sont appelées respectivement TA et A. Ces séries emploient un amendement nitrate/thiosulfate dont le ratio molaire S/N vaut 7,4. Une série est constituée de quatre erlenmeyers comprenant du concassé immergé, de l'eau pompée et un des amendements évoqués précédemment. Les proportions de concassé, d'eau et de solution respectent un rapport 10% poids/volume. La composition des milieux de culture et les concentrations imposées sont indiquées dans le Tableau 9. Les solutions de  $\text{NaNO}_3$  sont préalablement stérilisées par autoclavage à 120°C pendant 20 min. Les solutions d'éthanol et de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sont stérilisées par

filtration à 0,22 µm. De manière à favoriser la création de conditions anaérobies, les erlenmeyers sont obturés par un bouchon de paraffine. L'ensemble des batchs est ensuite placé à température ambiante dans l'obscurité.

Les quatre erlenmeyers d'une série sont analysés indépendamment au bout de 2 jours, 2 semaines et 4 semaines après la mise en batch. Les concentrations en anions ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) sont mesurées par chromatographie ionique (Dionex ICS-1000 et ICS-3000). L'ammonium  $\text{NH}_4^+$  est analysé par spectrophotométrie au bleu d'indophénol (BIomate 3).

	TH	TA	H3	H1	A3	A1
Eaux souterraines						
<i>Origine</i>	-	-	MP6	M10	MP6	M10
<i>Volume (ml)</i>	-	-	110,5	110,5	110,5	110,5
Concassé calcaire						
<i>Origine</i>	-	-	M22/M21	M3/M11	M22/M21	M3/M11
<i>Poids (g)</i>	12,7 (0,4)	12,4 (0,4)	12,2 (0,6)	12,1 (0,6)	11,8 (1,2)	12,3 (0,2)
$\text{NO}_3^-$ (mg/L)	500	500	500	500	500	500
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (mg/L)	250	-	250	250	-	-
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (mg/L)	-	3300	-	-	3300	3300
pH	7,8	7,4	8,0	7,8	8,2	8,2

Tableau 9 : Constitution des batchs. Ecart-types entre parenthèses.

### 2.5.2 Résultats

Quelle que soit la modalité d'amendement, les séries témoins montrent une stabilité des concentrations en nitrates et sulfates ainsi que l'absence de nitrite et d'ion ammonium. Ces résultats confirment l'absence de dénitrification chimique et la stérilisation efficace des amendements et du concassé calcaire avant immersion.

La figure 32 représente l'évolution des concentrations en nitrates et nitrites pour les modalités H1 et H3. Au bout de quatre semaines d'expérimentation, les séries hétérotrophes H témoignent d'une baisse des concentrations en nitrates, de la production de nitrites et d'un dégagement gazeux. La production d'ammonium est sporadique et ne dépasse pas 0,05 mg/L. Les vitesses de dégradation des nitrates calculées entre 2 jours et 4 semaines sont respectivement de  $7,5 \pm 0,2$  mg/L/jour pour H1 et  $6 \pm 0,2$  mg/L/jour pour H3. Alors que ces vitesses sont proches, la production de nitrites diffère. A 4 semaines, la concentration en nitrites atteint 50 mg/L dans H3 tandis qu'elle n'est que de 6 mg/L dans H1.

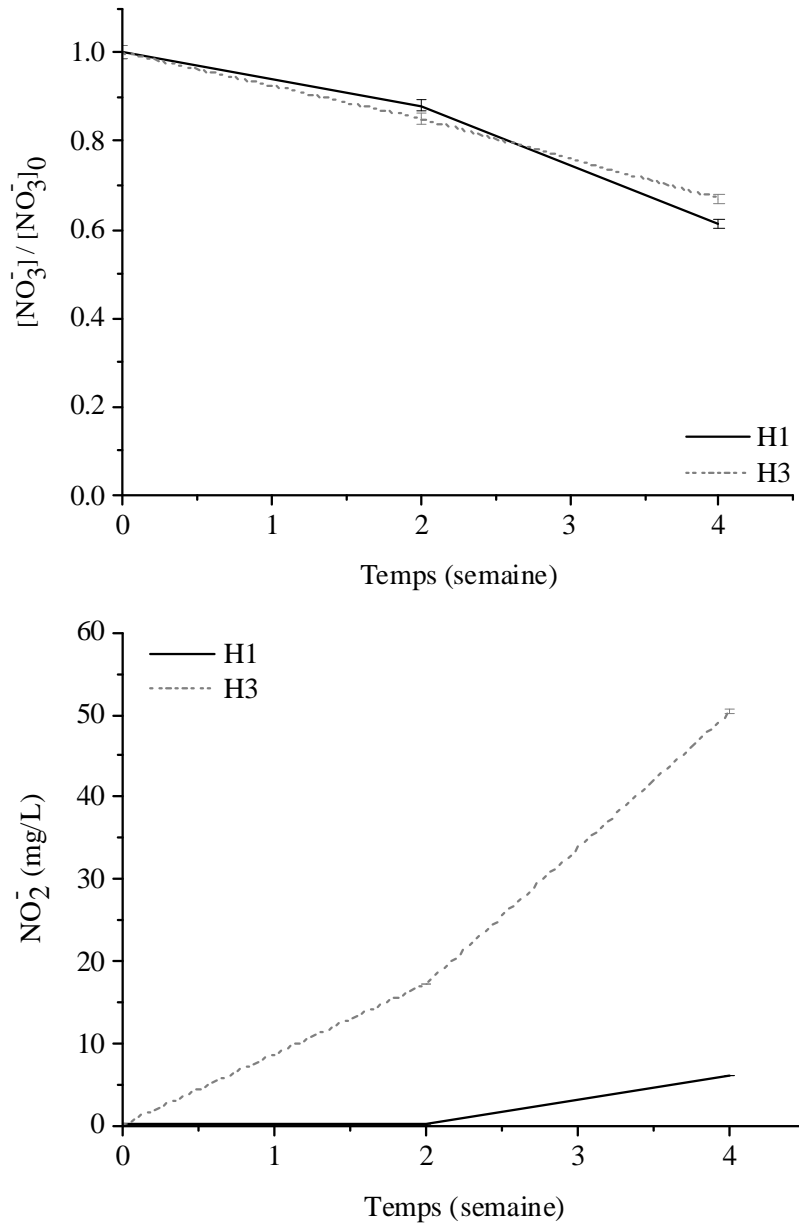


Figure 32: Evolution des concentrations en nitrates et nitrites dans les batchs amendés en  $\text{NO}_3^-/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

L'erreur analytique sur les concentrations en nitrates des séries autotrophes A interdit toute conclusion définitive quant à une dégradation des nitrates. Cependant, la tendance décroissante est confirmée par l'augmentation des concentrations en nitrites et sulfates (Figure 33). Entre 2 jours et 4 semaines, les concentrations en sulfates des séries A3 et A1 passent respectivement de 11 mg/L à 730 mg/L et de 15 mg/L à 186 mg/L. La production d'ammonium est nulle. En première approximation, les vitesses de dégradation des nitrates sont respectivement de  $5,8 \pm 1,8$  et  $4,2 \pm 2,4$   $\text{mgNO}_3^-/\text{L}/\text{jour}$  pour les séries A3 et A1.

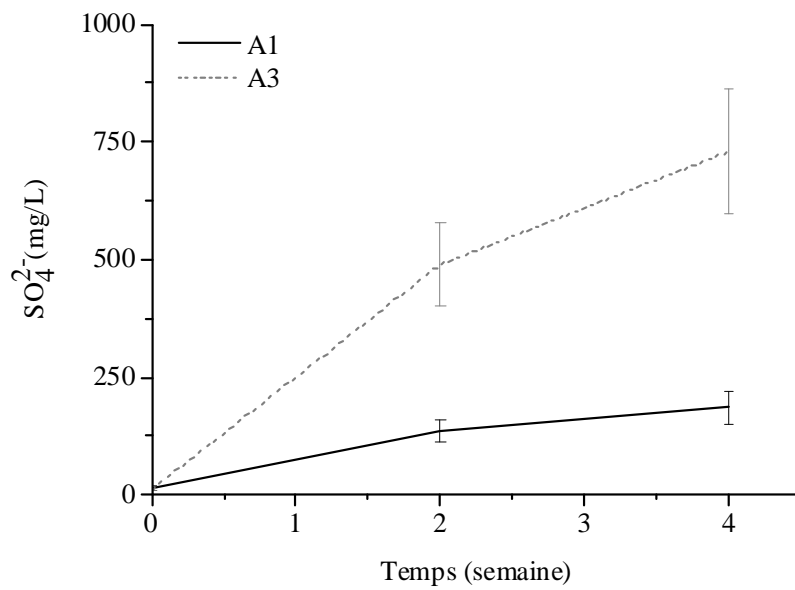
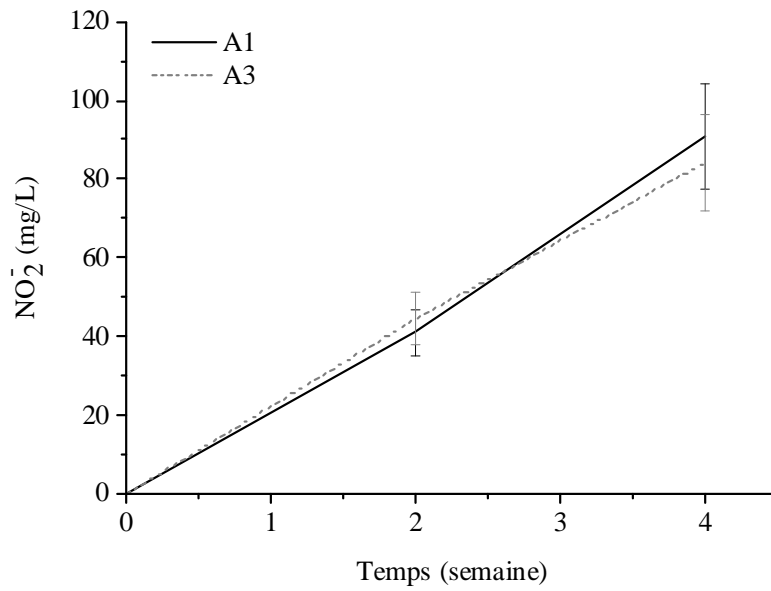
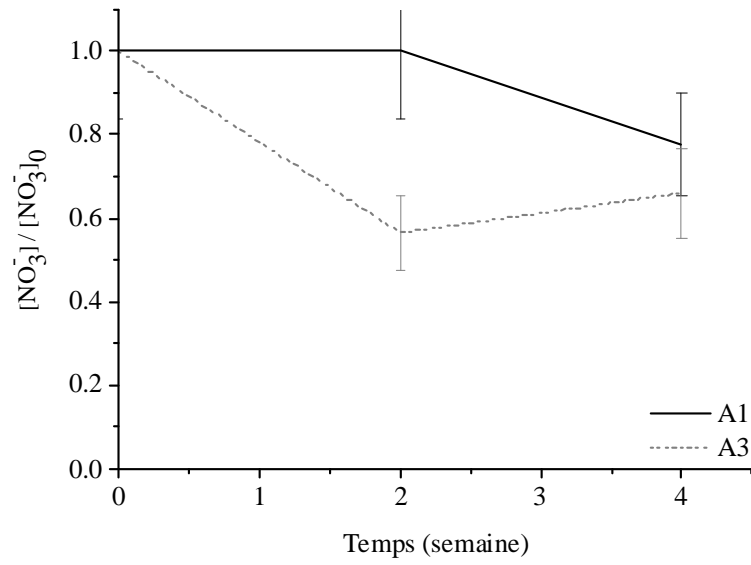
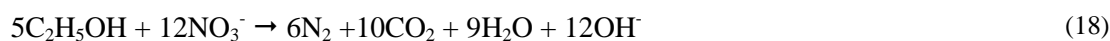


Figure 33 : Evolution des concentrations en nitrates, nitrites et sulfates dans les batchs amendés en  $\text{NO}_3^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

### 2.5.3 Discussion-conclusion

La baisse des concentrations en nitrates, la production de nitrites, de sulfates (dans le cas des séries A) et la formation de bulles sont des traces caractéristiques du processus de dénitrification biologique. Les échantillons testés démontrent l'existence de populations bactériennes dénitrifiantes hétérotrophes et autotrophes au droit du SEH. Bien que les milieux de cultures soient assez simples, les bactéries autochtones sont en mesure de dégrader les nitrates avec un substrat carboné tel que l'éthanol (équation (18) d'après Hamon and Fustec (1991)) ou un substrat inorganique tel que les ions thiosulfates (équation (19) d'après Claus and Kutzner (1985a)).



La comparaison des séries H et A montre que pour un rendement de dégradation en nitrates comparable, la production de nitrites est plus importante dans les séries autotrophes que dans les séries hétérotrophes. En termes d'efficacité dénitrifiante, l'éthanol semble donc être un donneur d'électrons plus adapté que les ions thiosulfates. D'autre part, les séries autotrophes engendrent la production d'une quantité importante de sulfates pouvant se révéler sanitaires néfastes. C'est notamment le cas de la série A3 pour laquelle la production de sulfates ( $730 \pm 130$  mg/L) ne répond pas aux rapports stœchiométriques de l'équation (19) (production théorique égale à  $329 \pm 99$  mg/L). Ce phénomène peut être le fait d'une oxydation supplémentaire des ions thiosulfates par des sulfobactéries non dénitrifiantes (Chantereau, 1980).

Pour les séries H, les vitesses de dégradation de nitrates sont semblables entre les provinces chimiques. En revanche, la production de nitrites révèle des consortiums bactériens différents entre les deux zones avec un consortium hétérotrophe dénitrifiant plus efficace au sein de la province 1. Par similitude avec les travaux de Bengtsson and Bergwall (1995), cette différence peut s'expliquer au travers des espèces bactériennes et de leur densité de présence intimement liées aux concentrations en nitrates dans le milieu. Ainsi les eaux plus nitratées de la province 1 favorisent l'adaptation et le développement de populations bactériennes potentiellement dénitrifiantes.

Que la modalité soit autotrophe ou hétérotrophe, les vitesses de dégradation semblent trop faibles pour pouvoir envisager un système de dénitrification basée sur les amendements testés. Notons tout de

même que plusieurs procédés de dénitrification font appel à l'ajout de phosphates (Richard and Partos, 1985; Hunter, 2003). Dans le cas présent, les eaux du site n'en contiennent pas. Il est donc possible que les phosphates soient un facteur limitant de la réaction observée.





## 2.6 Conclusions & orientations données aux travaux

Les écoulements dans l'aquifère supra-toarcien sont fortement conditionnés par la fracturation subverticale et 4 plans subhorizontaux karstiques (30-35 m, 50 m, 85 m et 110-115 m). Les profils de température établis pour différentes conditions hydrodynamiques mettent en évidence l'existence d'écoulements inter-plans rapides. Ces écoulements résultent de la mise en connexion des différents plans karstiques par les fractures subverticales et les forages. Le fait que ces écoulements ne soient pas liés à la seule présence des forages est une difficulté accrue au confinement du traitement de dénitrification sur un seul plan karstique. Les essais de traçage montrent cependant qu'en dépit de ces écoulements complexes, les taux de restitution peuvent atteindre 90 %. Dans le cas d'une injection ciblée, les connexions inter-puits sont donc suffisamment développées pour limiter la perte d'un soluté injecté. Les courbes de restitution présentent toutes des queues de restitution anormalement développées aux temps longs. Ces courbes, typiques des milieux à porosités multiples (chenaux/fractures/matrice), sont la conséquence de l'hétérogénéité des propriétés hydrauliques et/ou de la géométrie du réseau des structures échantillonnées. Ces hétérogénéités sont susceptibles de conditionner les réactions de dénitrification en influençant la répartition des masses entre différents compartiments aux propriétés hydrauliques et réactives différentes (temps de séjour, surface spécifique développée). Les connaissances actuelles du milieu ne permettant pas de faire la part entre les différents processus responsables du transport observé, la prédiction d'un phénomène réactif tel que la dénitrification passe nécessairement par la conceptualisation du milieu au travers de différents modèles. Au préalable, la modélisation du transport réactif demande la détermination des grandeurs caractéristiques de la réaction de dégradation. Pour évaluer ces valeurs de cinétique, un pilote de dénitrification biologique *ex situ* a été conçu. Le fonctionnement du pilote est hérité des conclusions tirées des campagnes hydrochimiques et des essais en batch. Les expériences en batch ont démontré la présence de bactéries dénitrifiantes autochtones hétérotrophes et autotrophes actives en présence d'un amendement approprié (ions thiosulfates ou éthanol). Alors que les bactéries autotrophes représentent un potentiel intéressant en raison de la faible épaisseur de biofilm qu'elles développent (limitation des problèmes de colmatage d'après (Trouvé, 1998)), les analyses révèlent que les populations hétérotrophes sont plus efficaces. Les analyses hydrochimiques montrent d'autre part que la dénitrification ne constitue pas un processus affirmé au droit du SEH. Pour cette raison, le pilote ne peut reposer sur les seules caractéristiques physico-chimiques de l'eau souterraine pour espérer obtenir des rendements de dénitrification significatifs. Le pilote fait donc appel aux souches bactériennes hétérotrophes autochtones stimulées par un amendement en éthanol et phosphates (source autorisée par la circulaire DG 5/VS 4 n°2000-166 du 28 mars 2000). Une description détaillée des objectifs visés, de la conception du pilote et des essais menés est présentée dans le chapitre suivant.



### 3 Etude préalable du processus de dénitrification sur un pilote *ex situ*

Pour une séquence de dénitrification définie ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_x\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ ), l'intensité de la réaction et la quantité des sous-produits (nitrites notamment) varient en fonction de quatre principaux facteurs: les conditions physico-chimiques du milieu, la nature et la quantité du donneur d'électrons, l'hydrodynamique du système et les caractéristiques microbiologiques (espèces, proportions) et structurales (densité, épaisseur, rugosité) du biofilm dénitrifiant. Un biofilm est défini par Lewandowski (2000) comme un ensemble poreux, hétérogène en densité et réactivité, constitué de microcolonies bactériennes dont la cohésion est assurée par des polymères extracellulaires (PEC). A la différence des biofilms constitués d'une souche bactérienne sélectionnée, les biofilms formés en milieu naturel comptent plusieurs espèces bactériennes fonctionnant en synergie (consortium bactérien). Lorsque les conditions physico-chimiques et de nutrition évoluent, notamment dans le cas d'une biostimulation, le biofilm se spécialise et la proportion des différentes espèces initialement présentes se modifie. Dans le cas d'un procédé de dénitrification, on assiste ainsi à l'augmentation des populations dénitrifiantes strictes et partielles (Hwang et al., 2006). La proportion et le type d'espèces contrôlent alors pour partie la quantité de nitrates réduits et de nitrites produits (Lazarova et al., 1994). Chaque espèce bactérienne a une propension plus ou moins importante à sécréter des PEC. Ces PEC peuvent influencer sur la structure du biofilm en augmentant notamment sa densité (Ohashi and Harada, 1994). La densité, l'épaisseur et la rugosité sont des paramètres structurels clés intervenant sur la surface d'échange et le processus de diffusion au sein du biofilm ; ils contrôlent ainsi le taux de dégradation du substrat (Bishop et al., 1995; Seker et al., 1995; Picioreanu et al., 1999b). Ces trois paramètres sont fortement influencés par les conditions hydrodynamiques (contraintes de cisaillement, vitesse d'écoulement) et la charge en substrat (van Loosdrecht et al., 1995; Peyton, 1996a; Beyenal and Lewandowski, 2000; Liu and Tay, 2002). Ainsi, l'hydrodynamique du système régule l'intensité de la réaction par la gestion des caractéristiques structurales du biofilm, la gestion potentielle du transfert de masse de la phase fluide aux bactéries et par le contrôle des temps de séjour dans le milieu. Il en est de même du ou des substrats qui conditionnent l'intensité de la réaction au travers du développement massif et structurel du biofilm et du ratio molaire donneur/accepteur d'électrons imposé aux bactéries (Soares et al., 1991; Mohseni-Bandpi and Elliott, 1998; Villasenor et al., 2000). Au regard de la dynamique complexe et de l'interdépendance des facteurs d'influence responsables de l'efficacité dénitrifiante, la prédiction du fonctionnement d'un pilote de dénitrification provoquée au sein d'un aquifère (i.e. *in situ*) nécessite donc de cerner le déroulement de la réaction pour des conditions comparables à celles prévues en fonctionnement.

Implanté au droit du SEH, le pilote *ex situ* permet la caractérisation du processus de dénitrification biologique d'une eau souterraine amendée en éthanol, nitrates et phosphates, sur support calcaire, et pour des conditions expérimentales (température, physico-chimie eau, ensemencement) quasi-

identiques au système souterrain. L'un des objectifs étant de juger de l'influence des vitesses d'écoulement imposées sur la cinétique macroscopique de réaction, les expérimentations sont conduites en contexte dynamique pour différentes vitesses d'écoulement. Les essais se déroulent en deux phases. La première phase est une mise en régime du processus de dénitrification permettant d'observer les paramètres généraux de fonctionnement (propriétés hydrauliques du milieu, rendement de dénitrification, production de nitrites, consommation d'éthanol). La seconde phase consiste en deux traçages consécutifs, l'un réactif et l'autre passif. Le traçage passif TP permet de s'affranchir de la partie réactive pour identifier ce qui est du ressort des conditions génériques d'écoulement et proposer différentes conceptualisation du milieu (convection ou dispersion dominante, simple ou double continuum etc.). Le traitement des données TP aboutit à la détermination de jeux de paramètres hydrodispersifs fonction de la représentation du milieu que l'on se fait. Une fois ces paramètres définis, le traçage réactif TR rend possible la détermination de la cinétique de dénitrification dont l'amplitude est comparée pour différentes conceptualisations du milieu considérées à différents débits. Alors que la réaction se déroule à l'échelle de la bactérie ( $\mu\text{m}$ ), le problème réactif se pose à l'échelle de Darcy, disons ici du millimètre pour une colonne à plusieurs mètres pour un pilote réel implanté en nappe. Les développements théoriques et mathématiques nécessaires au changement d'échelle entre local et darcéen font l'objet de recherches actuelles (Aspa et al., 20XX; Wood et al., 2002; Golfier et al., 2009; Orgogozo et al., 2010). Les méthodes développées nécessitent une connaissance approfondie des hétérogénéités du biofilm et la mise en œuvre de calculs se révélant *a priori* impossible pour des problèmes d'échelles métrique à pluri-décamétriques. En conséquence, l'échelle retenue pour l'interprétation des données de transport réactif sur colonne est celle de Darcy, i.e. de l'ordre du mm ou du cm pour une colonne du pilote *ex situ*.

Le chapitre suivant comprend une première partie technique sur la conception et le fonctionnement du pilote *ex situ*. La seconde partie récapitule les résultats généraux concernant les modifications de propriétés physiques du milieu engendrées par le biofilm et les performances de dénitrification mesurées. Cette seconde partie est abordée sous un angle descriptif plus que quantitatif, les modèles utilisés pour conceptualiser le milieu et les cinétiques obtenues étant détaillés dans le chapitre 3.3. Ce dernier chapitre reprend les résultats des essais de traçage en faisant tout d'abord le point sur la vision conceptuelle représentant la physique du milieu colonisé et les modèles de transport réactif qui en découlent puis sur les paramètres de transport et de cinétiques macroscopiques obtenus.

### 3.1 Le pilote *ex situ*

#### 3.1.1 Dispositif expérimental

##### 3.1.1.1 Principe général de fonctionnement

Implanté au droit du SEH, le pilote *ex situ* comprend quatre unités (colonnes et dispositifs associés) alimentées en continu par l'eau pompée dans un forage. Le schéma général de fonctionnement d'une unité de dénitrification est reporté sur la Figure 34. Des pompes situées en entrée de colonne permettent d'imposer différents flux ascendants. L'eau est enrichie en nitrates, phosphates et éthanol. Elle circule sur un concassé calcaire colonisé par des bactéries autochtones. L'évolution des concentrations en éléments dissous est suivie en différents points du système grâce aux vannes réparties sur la hauteur de colonne ainsi que sur la tuyauterie amont et aval. Les gaz produits par l'activité bactérienne s'évacuent par l'ouverture d'une électrovanne. Des séries de capteurs placées en amont et aval de la colonne enregistrent l'évolution des propriétés physico-chimiques de l'eau (température, O<sub>2</sub>, pH, Eh, conductivité électrique) et des propriétés physiques du milieu (pertes de charge). L'eau s'évacue ensuite gravitairement vers une cuve enterrée. Précisons qu'en dépit de l'intérêt que revêt une caractérisation microbiologique et structurelle du biofilm, aucune investigation n'est conduite en ce sens. Pour information, la caractérisation géométrique 3-D d'un biofilm en milieu poreux représente un challenge d'actualité en raison de la nature même des objets étudiés (opacité du biofilm, porosités multiples, milieu multi-phase fluide/solide/biomasse), des techniques de caractérisation disponibles (microscopie confocale, tomographie de rayons X, microscopie par résonance magnétique etc.) et du traitement de l'information ultérieure nécessaire à l'interprétation des images obtenues (Davit et al., 20XX; Beyenal et al., 2004; Seymour et al., 2007).

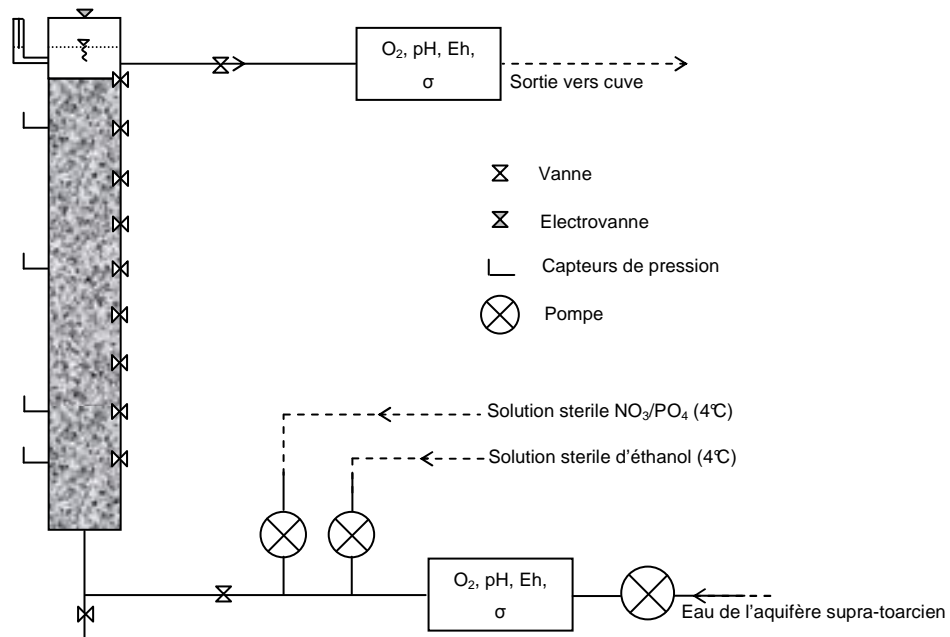


Figure 34 : Schéma général de fonctionnement d'une unité de dénitrification ex situ

### 3.1.1.2 Equipement des unités

Élaborée en collaboration avec le laboratoire LCEE (UMR 6008, Université de Poitiers) et la société TMR, chaque unité se compose :

- d'une colonne PVC de 1 mètre de hauteur et de 15 cm de diamètre équipée de 9 vannes de prélèvements réparties sur la hauteur (Figure 35a, V1 à V9). La colonne repose sur une grille inox perforée de trous de 0,5 cm de diamètre montée sur un pied permettant la vidange du système. A son sommet, une grille inox identique à la grille basale précède une galette pleine perforée d'un trou central de 3 cm de diamètre. Cette galette sépare la colonne d'un vase d'expansion. Deux brides, chacune située en position haute (au niveau de la galette) et basse (au niveau de la grille inox) permettent un démontage rapide et pratique de la colonne. La colonne est bâchée de manière à empêcher le développement d'organismes photosynthétiques,
- d'un vase d'expansion associé à une électrovanne de décharge de gaz. L'ouverture de l'électrovanne est déclenchée par l'émersion d'une électrode lorsque le niveau d'eau dans le vase baisse de 0,6 cm sous l'effet de la pression de gaz (Figure 35b).
- d'un vase à trop plein permettant, en recirculation, de gérer le niveau dans le vase d'expansion (Figure 35c),
- d'une pompe péristaltique (Masterflex,  $Q < 10 \text{ L.h}^{-1}$ ) et d'une pompe volumétrique (Seepex,  $10 < Q < 100 \text{ L.h}^{-1}$ ) permettant l'alimentation en eau de la colonne à différents débits (Figure 35d). Les pompes volumétriques Seepex sont précises et stables entre 10 et  $100 \text{ L.h}^{-1}$ . Aux

débits inférieurs à 10 L.h<sup>-1</sup>, les pompes péristaltiques prennent le relais. Bien que l'ensemble de la gamme puisse être assuré par les mêmes pompes péristaltiques, la durée de vie des tuyaux et la résistance des moteurs à un fonctionnement continu de plusieurs mois nous ont incités à acquérir des pompes volumétriques. Le choix des gammes de débit est expliqué en fin de paragraphe.

- de deux pompes doseuses (IWAKI, Q<sub>max</sub> = 0,6 L.h<sup>-1</sup>) reliées à des jerricans réfrigérés contenant les solutions de nitrates, éthanol et phosphates; les cannes d'injection étant implantées en pied de colonne (Figure 35e).
- de quatre capteurs de pression absolue placés le long de la colonne à 25, 35, 74 et 110,5 cm de hauteur (Cerabar T PMC131, Endress+Hauser) (Figure 35, P1 à P4). Les capteurs placés à 25 et 37 cm balaient la gamme 0-400 mbar tandis que les capteurs placés à 74 et 98 cm balaient la gamme 0-200 mbar. Leur précision est reportée dans le Tableau 10.
- de deux capteurs oxygène dissous à membrane (OOS 4, Endress+Hauser), de deux capteurs conductivité électrique/température (série WEC, WALCHEM), de deux capteurs redox (électrode de référence Ag/AgCl/KCl, série WEL, WALCHEM) et de deux électrodes pH (Ceratex OPS31, Endress+Hauser) (Figure 35f). Pour chaque doublon, un capteur se situe en entrée de colonne quand l'autre est placé en sortie. Les plages et précisions de mesures sont reportées dans le Tableau 10. Les valeurs de conductivité électrique sont automatiquement corrigées de la température et données à 25°C. Les valeurs du potentiel redox sont rapportées à l'électrode standard à hydrogène (correction de + 207 mV).

	Plage de mesure	Précision
<i>Pression</i>	0-200 mbar	1 mbar
<i>Pression</i>	0-400 mbar	2 mbar
<i>Oxygène dissous</i>	0,5-20 mg/L	0,05 mg/L
<i>pH</i>	2-12	0,02
<i>Conductivité électrique (<math>\sigma</math>)</i>	0-10000 $\mu$ S/cm	100 $\mu$ S/cm
<i>Potentiel Redox (Eh)</i>	$\pm$ 1400 mV	6 mV
<i>Température (T)</i>	-5-80°C	1°C

Tableau 10 : Plages de mesures et précisions des capteurs implantés en entrée et sortie de colonne

- d'un système de by-pass permettant d'isoler les capteurs pour leur étalonnage et leur entretien sans interrompre l'alimentation des colonnes,
- d'un ensemble de vannes réparties sur la tuyauterie pour la vidange du système et le prélèvement d'échantillons,

- d'une unité électronique WebMaster Walchem pour la programmation des pompes doseuses et l'enregistrement en continu des mesures de pression, d'oxygène dissous, de conductivité/température, de pH, et des volumes de gaz (pas de temps d'acquisition minimum de 2 minutes) (Figure 35g). Dans le cas d'un raccordement internet, les données peuvent être consultées à distance,
- d'un onduleur protégeant le système des surtensions et permettant une autonomie de 30 minutes en cas de coupures d'électricité,
- d'un réfrigérateur maintenant les solutions de nitrates/phosphates et d'éthanol à 4°C.

Le container est équipé d'un radiateur et d'un climatiseur réversible pour limiter les variations de température.

Une précision mérite d'être apportée quant à la gamme de débit ayant déterminée le choix des pompes d'alimentation principale. A l'époque de la conception du pilote, aucune donnée n'était encore disponible quant aux vitesses d'écoulement dans l'aquifère supra-toarcien (essais de traçage postérieurs à la conception du pilote *ex situ*). La gamme de vitesses prétendument applicable aux écoulements du site avait alors été estimée à  $10^{-5}$ - $10^{-2}$  m.s<sup>-1</sup>. Le calcul de la borne inférieure de  $10^{-5}$  m.s<sup>-1</sup> se basait sur un gradient hydraulique de 0.03 pour un pompage de 69 m<sup>3</sup>/h (données des pompages d'interférence 2004/2005) et une conductivité hydraulique de  $5.10^{-4}$  m.s<sup>-1</sup> caractérisant potentiellement le système fractures/chenaux. La borne supérieure de  $2.10^{-2}$  m.s<sup>-1</sup> avait été évaluée par l'équation de Hagen-Poiseuille pour un drain cylindrique de 0,5 m de rayon :

$$v = \frac{R^2}{8\eta} \left( \frac{\partial P}{\partial x} \right) = \frac{Q}{\pi R^2} \quad (20)$$

R : le rayon moyen d'un drain karstique estimé à 0,5m d'après les imageries de paroi en [L]

$\eta$  : la viscosité dynamique de l'eau en [M.L<sup>-1</sup>.T<sup>-1</sup>]

Q : le débit en [L<sup>3</sup>.T<sup>-1</sup>]

En prévision d'une colonne remplie d'un matériau de taille centimétrique résultant en une porosité d'environ 40%, l'obtention d'une gamme de vitesses moyennes d'écoulement allant de  $10^{-5}$  à  $2.10^{-2}$  m.s<sup>-1</sup> impose des débits compris entre 0,3 et 500 L.h<sup>-1</sup>. Techniquement, le balayage d'une telle gamme nécessite l'emploi d'au moins trois pompes couvrant des plages de débit différentes (0-10 L.h<sup>-1</sup>, 10-100 L.h<sup>-1</sup>, >100 L.h<sup>-1</sup>). Les pompes permettant des débits supérieurs à 100 L.h<sup>-1</sup> ont été écartées car les temps de résidence résultant potentiellement de tels débits étaient inférieurs à 5 minutes pour une colonne métrique. Ces temps paraissaient trop courts pour espérer un rendement de dénitrification significatif. Pour indication, les temps rapportés dans la littérature sont extrêmement variables selon les conditions d'expérimentation, Moore and Schroeder (1970) obtiennent des rendements de 90%



pour un temps de résidence  $T_r$  de 2 jours, Cirinesi et al. (1992) atteignent ce même rendement pour un temps  $T_r$  de 6 h tandis que 15 mn suffisent lors des expérimentations de Trouvé (1998). Finalement, pour un milieu caractérisé par une porosité d'environ 40%, le pilote est équipé pour tester des vitesses allant de  $10^{-5}$  à  $4.10^{-3}$   $m.s^{-1}$  et correspondant à des temps de séjours moyens de 5 minutes à 33 heures. La gamme haute des vitesses estimées ( $2.10^{-2}$   $m.s^{-1}$ ) et mesurées ( $7,3.10^{-3} < u_{pic} < 3,5.10^{-2}$   $m.s^{-1}$ , doublets M20-M7 et MP6-M7) ne peut être échantillonnée.

Le coût total de conception et d'implantation du pilote *ex situ* s'élève à 100 k€. Sa réalisation est possible grâce au soutien financier de la région Poitou-Charentes.



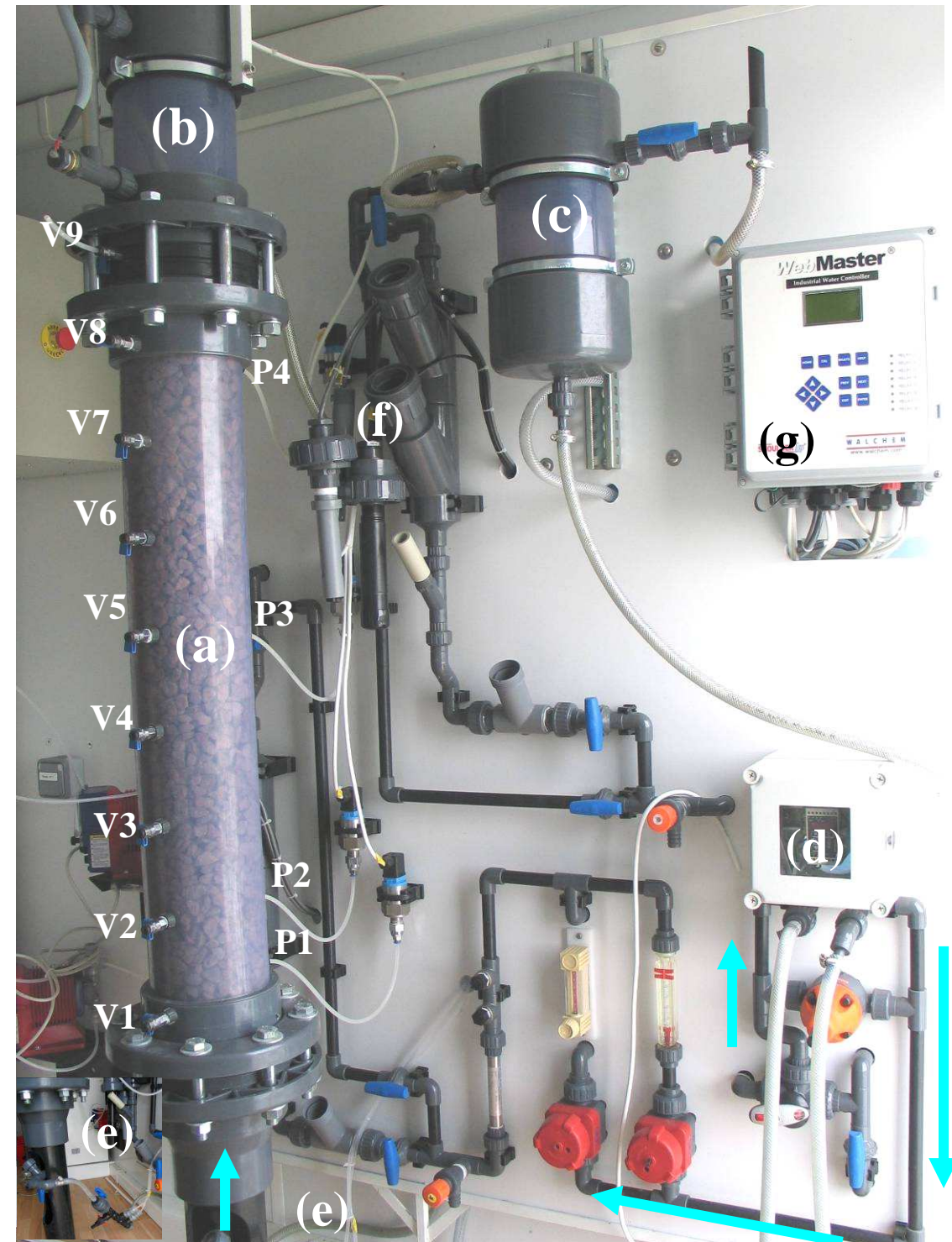
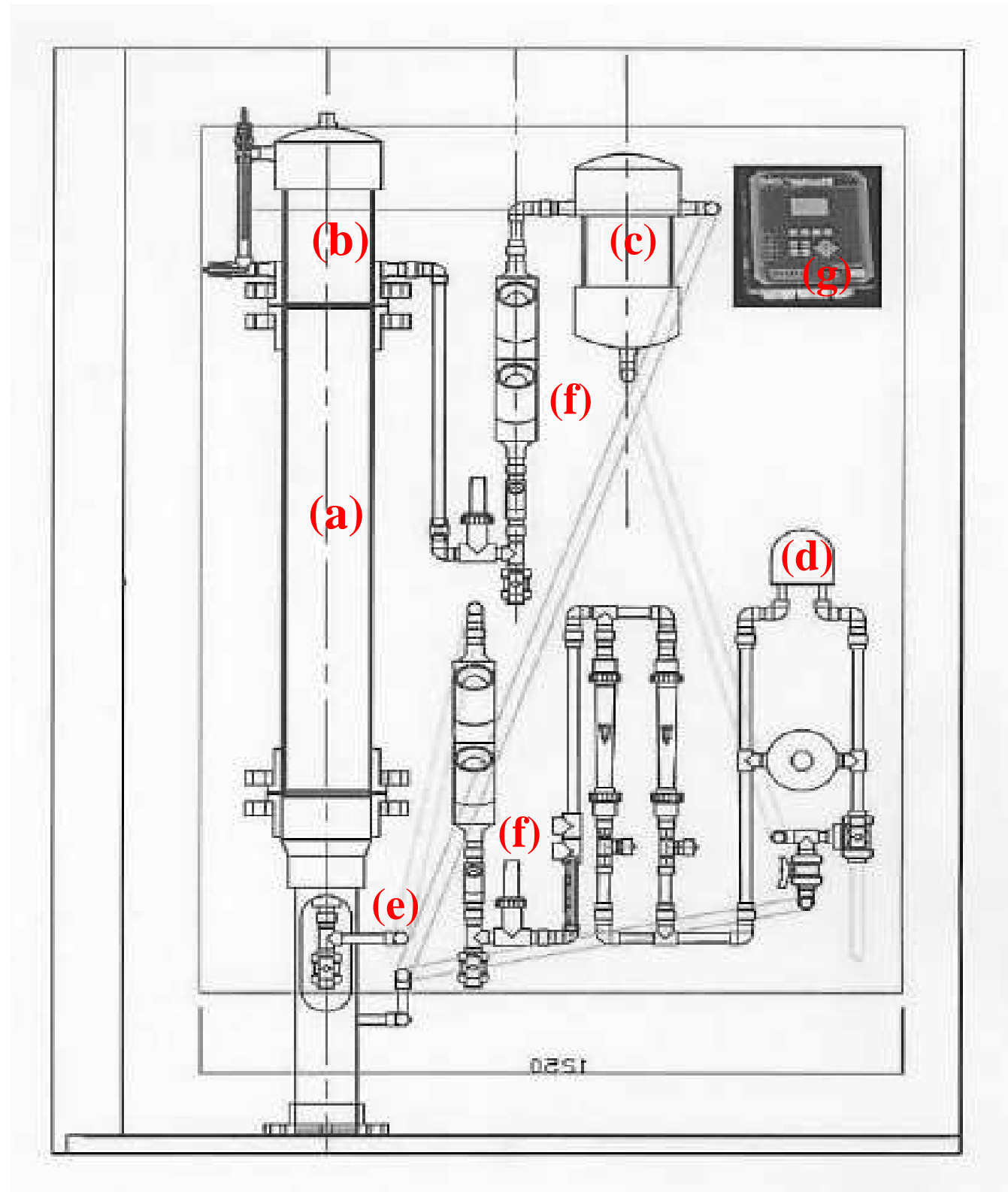


Figure 35 : Equipement des unités de dénitrification.

a) Colonne PVC garnie de concassé calcaire, vannes de prélèvement V1 à V9, b) vase d'expansion équipé d'une électrovanne, c) vase de trop plein, d) unité de gestion de la pompe volumétrique et emplacement disponible pour une pompe péristaltique, e) canne d'injection pour les solutions de  $\text{NaNO}_3/\text{KH}_2\text{PO}_4$  et d'éthanol, robinet de prélèvement des échantillons d'entrée, f) ligne de capteurs oxygène dissous, conductivité, pH, Eh. La ligne présentée ici en sortie est aussi présente en amont de colonne, g) unité webmaster d'enregistrement des données de capteurs physico-chimiques. Les points P1 à P4 indiquent l'emplacement des capteurs de pression. Les flèches bleues indiquent le sens d'écoulement de l'eau.



### 3.1.1.3 Matériau de garnissage

Les colonnes sont garnies de calcaire concassé. Ne disposant pas de matériau en provenance du SEH, le concassé est fourni à titre gracieux par la carrière des Minières (Payré, 86) exploitant les strates du Bajocien moyen. La porosité moyenne du grain de concassé est de 2 %, comparable aux valeurs les plus basses mesurées sur des échantillons du carotté C1 mais inférieure à la porosité moyenne de  $13,9 \pm 5,8$  % calculée sur la hauteur complète du carotté (Chatevaire, 2006). Sa taille moyenne annoncée est de 1,5 cm engendrant un ratio diamètre colonne/taille concassé de 10. Afin d'éviter les volumes morts, la partie haute du pied de colonne située sous la grille inox est elle aussi garnie de concassé. Ce remplissage complémentaire conduit à une longueur totale de matériau de 1,18 m en place et lieu du mètre initial. Le calcaire est tassé dans la colonne avant d'être saturé lentement par un écoulement ascendant.

Une colonne contient environ 28 kg de calcaire de masse volumique égale à  $2676 \text{ kg.m}^{-3}$ . Une approximation grossière de la surface disponible pour la colonisation bactérienne peut être faite si l'on considère des grains sphériques de 1 cm de rayon. On obtient alors une surface S de  $3 \text{ m}^2$ . Si l'on doit par la suite rattacher cette surface à celle qui pourrait être exposée *in situ*, il faut considérer le volume dans lequel elle se développe. On obtient dans le cas du pilote une surface volumique  $S_v$  de  $167 \text{ m}^2/\text{m}^3$  de réacteur pilote.

### 3.1.2 Caractéristiques hydrologiques et biologiques initiales

#### 3.1.2.1 Propriétés hydrodynamiques et hydrodispersives du milieu nonensemencé

*Type d'écoulement en présence : laminaire/turbulent*

Le Tableau 11 reporte les valeurs du nombre de Reynolds (équation (21)) à  $13^\circ\text{C}$  pour 3 débits testés. Quelle que soit la longueur caractéristique utilisée (taille du grain de concassé ou taille moyenne de l'hétérogénéité locale), le nombre de Reynolds est inférieur à 60, limite au-delà de laquelle plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que les écoulements deviennent turbulents (Musy and Soutter, 1991). Pour les valeurs calculées, nous considérons donc que les écoulements sont laminaires pour les débits inférieurs à  $45 \text{ L.h}^{-1}$ .

$$Re = \frac{uL_c}{\nu} \quad (21)$$

$u$  la vitesse moyenne de pore calée sur les courbes de traçages en [L.T<sup>-1</sup>]

$L_c$  la longueur caractéristique du concassé en [L]

$\nu$  la viscosité cinématique de l'eau à la température moyenne d'expérimentation [L<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>]

Q (L.h <sup>-1</sup> )	Re*	Re**
45	21	54
20	10	26
5	2	6

Tableau 11: Nombres de Reynolds calculés sur la gamme de débit testée.

$Re^*$  : longueur caractéristique égale à la taille moyenne du concassé (1,5 cm),  $Re^{**}$  : longueur caractéristique égale à la dispersivité moyenne (3,8 cm), i.e. à la taille moyenne de l'hétérogénéité locale.

### Conductivité hydraulique

La conductivité hydraulique  $K$  à 13°C est calculée en appliquant la loi de Darcy (22) (Darcy, 1856) sur la base des pressions mesurées par les capteurs. Cette relation reste valide dans la limite où l'écoulement est laminaire et que le milieu peut être considéré comme homogène, ce qui est le cas pour le milieu initial non ensemencé. Nous verrons ultérieurement que lorsque le biofilm s'installe sur le concassé, l'hypothèse d'homogénéité est remise en cause. Cependant, les variations de pressions seront toujours interprétées selon la relation (22) en considérant, en première approximation, que les écoulements restent laminaires.

$$K_{i-j} = q \frac{\Delta x_{i-j}}{\Delta P_{i-j}} \frac{\nu_T}{\nu_{13^\circ C}} \quad (22)$$

$i, j$  les numéros des capteurs de pression

$\Delta x$  la distance entre les capteurs en [L]

$\Delta P$  la différence de pression en hauteur d'eau corrigée de la distance entre capteurs [L]

$q$  la vitesse de Darcy en [L.T<sup>-1</sup>]

$\nu_T$  la viscosité cinématique de l'eau à la température  $T$  de mesure [L<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>]

$\nu_{13^\circ C}$  la viscosité cinématique de l'eau à 13°C et égale à  $1,208 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

avec

$$q = \frac{Q}{A} \quad (23)$$

Q le débit en [L<sup>3</sup>.T<sup>-1</sup>]

A la section de colonne en [L<sup>2</sup>]

Le milieu initial étant fortement conducteur, les capteurs de pression ne sont pas suffisamment sensibles (sensibilité de l'ordre de 1 mbar) pour calculer la conductivité hydraulique initiale. A 92 L. h<sup>-1</sup>, la variation de pression entre les capteurs 1 et 4 reste inférieure à 1 mbar. De fait, le milieu initial non ensemencé se caractérise par une conductivité hydraulique d'au moins 10<sup>-1</sup> m.s<sup>-1</sup>.

#### *Porosité cinématique $\theta_i$ et dispersivité $\alpha_i$ initiales*

Chaque colonne est soumise à une série de tests de traçage à différents débits (4 < Q < 50 L.h<sup>-1</sup>) servant à déterminer les propriétés hydrodispersives initiales résultant de l'arrangement du concassé dans la colonne de PVC. Les traçages utilisent de la fluorescéine injectée de manière instantanée dans un septum auto-cicatrisant situé en pied de colonne (Figure 35e). Pour limiter la contamination bactérienne du milieu, la solution de fluorescéine est préparée à partir d'eau osmosée stérilisée par filtration à 0,22 µm. Les prélèvements sont réalisés au point d'échantillonnage n°9 (Figure 35a). Par le biais d'un fin conduit percé dans la galette et atteignant le trou central, ce point permet l'échantillonnage du flux homogénéisé en sortie de colonne. Les concentrations de fluorescéine sont analysées avec un spectrofluorimètre FluoroMax®-3.

Les courbes de restitution représentent l'évolution de la concentration en fonction du temps. Elles sont calées avec une solution 1D de l'équation de convection-dispersion pour un milieu semi-infini :

$$C(t) = \frac{ML}{Q\sqrt{4\pi Dt^3}} \exp\left(-\frac{(L-ut)^2}{4Dt}\right) \quad (24)$$

M la masse de fluorescéine injectée [M]

L la longueur de la colonne garnie de concassé égale à 118 cm en [L] (pied de colonne inclus)

Q le débit en [L<sup>3</sup>.T<sup>-1</sup>]

D la dispersion en [L<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>]

u la vitesse moyenne de pore en [L.T<sup>-1</sup>]

t le temps en [T]

Les paramètres de porosité cinématique  $\theta$  et de dispersivité  $\alpha$  sont calculés de la manière suivante :

$$\theta = \frac{q}{u} \quad (25)$$

$$\alpha = \frac{D}{u} \quad (26)$$

Notons qu'au regard de la faible porosité matricielle du concassé calcaire (2%) et des temps de transport testés dans les colonnes, le processus de rétention par diffusion dans la porosité matricielle est négligé.

Chaque colonne donne lieu à un jeu de N couples  $(\theta, \alpha)$  fonction des N débits testés. Les colonnes sont ensuite comparées les unes aux autres par le biais du test non paramétrique de Mann-Whitney (annexe 4) appliqué aux jeux  $(\theta, \alpha)$ . Il apparaît que les colonnes ont des caractéristiques hydrodispersives moyennes similaires. En conséquence, il est possible d'avancer un jeu de valeurs moyennes  $(\theta_i, \alpha_i)$  calculées sur 23 couples  $(\theta, \alpha)$  (Tableau 12). Ce jeu caractérise le milieu initial colonne/concassé. Pour indication, le nombre de Péclet ( $Pe$ ) est aussi reporté dans le Tableau 12. Ce nombre traduit l'importance relative du processus de convection vis-à-vis du processus de dispersion. Il est calculé à partir de la relation suivante :

$$Pe = \frac{uL}{D} \quad (27)$$

	moyenne	écart type
$\theta_i$ (%)	40	2
$\alpha_i$ (m)	0,038	0,009
$Pe_i$	33,2	8,2

Tableau 12 : Porosité cinématique  $\theta_i$ , dispersivité  $\alpha_i$ , et Péclet  $Pe_i$  moyens initiaux calculés sur 23 couples  $(\theta, \alpha)$ , soit 5 à 6 débits testés par colonne.

A l'échelle d'une colonne de laboratoire et pour un milieu poreux homogène, la dispersivité  $\alpha$  est généralement de l'ordre du diamètre moyen des grains (Pfannkuch, 1963). La valeur de dispersivité moyenne calculée est légèrement supérieure à celle attendue ( $\approx 1,5$  cm). Ce résultat est probablement le fait d'effets de parois engendrés par le faible ratio entre la taille du concassé et le diamètre de la colonne. L'homogénéité statistique du milieu n'est cependant pas remise en cause puisque la valeur de dispersivité reste de l'ordre de la taille de l'hétérogénéité locale, i.e. de la taille du grain.



### 3.1.2.2 Caractéristiques physico-chimiques de l'eau d'alimentation

Le pilote est alimenté en continu par l'eau du forage MP7 dont les caractéristiques physico-chimiques sont reportées dans le Tableau 13. Les faibles écart-types indiquent que les propriétés physico-chimiques de l'eau d'alimentation sont stables entre janvier 2008 et mai 2009. Le choix du forage MP7 est fondé sur des considérations logistiques (proximité de la zone plane d'implantation du pilote).

	Moyenne	Ecart-type
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	14,9	1,2
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	0	-
Cl <sup>-</sup> (mg/L)	21,2	1,0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	12,2	0,8
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	0	-
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	359	2
Ca <sup>2+</sup> (mg/L)	120	2
Mg <sup>2+</sup> (mg/L)	4,7	0,3
Na <sup>+</sup> (mg/L)	16	1
K <sup>+</sup> (mg/L)	1	0,1
COD (mg/L)	0,6	0,3
O <sub>2</sub> (mg/L)	4,68	0,32
pH	6,92	0,19
σ <sub>25°C</sub> (μS/cm)	625	50
Eh (mV)	526	33
Température (°C)	13	1

*Tableau 13 : Propriétés physico-chimiques moyennes de l'eau d'alimentation (forage MP7). Les valeurs indiquées constituent des moyennes calculées sur les données 2008-2009. Pour les anions et cations, ces moyennes sont calculées à partir de prélèvements au sein du forage MP7 (campagnes de chimie 2008 et 2009) et de prélèvements sur le flux excédentaire pompé (janvier 2008-janvier 2009). Pour la température, les teneurs en oxygène dissous et le pH, la conductivité électrique spécifique à 25°C (σ<sub>25°C</sub>) et le potentiel redox (Eh), les moyennes sont calculées à partir des mesures effectuées par les sondes situées en entrée de colonne (pas de temps d'acquisition de 10 minutes).*

Soulevons tout de même une caractéristique d'intérêt pour la dénitrification à savoir la teneur d'oxygène dissous de ce forage. En effet, lorsqu'un écoulement radial convergent prend place à l'échelle du site, les mesures d'oxygène dissous réalisées sur les forages M1, M2, M5, M6, M22, M16,

M20, M22, MP6 montrent que quelle que soit la province hydrochimique initiale du forage d'observation (Cf. §2.4.2.1), les concentrations s'homogénéisent au profit des concentrations élevées ( $3,2 \leq O_2 \leq 4,9$  mg/L). La concentration mesurée pour le forage MP7 est de 4,68 mgO<sub>2</sub>/L, représentative des concentrations prévalant sur le site en condition d'écoulement forcé. Il existe tout de même une différence entre la valeur de 3,4 mg/L donnée par un capteur placé au sein du forage et la valeur moyenne indiquée par les sondes en entrée de platine. Cette différence provient probablement d'une entrée d'air sur la ligne d'alimentation du pilote.

### 3.1.2.3 Ensemencement

Le pilote repose sur la stimulation de l'activité dénitrifiante de bactéries hétérotrophes autochtones. Aucune souche extérieure n'est donc apportée. L'ensemencement du milieu résulte de deux procédés :

- 1- Le garnissage de la colonne par 25% de concassé préalablement immergé au sein de forage de la province 1 (méthode similaire à celle décrite pour les essais en batchs). La province 1 est retenue en raison d'un consortium bactérien hétérotrophe *a priori* plus efficace (Cf. §2.5),
- 2- La circulation continue d'eau pompée sur le forage MP7 durant les quatre mois précédents le début des expériences de dénitrification.

Pour éviter une contamination bactérienne extérieure, les 75% de concassé de garnissage n'ayant pas été immergé sont stérilisés, préalablement au remplissage de la colonne, par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

L'un des objectifs étant d'appréhender l'influence des vitesses testées sur l'implantation et le développement du biofilm, les expérimentations à différents débits sont séparées par des phases de nettoyage de colonne visant la suppression du biofilm et la restauration des propriétés hydrauliques initiales. Deux méthodologies ont été chronologiquement utilisées :

#### 1- Rinçage à fort débit → Méthodologie R

Lors des premiers essais, l'application d'un débit supérieur à 70 L.h<sup>-1</sup> pendant 15 à 30 jours semblait suffisante pour atteindre les objectifs fixés. Un traçage réalisé à la fin d'une phase de rinçage avait démontré le succès de cette méthodologie.

#### 2- Démontage, Remaniement → Méthodologie DR

Dans certains cas, le développement fut tel que le démontage complet d'une colonne révéla que le biofilm pouvait rester en place en dépit d'une phase de rinçage à fort débit R. Suite à cela, les colonnes ont été démontées entièrement avant chaque nouveau débit. La colonne était alors vidée et le concassé brassé et rincé avec de l'eau du forage MP7. Il était ensuite replacé dans la colonne suivant un mode de remplissage identique à celui utilisé lors de la mise en route du pilote.

### 3.1.3 Méthodologie générale des essais de dénitrification

La schématisation de la méthodologie suivie est reportée sur la Figure 36. Les essais de dénitrification se déroulent en deux étapes. L'objectif final étant de déterminer les cinétiques macroscopiques de dénitrification pour un régime réactif instauré, une phase préalable d'initiation et de stabilisation du processus est nécessaire (phase 1). Concrètement, cette première phase consiste en une injection continue d'eau du site amendée en nitrate/phosphates/éthanol. Elle dure le temps nécessaire à l'obtention d'un régime de dénitrification stable dont le critère d'évaluation est le rendement de réduction des nitrates. Pour des questions d'organisation, cette durée n'excède cependant pas le mois et demi. Cette première phase est une phase de mise en régime. Lorsque ce rendement est stable, l'alimentation de la colonne en solutions externes (nitrates/éthanol/phosphates) est interrompue pour une durée permettant de renouveler deux à quatre fois le volume poral initial. Cette période de carence permet d'éliminer toutes concentrations résiduelles dues à l'injection continue de la phase 1. A la suite de cette période, une phase d'essais de traçage (phase 2) est initiée. Les résultats sont destinés à la modélisation des cinétiques de dénitrification. Un traçage réactif (TR)  $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ /éthanol est tout d'abord réalisé suivi, dans les 48h, d'un traçage passif (TP) à la fluorescéine. Afin de limiter les modifications des propriétés du biofilm, la durée séparant les deux traçages est assortie d'une injection continue de  $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ /éthanol. A chaque débit testé la succession de phases 1 et 2, i.e. mise en régime puis traçage, est répétée. Les colonnes étant statistiquement identiques, les essais à différents débits sont répartis entre les unités.

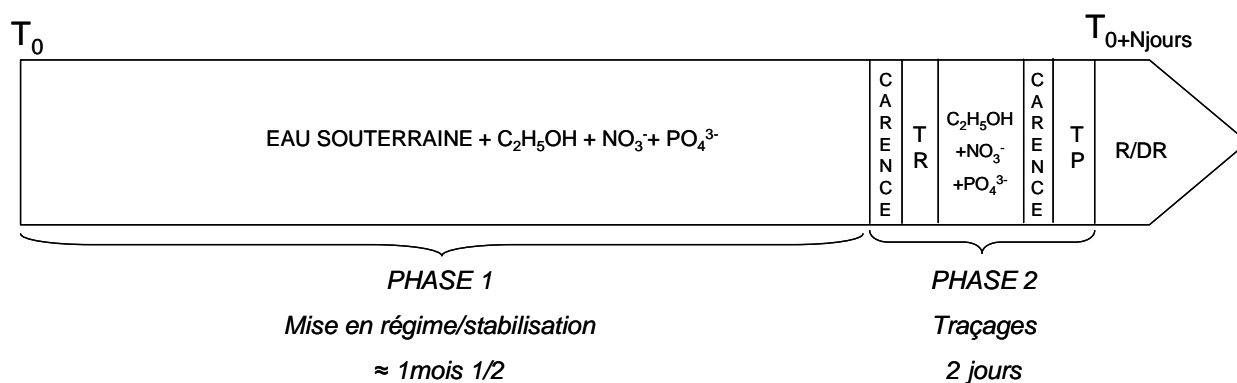


Figure 36 : Méthodologie des essais de dénitrification répétée à chaque débit. Un essai se déroule en deux phases. La phase 1 vise la stabilisation du régime de dénitrification. La phase 2 comprend un traçage réactif  $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ /éthanol (TR) et un traçage passif à la fluorescéine (TP). Cette phase sert de support à la modélisation des cinétiques macroscopiques de dénitrification. Les deux phases sont séparées d'une brève période de carence. Suite au traçage TP, la colonne est nettoyée (méthodologie R ou DR).



### 3.2 Phase 1, mise en régime et stabilisation : une première évaluation de l'intensité du processus de dénitrification et de sa traduction hydrodynamique

Cette partie retrace les résultats et premières conclusions tirées des essais continus de dénitrification *ex situ*. Après une présentation de la méthodologie employée, deux axes principaux sont abordés incluant les modifications physiques du milieu engendrées par la stimulation bactérienne et les performances de dénitrification mesurées. Les deux points sont abordés sous un angle descriptif plus que quantitatif; la détermination des paramètres de transport et de cinétique étant relégués dans le chapitre qui concerne la phase des essais de traçage (phase 2). En supplément, cette partie inclut quelques pistes utiles à l'optimisation d'une éventuelle réalisation *in situ*.

#### 3.2.1 Méthodologie des essais continus

##### 3.2.1.1 Débits d'alimentation et gamme de vitesses testée

La capacité complète des pompes n'a pas été utilisée. La réduction des temps de séjour engendrée par le développement bactérien (et la diminution de porosité inhérente) nous a conduits à limiter le débit maximum des essais à  $40 \text{ L.h}^{-1}$ , débit correspondant à une vitesse moyenne d'écoulement dans le milieu nonensemencé de  $1,7 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ . La gamme des débits inférieurs à  $5 \text{ L.h}^{-1}$  ( $u < 2 \cdot 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$ ) a également été sacrifiée. L'injection se faisant en créneau lors des traçages (phase 2), les temps d'expérimentation sont considérablement allongés aux débits les plus faibles. Ainsi, à  $5 \text{ L.h}^{-1}$ , la durée de suivi d'un traçage est d'environ 10 heures. Par confort, le débit de  $5 \text{ L.h}^{-1}$  a donc été retenu comme la borne inférieure des débits testés.

La gamme de vitesse ainsi testée pour un milieu nonensemencé s'étend de  $2 \cdot 10^{-4}$  à  $1,7 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ . La Figure 37 compare cette gamme aux vitesses  $u_{pic}$  mesurées *in situ*. On remarque que la gamme testée sur le pilote *ex situ* correspond approximativement aux valeurs les plus faibles des vitesses fortes mesurées sur site ( $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1} < u_{pic} < 3,5 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ ).

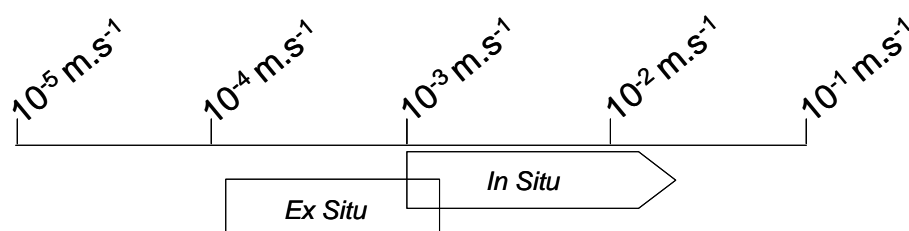


Figure 37 : Comparaison entre la gamme de vitesses testée sur le pilote *ex situ* et les vitesses fortes ( $u_{pic}$ ) rencontrées sur site lors des essais de traçage.

### 3.2.1.2 Cycles d'injection

L'injection d'éthanol d'une part et de nitrates/phosphates d'autre part est effectuée par une pompe doseuse dont le débit est d'environ  $0,1 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$  soit au maximum 2% du débit d'alimentation. Afin d'éviter les problèmes de colmatage engendrés par un surdéveloppement bactérien (consommation continue d'éthanol et de phosphates), les doseuses ont été programmées pour s'interrompre de 12 h à 15 h et de 0 h à 3 h. La programmation des deux doseuses ne pouvant être désolidarisée, l'interruption concerne l'injection d'éthanol ainsi que celle de nitrates/phosphates. Dans la nuit précédant un traçage, l'interruption 0-3 h du matin est supprimée.

### 3.2.1.3 Solutions injectées : préparation, conservation et approvisionnement

Les solutions mères de  $\text{NaNO}_3$  et de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sont préparées à base d'eau osmosée et sont stérilisées par autoclavage à  $120^\circ\text{C}$  pendant 20 mn. La solution mère d'éthanol est stérilisée par filtration sur filtre nylon  $0,22 \mu\text{m}$ . Ces solutions sont stockées à  $4^\circ\text{C}$  dans les réfrigérateurs du pilote. Elles permettent l'approvisionnement des jerricans réfrigérés. L'approvisionnement est effectué deux fois par semaine en diluant sur site les solutions mères avec de l'eau osmosée stérilisée par autoclavage à  $120^\circ\text{C}$  pendant 20 mn. La dilution est effectuée à l'aide d'une éprouvette graduée d'un litre. En raison du manque de précision de cette éprouvette, un prélèvement de la solution diluée est analysé pour s'assurer de la concentration du mélange.

### 3.2.1.4 Ratios C/N, P/N et concentrations en nitrate

Le réglage des doseuses et les concentrations des solutions contenues en jerricans imposent une concentration d'entrée en nitrates comprise entre 100 et 150 mg/L. En fonction du débit appliqué, ces concentrations génèrent des charges de 14 à  $88 \text{ gNO}_3^-/\text{j}$ .

L'éthanol est ajouté en excès. Le ratio molaire C/N moyen est de 1,9 supérieur aux valeurs de 1,2-1,3 préconisés par Philipot (1985) pour la dénitrification d'une eau contenant  $4,7 \text{ mgO}_2/\text{L}$ . Pour stimuler la croissance bactérienne, des phosphates sont ajoutés à raison d'un P/N de 0,0025. Afin de prévenir les problèmes de surdéveloppement bactérien, ce ratio est volontairement inférieur à 0,0045, ratio généralement préconisé par Richard and Partos (1985), Rogalla et al. (1990) et Hunter (2003).

L'analyse des échantillons d'entrée de colonne montre que la concentration en nitrates varie au cours des essais (Tableau 14). Ces variations résultent probablement de plusieurs facteurs tels que :

- les variations du débit d'alimentation (entre 0,5 et 6 %) notamment lorsque ce débit est régulé par les pompes péristaltiques. Dans ce cas, l'usure du tuyau d'écrasement peut générer une baisse temporaire du débit d'alimentation.
- les légères variations de concentration dans les jerricans (entre 1 et 4 %),
- la sensibilité des pompes doseuses aux variations de pression dans la colonne. La pression varie lorsque les gaz s'accumulent dans le vase d'expansion ou que l'électrovanne s'ouvre pour relâcher les gaz. La pression varie aussi lorsque le biofilm se développe dans la colonne et probablement au niveau de la canne d'injection. Enfin la pression varie au moment du prélèvement lorsque le robinet en pied de colonne est ouvert. L'influence de ces variations est difficilement quantifiable.

### 3.2.1.5 Prélèvements et analyses

Les prélèvements d'eau sont effectués quotidiennement. Un échantillon est prélevé en entrée de colonne et un échantillon est prélevé en sortie de colonne (V9, Figure 35 ae). Une fois par semaine, des prélèvements supplémentaires sont effectués sur la hauteur complète de colonne (V1-V8). Les prélèvements sont toujours effectués du haut vers le bas de la colonne de manière à ne pas perturber le profil de concentrations.

Les échantillons prélevés sont filtrés à 0,22 µm sur filtre nylon et conservés à 4°C. Les concentrations en nitrates, nitrites, sulfates, chlorures et phosphates sont analysées par chromatographie ionique (DIONEX\_ICS1000). Les échantillons dont la concentration en nitrate est supérieure à 100 mg/L sont dilués au 10<sup>ème</sup>. L'ammonium est dosé ponctuellement à l'aide de bandelettes colorimétriques semi quantitatives (Quantofix).

L'éthanol est dosé au travers du carbone organique dissous. Il est important de préciser que le COD n'est pas une mesure sélective de l'éthanol et qu'en contexte d'activité bactérienne, les valeurs sont susceptibles d'intégrer une concentration de carbone dissous induite par des sous produits bactériens (Cirinesi et al., 1992). En entrée de colonne, l'incertitude sur la valeur reste cependant limitée car l'eau souterraine ne contient qu'une très faible quantité de COD ( $\approx 0,6$  mg/L), les concentrations mesurées de l'ordre de 50 mg/L sont donc entièrement attribuables à l'éthanol injecté. En sortie de colonne, la corrélation positive entre la quantité de carbone excédentaire et la baisse du rendement de réduction des nitrates confirment qu'une part du carbone mesuré est bien engendrée par la présence d'éthanol résiduel (Figure 38). Le COD est analysé avec un COT-mètre (Shimadzu TOC-V-TNM-ASI). L'accès au COT-mètre (laboratoire LCEE) n'étant pas régulier, des lacunes sont présentes dans les mesures.

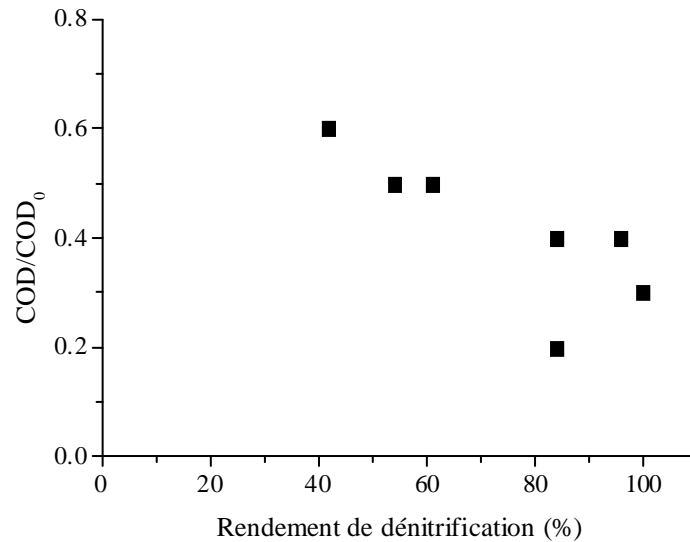


Figure 38 : Relation entre le carbone organique dissous (COD) résiduel en sortie de colonne et le rendement de dénitrification

Les paramètres de température, pH, Eh, conductivité et oxygène dissous sont analysés en continu et enregistrés toutes les 10 minutes par les sondes installées en entrée et en sortie de colonne. En dépit d'un nettoyage fréquent lorsque le processus de dénitrification est initié, les capteurs de sortie sont rapidement recouverts d'un film bactérien. Pour plusieurs essais, les déclenchements de l'électrovanne ne sont pas fiables en raison de dysfonctionnements liés aux conditions particulières d'utilisation, à savoir des défauts d'étanchéité liés à des dépôts bactériens et l'apparition de concrétions sur l'électrode de niveau. Les valeurs de conductivité électrique ne seront pas discutées par la suite en raison de pannes sur les capteurs.

### 3.2.2 Conditions d'expérimentation

Le Tableau 14 présente les conditions dans lesquelles se sont déroulés les essais de dénitrification. Le débit moyen est calculé sur la base des mesures quotidiennes. Les concentrations en nitrates ainsi que les paramètres de température, d'oxygène dissous, de pH et d'oxydo-réduction Eh sont des moyennes calculées en entrée de colonne sur la durée totale d'expérimentation.



Essai	A	B	C	D	E	F	G
Colonne	3	3	4	4	2	3	1
Q (L/h)	5,1 (0,3)	9,9 (0,1)	11,9 (0,3)	20,1 (0,1)	30,1 (0,1)	40,1 (0,2)	40,2 (0,2)
Durée (j)	30	45	47	35	36	37	43
Nettoyage	DR	R	DR	R	R	R	DR
T (°C)	13 (2)	13 (2)	13 (2)	14 (1)	13 (1)	13 (1)	13 (0)
O <sub>2</sub> (mg/L)	4,63 (0,33)	4,64 (0,14)	4,54 (0,12)	4,75 (0,11)	4,75 (0,22)	4,65 (0,07)	4,71 (0,11)
pH	6,93 (0,04)	6,83 (0,02)	- -	6,81 (0,03)	6,95 (0,3)	6,84 (0,01)	6,89 (0,04)
Eh (mV)	476 (16)	- -	- -	516 (41)	547 (37)	514 (13)	552 (20)
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	146,7 (14,9)	135,8 (12,5)	109,8 (8)	131,5 (10,8)	134,7 (32,9)	115,6 (17,3)	121,5 (11,3)

Tableau 14 : Stabilité des conditions physico-chimiques lors des essais de dénitrification. Le mode de nettoyage précédant l'essai est indiqué par DR : démontage et remaniement ou R : rinçage de la colonne à 70 L.h<sup>-1</sup>. Les lacunes sont engendrées par des pannes sur les capteurs.

D'un essai à l'autre, les conditions de température, d'oxygène dissous, de pH et de potentiel redox sont comparables. La variabilité des réponses de dénitrification ne peut donc pas être imputée au contexte physico-chimique.

### 3.2.3 Propriétés hydrodynamiques des colonnesensemencées en bactéries

#### 3.2.3.1 La conductivité hydraulique témoin du développement du biofilm

La Figure 39 donne un exemple type de la décroissance suivie par la conductivité hydraulique K<sub>1-4</sub> au cours des essais de dénitrification.

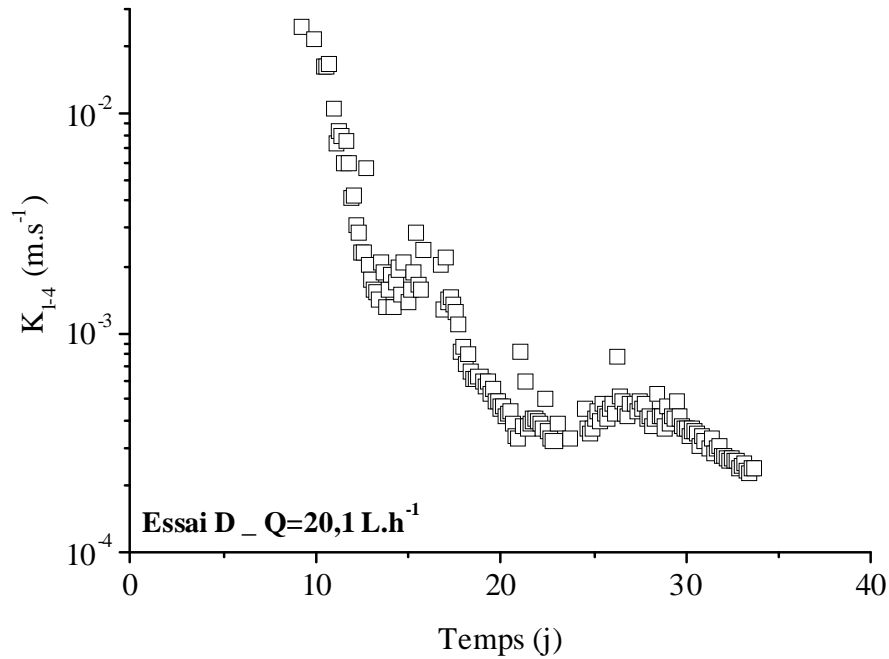


Figure 39 : Décroissance de la conductivité hydraulique  $K_{1-4}$  lors des essais de dénitrification: exemple de l'essai D.

En fonction de l'essai considéré, la diminution de conductivité hydraulique  $K_{1-4}$  atteint deux à trois ordres de grandeur (Tableau 15). Au regard des quelques données de conductivités hydrauliques intermédiaires  $K_{1-3}$  et  $K_{3-4}$  disponibles, la baisse n'affecte pas la colonne de manière homogène. La réduction de conductivité est supérieure dans la partie basse de la colonne (25-74 cm) en comparaison de la partie haute (74-110 cm).

Essai	A	B	C	D	E	F	G
Q (L.h <sup>-1</sup> )	5,1	9,9	11,9	20,1	30,1	40,1	40,2
$K_{1-4}$ ensencé (m.s <sup>-1</sup> )							
moyenne	$3,7 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	$3,4 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	-	$5,2 \cdot 10^{-4}$
écart-type	$6 \cdot 10^{-4}$	$7,4 \cdot 10^{-4}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	-	$3 \cdot 10^{-4}$
$K_{1-4}$ ensencé/ $K_{1-4}$ initial	0,037	0,014	0,034	0,003	0,011	-	0,005
$K_{3-4}$ ensencé/ $K_{1-3}$ ensencé	-	1,6	-	1,5	-	-	3,7

Tableau 15 : Valeurs de conductivités hydrauliques  $K_{1-4}$  calculées et ratio des conductivités hydrauliques calculées sur la partie haute ( $K_{3-4}$ ) et la partie basse ( $K_{1-3}$ ) de la colonne en fin de phase 1 (milieu ensencé). Les capteurs étant en surpression dès le 5<sup>ème</sup> jour de l'essai F ( $K_{1-4} < 2 \cdot 10^{-4}$  m.s<sup>-1</sup>), aucune donnée n'est disponible. Il en est de même pour le capteur n°3 de l'essai E. En dépit d'un milieu ensencé, les conductivités intermédiaires  $K_{1-3}$  et  $K_{3-4}$  des essais A et C ne sont pas calculables en raison du manque de sensibilité des capteurs. La conductivité hydraulique initiale  $K_{1-4}$  est une valeur minimum estimée à  $10^{-1}$  m.s<sup>-1</sup>.

En présence de populations bactériennes actives, deux facteurs principaux sont en mesure d'affecter la conductivité hydraulique:

- Le développement du biofilm au niveau des goulots d'étranglement des pores (Thullner et al., 2002) ou de manière continue à la surface des pores (Taylor and Jaffé, 1990).
- L'accumulation de biogaz (Soares et al., 1991; Cirinesi et al., 1992).

Attachons nous tout d'abord au facteur « biogaz ». D'une part, les conductivités hydrauliques calculées à une journée d'intervalle en conditions dénitrifiantes et en conditions de faible activité dénitrifiante sont comparables pour les essais A, B et G (Tableau 16). D'autre part, la conductivité hydraulique calculée en début d'essai F après 15 jours de carence nutritive, de nettoyage à fort débit et l'absence d'activité dénitrifiante est de  $1,7 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ , toujours inférieure à la conductivité hydraulique initiale proche de  $10^{-1} \text{ m.s}^{-1}$ . Donc, même si le piégeage des biogaz dans la colonne ne peut être totalement écarté, il ne constitue pas le facteur dominant de la modification de propriétés hydrauliques observée. La fréquence importante de déclenchement des électrovannes lorsque leur fonctionnement était encore fiable (essai B et D) témoigne d'ailleurs de l'évacuation des gaz produits.

	$K_{1-4}$ ensemencé (D) ( $\text{m.s}^{-1}$ )	$K_{1-4}$ ensemencé (ND) ( $\text{m.s}^{-1}$ )
Essai A_ Q=5,1 L.h <sup>-1</sup>	$2,8 \cdot 10^{-3}$ ( $3,9 \cdot 10^{-4}$ )	$2,6 \cdot 10^{-3}$ ( $3,6 \cdot 10^{-4}$ )
Essai B_ Q=9,9 L.h <sup>-1</sup>	$1,4 \cdot 10^{-3}$ ( $3,7 \cdot 10^{-4}$ )	$1,5 \cdot 10^{-3}$ ( $6,5 \cdot 10^{-4}$ )
Essai C_ Q=11,9 L.h <sup>-1</sup>	$3,5 \cdot 10^{-3}$ ( $6,2 \cdot 10^{-4}$ )	$6,9 \cdot 10^{-3}$ ( $5,3 \cdot 10^{-4}$ )
Essai D_ Q=20,1 L.h <sup>-1</sup>	$2,5 \cdot 10^{-4}$ ( $1,1 \cdot 10^{-5}$ )	$3,4 \cdot 10^{-4}$ ( $1,6 \cdot 10^{-5}$ )
Essai E_ Q=30,1 L.h <sup>-1</sup>	$1,7 \cdot 10^{-3}$ ( $9 \cdot 10^{-5}$ )	-
Essai F_ Q=40,1 L.h <sup>-1</sup>	-	-
Essai G_ Q=40,2 L.h <sup>-1</sup>	$7,8 \cdot 10^{-4}$ ( $2,2 \cdot 10^{-5}$ )	$7,4 \cdot 10^{-4}$ ( $1,8 \cdot 10^{-5}$ )

Tableau 16 : Conductivités hydrauliques moyennes calculées en conditions dénitrifiante (D) et non dénitrifiantes (ND) pour des colonnesensemencées. Les données sont prises à une journée d'intervalle lors des essais de traçage passif et réactif. Les lacunes sont engendrées par des surpressions dans le système.

Les modifications de conductivités hydrauliques calculées sont donc nécessairement engendrées par le développement du biofilm. Cette affirmation est appuyée par l'observation des colonnes lors de leur nettoyage. La présence d'une masse gélatineuse, cohésive et poreuse développée sur le support calcaire a ainsi pu être visualisée (Figure 40). Pour information, la littérature rapporte des réductions de conductivité hydraulique d'ampleur comparable en présence de populations bactériennes actives. Ainsi, Cunningham (1992) observe une réduction de la perméabilité de 92 à 98 % pour des essais en colonne remplie de billes de verres et de sables. Vandevivere and Baveye (1992) mesurent une baisse de plus de deux ordres de grandeur en présence de colonies bactériennes produisant un film gélatineux

dans une colonne de sable. Lorsque la charge en substrat appliquée est importante, l'hypothèse d'un biofilm continu à la surface du support est généralement confirmée Rittmann (1993). Dans ces conditions, Taylor et al. (1990) relie alors la réduction de conductivité à une réduction de porosité et à l'augmentation de l'épaisseur du biofilm. Les réductions de conductivités rapportées dans la littérature sont toujours associées à un matériau initial de taille caractéristique millimétrique voir infra-millimétrique. Dans le cas présent, si le contexte de nutrition se prête au développement bactérien, une occlusion aussi importante de la porosité n'était pas attendue (Figure 40).



Figure 40 : Différents états de colonisation du milieu par le biofilm. a) milieu initial, absence de biofilm, b) milieuensemencé, essai E à 30,1 L/h, c) milieuensemencé, essai F à 40,8 L/h

### 3.2.3.2 Intensité de la réduction de conductivité hydraulique et variation de l'intensité du développement du biofilm

Le Tableau 15 indique une variation dans l'intensité de la réduction de conductivité hydraulique en fonction des essais. La conductivité hydraulique tend à diminuer lorsque le débit imposé croît (Figure 41).

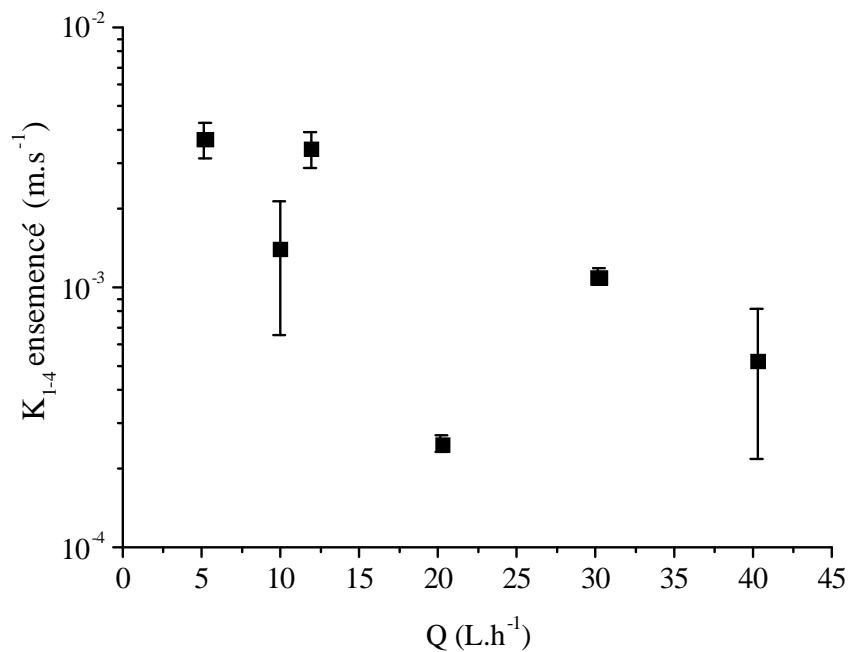


Figure 41 : Décroissance de la conductivité hydraulique  $K_{1.4}$  lorsque le débit augmente.

Deux hypothèses non exclusives peuvent alors être proposées pour expliquer cette relation. La première hypothèse considère que cette baisse est un artefact engendré par l'hétérogénéité du milieu. En effet, pour un milieu colonisé de façon identique et affecté par des phénomènes de chenalisation, l'augmentation du débit pourrait générer des écoulements turbulents dans les chenaux. Si tel est le cas, l'augmentation de pression mesurée intègre les forces inertielles. L'interprétation de cette augmentation par la loi de Darcy en écoulement laminaire conduirait alors à une sous-estimation de la conductivité hydraulique (Elsworth and Doe, 1986).

La seconde hypothèse repose sur un développement du biofilm plus important lorsque le débit augmente. L'augmentation du débit à concentrations initiales constantes ( $\text{NO}_3^- \approx 123 \text{ mg/L}$ ,  $\text{C/N} \approx 1,9$ ) génère une augmentation des flux massiques quotidiens de nitrate  $J_{E,N}$  et d'éthanol  $J_{E,C}$  en entrée de colonne. Lorsque le flux massique  $J_E$  augmente, les flux de nitrates et d'éthanol consommés respectivement nommés  $J_{\text{conso}_N}$  et  $J_{\text{conso}_C}$ , augmentent eux aussi (Figure 42). En faisant l'approximation que les proportions de nitrates et de carbone organique servant la synthèse bactérienne sont des constantes, i.e. les rendements cellulaires  $Y_N$  (masse de biomasse formée/masse de nitrate consommée) et  $Y_C$  (masse de biomasse formée/masse d'éthanol consommée) sont des constantes pour l'ensemble des essais, l'augmentation des flux  $J_{\text{conso}_N}$  et  $J_{\text{conso}_C}$  est synonyme d'une augmentation de la quantité de biomasse dénitrifiante dans le système. Vandevivere and Baveye (1992) remarquent d'autre part que les PEC (polymères extracellulaires) ont un rôle non négligeable dans la réduction de conductivité hydraulique. Dans la revue de Liu and Tay (2002), des études témoignent d'une

production supérieure de PEC (comparaison sur la base du ratio polysaccharide/protéines) lorsque les forces de cisaillement et de collision dans le milieu augmentent (essais menés sur lit fluidisé triphasiques pour des vitesses superficielles de gaz croissantes). En conséquence, la réduction de conductivité hydraulique lorsque la vitesse d'écoulement (i.e. le débit) croît pourrait être le fait conjoint de la production supérieure de biomasse et de PEC.

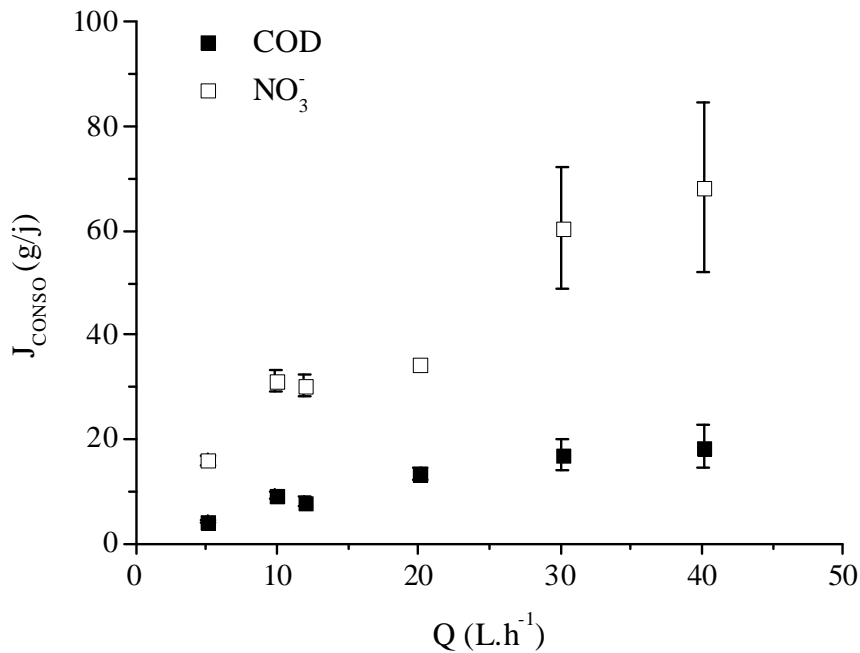


Figure 42 : Augmentation des flux consommés en nitrates  $J_{CONSO\_N}$  et éthanol  $J_{CONSO\_C}$  avec l'augmentation du débit. La consommation d'éthanol est perçue au travers du carbone organique dissous (COD).

Cette dernière hypothèse semble confirmée par les observations faites sur les colonnes qui démontrent que le développement du biofilm varie selon les essais. La Figure 40 montre ainsi que le développement lors de l'essai E caractérisé par une conductivité  $K_{1-4 \text{ ensemencé}}$  de  $1,1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$  est moins important que le développement observé lors de l'essai F caractérisé par une conductivité inférieure à  $2 \cdot 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$  (dernière valeur de  $K_{1-4 \text{ ensemencé}}$  calculable avant que les pressions dans la colonne ne soient supérieures à la gamme supportée par les capteurs). Il existerait alors une corrélation positive entre le développement spatial (épaisseur) du biofilm et la baisse de conductivité hydraulique. Cette relation doit cependant être considérée avec prudence eût égard de la sensibilité de la conductivité hydraulique à des variations de disposition spatiale du biofilm. A ce stade, la conductivité hydraulique ne peut être utilisée qu'à titre d'indicateur relatif du développement bactérien ; elle ne constitue ni une mesure quantitative indirecte de la biomasse ni une mesure quantitative indirecte de la réduction de l'espace poral.

Incidentement, nous remarquerons que la relation entre la vitesse d'écoulement et l'intensité du développement bactérien semble indiquer que l'augmentation du stress hydrodynamique n'affecte pas l'implantation, le développement et le maintien du biofilm.

### 3.2.3.3 Distribution hétérogène du biofilm

En partant de l'hypothèse que la valeur de conductivité est un témoin partiel de l'intensité du développement bactérien, les ratios  $K_{3-4 \text{ ensemencé}}/K_{1-3 \text{ ensemencé}}$  permettent de juger de la distribution longitudinale de la biomasse (Tableau 15). Ainsi les ratios calculés supérieurs à 1 témoignent d'une distribution hétérogène du biofilm. Comme prévu par Taylor and Jaffé (1990) et observés par Trouvé (1998), on constate une colonisation préférentielle de la zone proche de l'injection. En revanche, le ratio  $K_{3-4 \text{ ensemencé}}/K_{1-3 \text{ ensemencé}}$  ne diminuant pas avec l'augmentation du débit, l'hypothèse proposée par l'auteur d'une distribution bactérienne améliorée physiquement par l'augmentation des vitesses de l'eau ne semble pas valide dans notre contexte ; les vitesses d'écoulement sont pourtant comparables ( $4 \cdot 10^{-4}$  à  $1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$  pour les expérimentations de Trouvé (1998)).

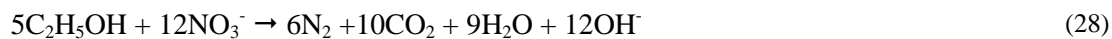
### 3.2.3.4 Conclusion intermédiaire

Les mesures de pertes de charge traduites en termes de conductivités hydrauliques dans le système amendé en nitrate, éthanol et phosphate témoignent de l'implantation et du développement d'un biofilm pour l'ensemble des débits testés. La conductivité hydraulique finale du milieu ensemencé tend à diminuer lorsque le débit augmente. Cette tendance est mise en relation avec l'augmentation des flux massiques consommés  $J_{\text{CONSO}_N}$  et  $J_{\text{CONSO}_C}$  qui se traduit potentiellement par une production de biomasse et de PEC plus importante aux plus forts débits. Cette production n'est pas homogène, elle est plus importante dans la partie basale de la colonne.

### 3.2.4 Processus et performances de dénitrification

#### 3.2.4.1 Résultats

Pour une concentration fixe en entrée de système de 4,5 mgO<sub>2</sub>/L, deux à cinq jours suffisent à créer des conditions stables d'anaérobie (O<sub>2</sub> (sortie) < 0,05 mg/L) et ce, quelque soit l'essai considéré. Ces conditions permettent l'initiation de la réduction des nitrates s'accompagnant de la production de nitrites, d'un dégagement gazeux, de la baisse du carbone organique dissous, d'une augmentation du pH de 0,1 à 0,3 unité et de la diminution du potentiel redox vers des valeurs négatives (-100 à -400 mV selon les essais). La production d'ammonium est nulle. L'ensemble de ces phénomènes corrobore l'existence d'un processus de dénitrification hétérotrophe décrit par la relation (28). Les données de l'essai D sont reportées à titre d'exemple sur la Figure 43.



Les performances de dénitrification sont alors évaluées au travers de trois critères non exhaustifs que sont le rendement de dénitrification, la production de nitrites et le ratio de consommation C/N. Il est important de rappeler que le rendement de dénitrification est défini comme le ratio de la quantité de nitrates réduits sous forme gazeuse sur la quantité de nitrates en entrée. Si des nitrites s'accumulent, la quantité de nitrates réduits sous forme gazeuse diffère de la quantité totale de nitrates réduits. Le rendement de dénitrification intègre cette différence. On différenciera donc le rendement de dénitrification (RDT) du rendement de réduction des nitrates (RdtNO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



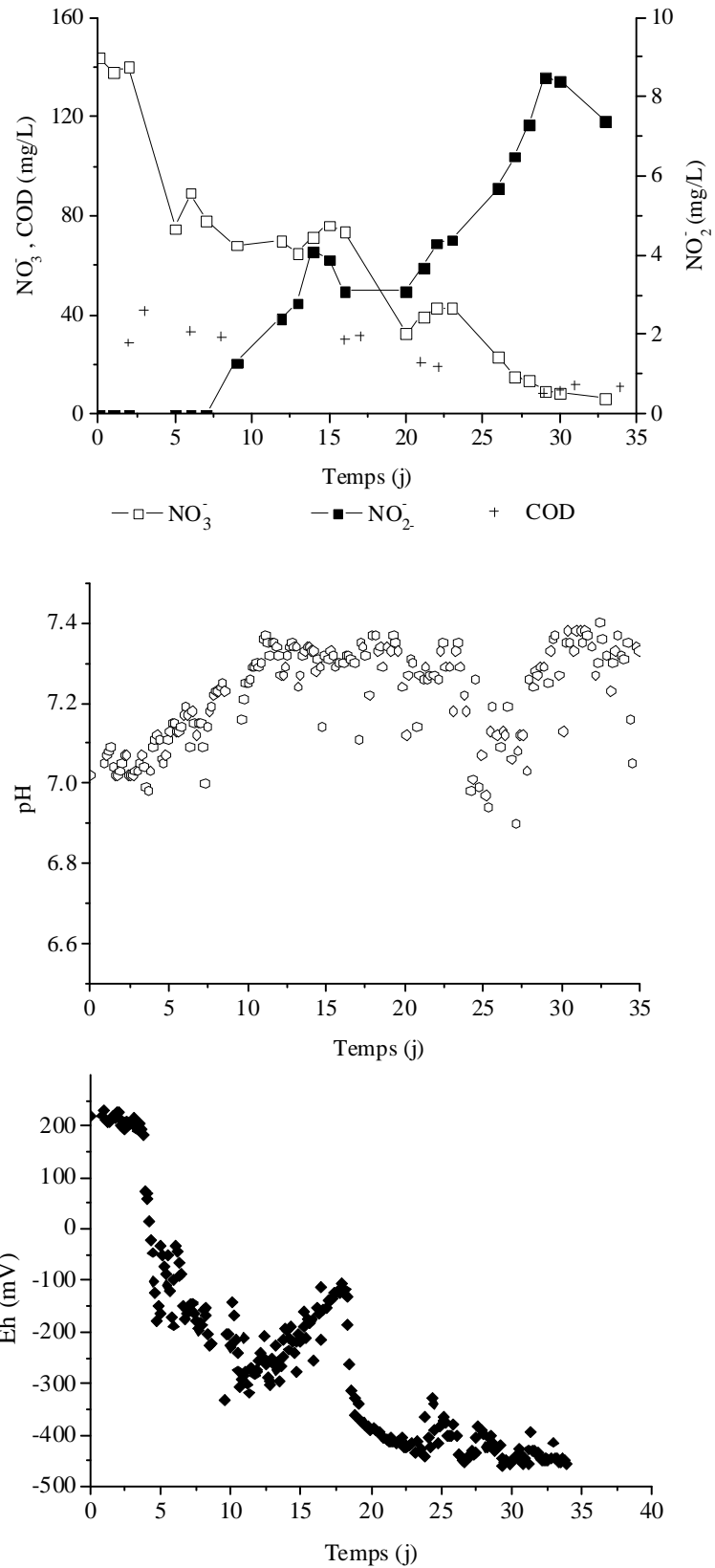


Figure 43 : Preuves de dénitrification : Baisse des nitrates (a), du COD (a) et du potentiel d'oxydo-réduction Eh (c), production de nitrites (a), augmentation du pH (b). Exemple de l'essai D.

- Rendements de dénitrification RDT

La Figure 44 témoigne de l’instauration progressive du rendement de dénitrification durant 5 à 35 jours. Dans le cas des essais A, C, E et G, la durée d’expérimentation est suffisante pour atteindre un régime de dénitrification stabilisé ou oscillant autour d’une même valeur. Pour les autres essais, deux cas de figure peuvent être distingués. L’essai D indique une tendance à l’accroissement continu du rendement de dénitrification avec le temps. Les essais B et F indiquent une baisse du rendement faisant suite à un premier palier de stabilisation, cette dynamique étant temporairement mesurée lors de l’essai A (du 16<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour) et de l’essai C (13<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour). Les essais étant limités dans le temps, le rendement final associé à chaque essai est un rendement moyen calculé sur les six derniers jours d’expérimentation (Tableau 17). Le rendement varie ainsi de 42 à 100% pour des temps de séjour inférieurs à 1 h 40. Si l’on rapporte ces rendements à la surface disponible pour la colonisation bactérienne, la charge maximum dénitrifiée est de 5 gN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>2</sup>/j.

	A	B	C	D	E	F	G
RDT (%)							
moyenne	100	84	96	84	61	42	54
écart-type	0	9	2	2	7	10	9

Tableau 17 : Rendements de dénitrification moyens en fin de phase 1. Les rendements s’échelonnent de 42 à 100%.

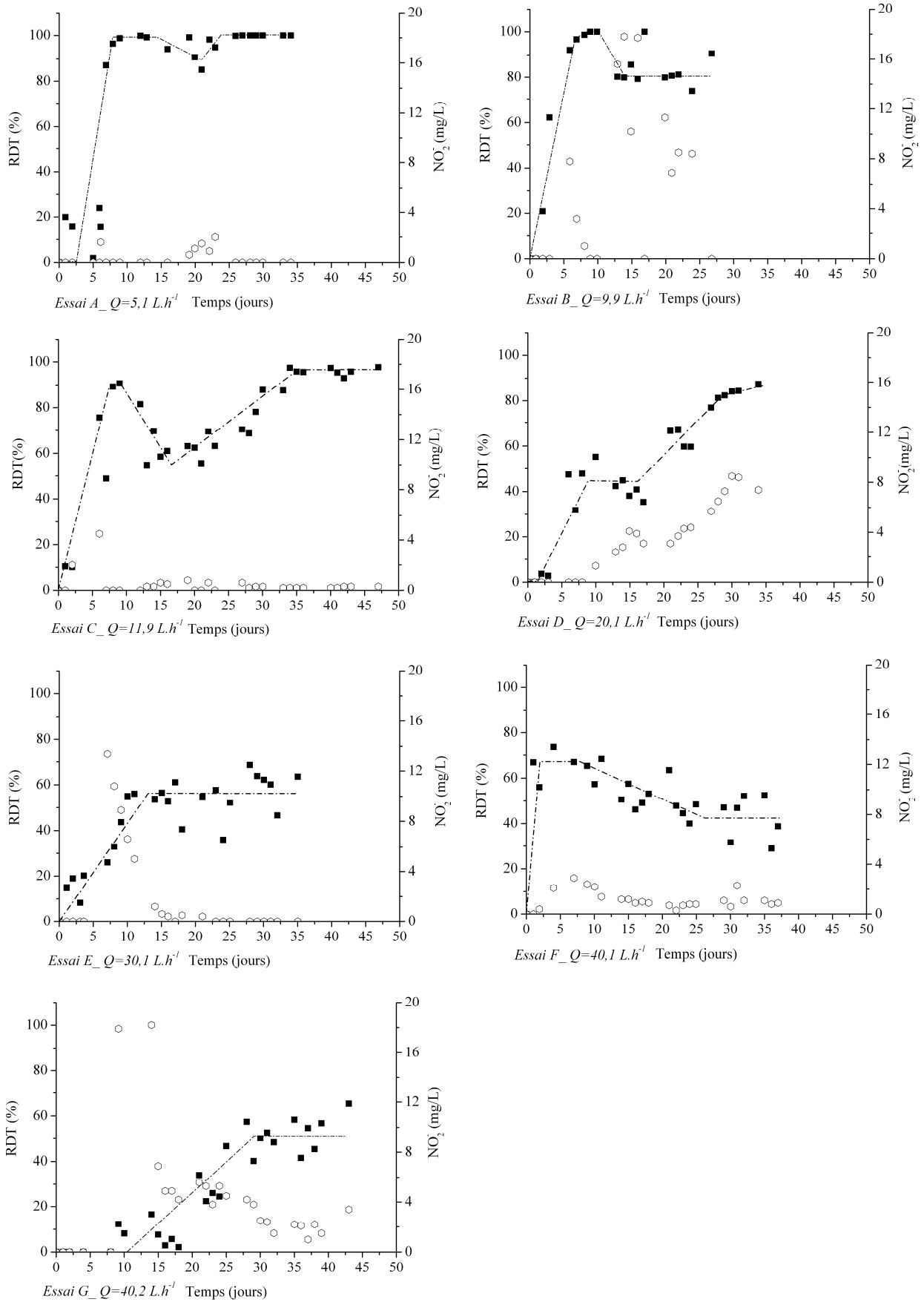


Figure 44 : Régimes de dénitrification atteints au cours des différents essais (■) rendement de dénitrification RDT, (○) concentration en nitrites.

- Production de nitrites

Quel que soit l'essai considéré, il y a production de nitrites à des valeurs dépassant la norme de potabilité de 0,1 mgNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L (Tableau 18, Figure 44).

	[NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] <sub>min</sub> (mg/L)	[NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] <sub>max</sub> (mg/L)	Fréquence de dépassement de la norme de potabilité – (nombre d'échantillons)
A	0	2	26 % - (24)
B	0	17,8	61 % - (19)
C	0	0,8	17 % - (31)
D	0	8,5	72 % - (23)
E	0	13,4	42 % - (26)
F	0	2,9	88 % - (27)
G	0	20,4	83 % - (29)

Tableau 18 : Concentrations minimum et maximum en nitrites accompagnées de la fréquence de dépassement du seuil de potabilité de 0,1 mgNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L sur la durée totale de chaque essai.

La fréquence de dépassement du seuil de potabilité varie selon le débit testé en affectant 17 à 88 % des échantillons analysés.

- Ratio C/N de consommation

Le ratio C/N de consommation est la quantité molaire de carbone consommée pour la dénitrification d'une mole de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dénitrifiée. Rappelons que les ratios présentés sont potentiellement sous estimés en raison de l'analyse non sélective du carbone de l'éthanol. La Figure 45 reporte le ratio moyen C/N de consommation en fonction du débit de l'essai. Pour les essais A, C, D, E et G, le ratio C/N moyen tous essais confondus est de 1,3. Les essais B et F indiquent des ratios respectifs de 1,8 et 2.

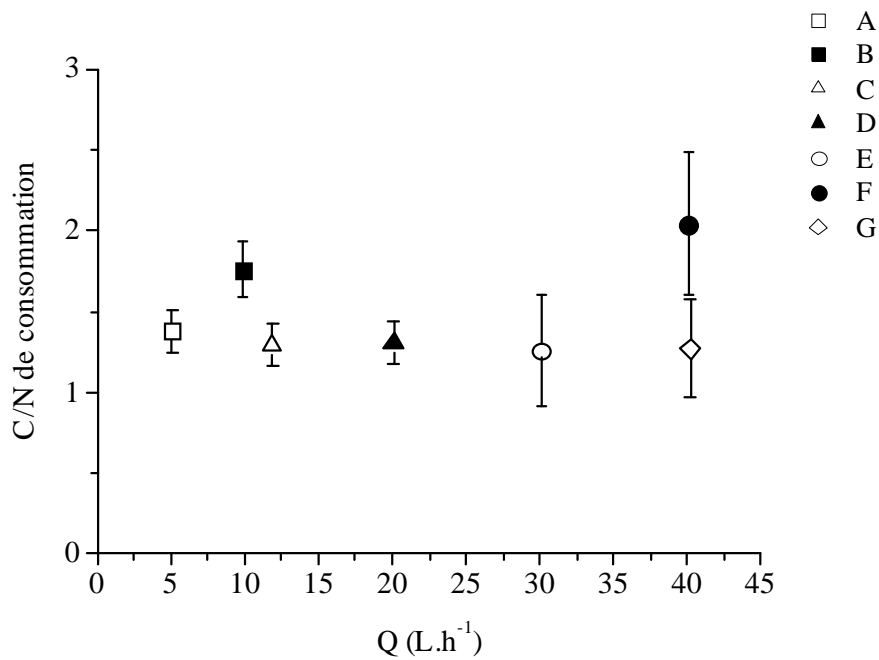


Figure 45 : Ratios molaires de consommation  $C_{consommé}/N-(NO_3^-+NO_2^-)_{réduit}$ . Les essais B et F indiquent des ratios de consommation supérieurs aux autres essais.

### 3.2.4.2 Discussion

#### 3.2.4.2.1 Influence des caractéristiques du biofilm sur les critères de performance

L'instauration progressive du rendement de dénitrification est associée à l'implantation du biofilm mesurée par la baisse de conductivité  $K_{1-4}$  (Figure 39, Figure 44). Durant cette première phase, les populations bactériennes croissent, s'adaptent et se spécialisent vis-à-vis du donneur (éthanol) et de l'accepteur d'électrons (nitrates) (Chapelle, 2001). Les pics de nitrites mesurés pendant cette période (essais A, B, C, E et G, Figure 44) reflètent le temps nécessaire pour que la nitrite réductase, enzyme permettant la réduction des nitrites en oxyde nitrique, soit produite. D'après Beppu (1978) et Hamon and Fustec (1991), il semble en effet que la production de cette enzyme ne soit initiée que pour de fortes concentrations en nitrites dans le milieu.

La dynamique du rendement de dénitrification (RDT) suit différentes tendances (stabilisation, décroissance, croissance). En comparant chacune de ces tendances avec les teneurs en nitrites, les ratios de consommation C/N et l'évolution de la conductivité hydraulique  $K_{1-4}$ , deux fonctionnements réactifs type et un état singulier du système ensemencé peuvent être suggérés :

- Etat réactif stable et optimum : essais A, C, E et G

Le palier de dénitrification correspond à un état de développement stable du biofilm reflété par une conductivité hydraulique constante (Figure 46). Le biofilm atteint a priori un optimum de développement et de fonctionnement.

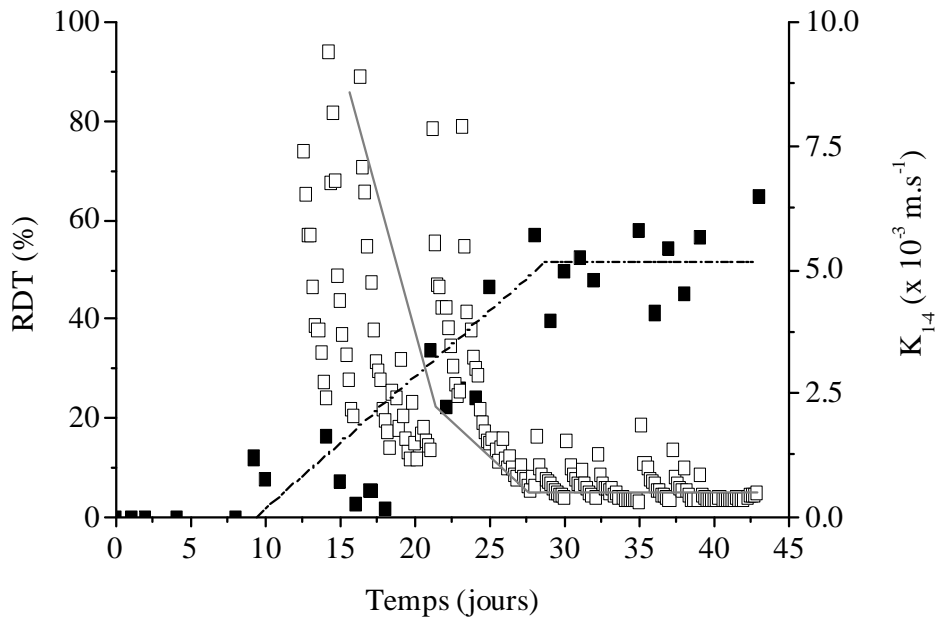


Figure 46 : Rendement de dénitrification RDT (■) et développement bactérien perçu au travers de la conductivité hydraulique  $K_{1-4}$  (□). Exemple de l'essai G.

La persistance de nitrites dans cette configuration n'est mesurée que pour l'essai G (Figure 44, Figure 47). Sur le profil de concentration représenté sur la Figure 47, l'absence de nitrites à des distances de transfert inférieures à 70 cm est le fait d'un biais analytique (dilution des échantillons au  $10^{\text{ème}}$ ). Les profils de concentrations indiquant que l'éthanol n'est pas limitant, il est possible que cette accumulation provienne d'une limitation de la réaction par les phosphates (Lazarova et al., 1994; Hunter, 2003). Cette assertion reste cependant hypothétique car le manque de phosphates ne semble pas engendrer d'accumulation de nitrites pour les essais A, C et E. L'accumulation de nitrites peut aussi résulter d'une cinétique de dénitrification ( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$ ) plus lente que celle de dénitrification ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) (Betlach and Tiedje, 1981), différence qui peut se traduire par l'apparition de nitrites en sortie de colonne lorsque le temps de séjour diminue (i.e. que le débit augmente) et que le processus de dénitrification est actif sur la hauteur totale de colonne.

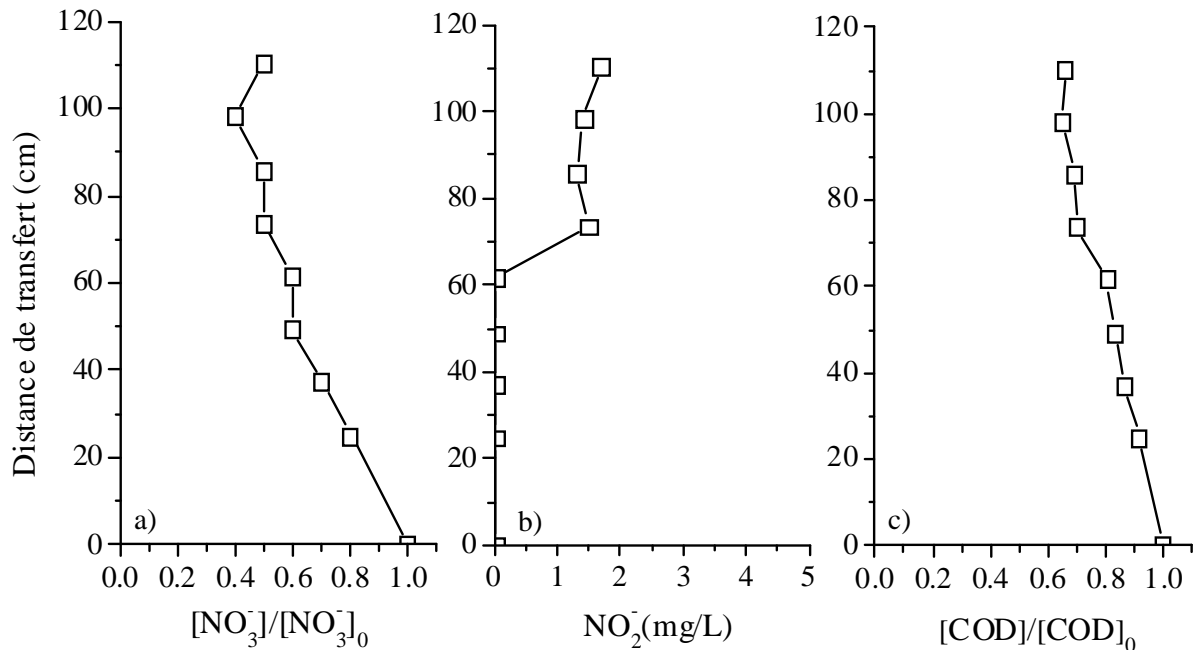


Figure 47 : Profils de concentrations en a) nitrates, b) nitrites et c) carbone organique dissous au 31<sup>ème</sup> jour de l'essai G.

- Etat réactif instable et/ou dégradé par rapport à l'optimum : essai B et F, temporaire sur A et C.

La baisse de rendement RDT est associée à une diminution de la conductivité hydraulique  $K_{1,4}$  (Figure 48). Il semble ainsi qu'au delà d'un certain seuil, la croissance de la biomasse ne soit plus un critère de performance mais la source de dysfonctionnements. On observe en effet que la production de nitrites et l'augmentation du ratio C/N de consommation accompagnent les baisses de rendement (Figure 45, Tableau 18). Des causes liées aux propriétés physiques du biofilm sont en mesure de générer ces anomalies. L'une des hypothèses repose sur une augmentation de la densité bactérienne. Il est possible que l'augmentation de biomasse augmente la densité bactérienne au-delà d'un seuil critique où la réaction de dégradation est alors limitée par les coefficients de diffusion au sein du biofilm (Seker et al., 1995; Horn and Morgenroth, 2006). L'augmentation de biomasse se traduit aussi par une diminution de l'espace poral qui génère un temps de séjour moyen plus court dans le système. Cette diminution du temps de séjour diminue les quantités de nitrates et de nitrites dégradées et renforce l'effet de différence de cinétique entre dénitrification et dénitrification. Cependant, le seuil de conductivité hydraulique critique en deçà duquel les dysfonctionnements apparaissent varie selon les essais ; il est inférieur à  $2.10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$  pour l'essai F et égal à  $1,3.10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$  pour les essais B et C. De plus, ces seuils ne génèrent pas forcément d'anomalies lors des autres expérimentations. Les facteurs proposés ne semblent donc pas exhaustifs. Les dysfonctionnements peuvent aussi être le fait de modifications microbiologiques au sein du consortium bactérien. L'augmentation du ratio C/N de consommation

pourrait indiquer des modifications des voies métaboliques privilégiées par les espèces bactériennes. Il est ainsi possible qu'une fois adapté aux conditions de nutrition et aux conditions hydrodynamiques, le consortium privilégie la maintenance cellulaire à la production d'énergie (Labanowski, com. perso.). Ainsi Richard and Thébault (1992) notent que le vieillissement du biofilm conduit à une surconsommation d'éthanol et à la production de nitrites. Il peut d'autre part exister une modification des proportions et du type d'espèces constituant le consortium. Dans ce cas, les bactéries strictement dénitrifiantes entrent en compétition vis-à-vis du donneurs d'électrons avec des bactéries dénitrifiantes partielles (Philipot, 1985).

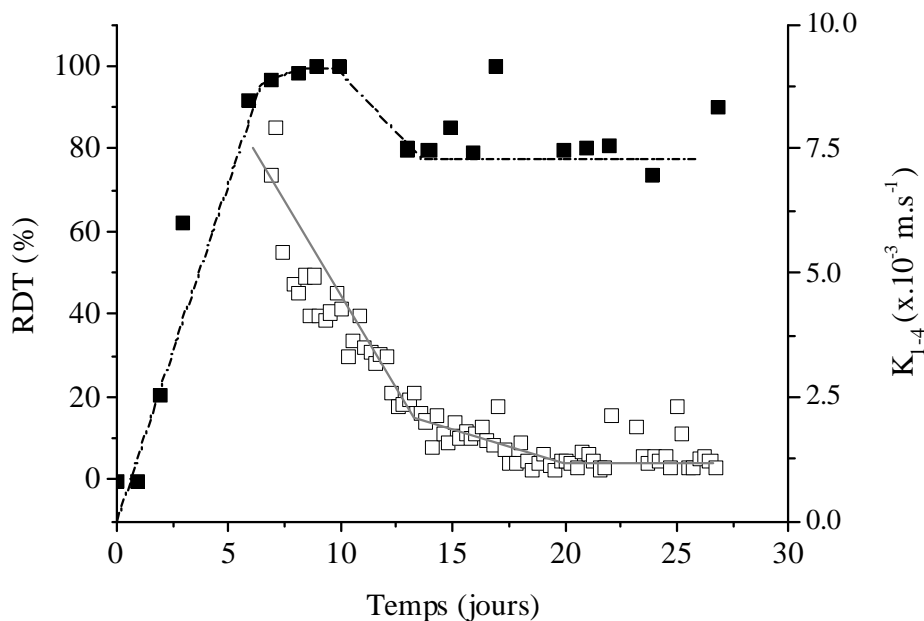


Figure 48 : Baisse du rendement de dénitrification (■) et surdéveloppement bactérien perçu au travers de la conductivité hydraulique  $K_{1-4}$  (□). Exemple de l'essai B.

▪ Etat réactif singulier : essai D

Le rendement de dénitrification RDT n'est pas affecté en dépit d'un développement bactérien apparemment important ( $K_{1-4} = 2.10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$ ). Si l'on compare l'essai D à l'essai G, les quantités respectives de nitrites rémanentes sont de  $0,07 \text{ mgNO}_2^-/\text{mgNO}_3^-$  réduit et de  $0,03 \text{ mgNO}_2^-/\text{mgNO}_3^-$  réduit. La production de nitrites est donc plus importante pour l'essai D tandis que le temps de résidence est supérieur à celui de l'essai G. Les profils de carbone organique dissous suggèrent que la zone de production de nitrites n'est pas soumise à une limitation en carbone (Figure 49). Il semble donc que la persistance des nitrites soit le fait d'un biofilm aux caractéristiques microbiologiques et/ou métaboliques différentes. La conduite d'essais ultérieurs sur cette même colonne semble confirmer cette hypothèse avec une dégradation des conditions physico-chimiques (réduction des sulfates,



dégradation de fluorescéine) jamais observée sur les autres colonnes. L'origine de ce fonctionnement singulier reste inexpliquée.

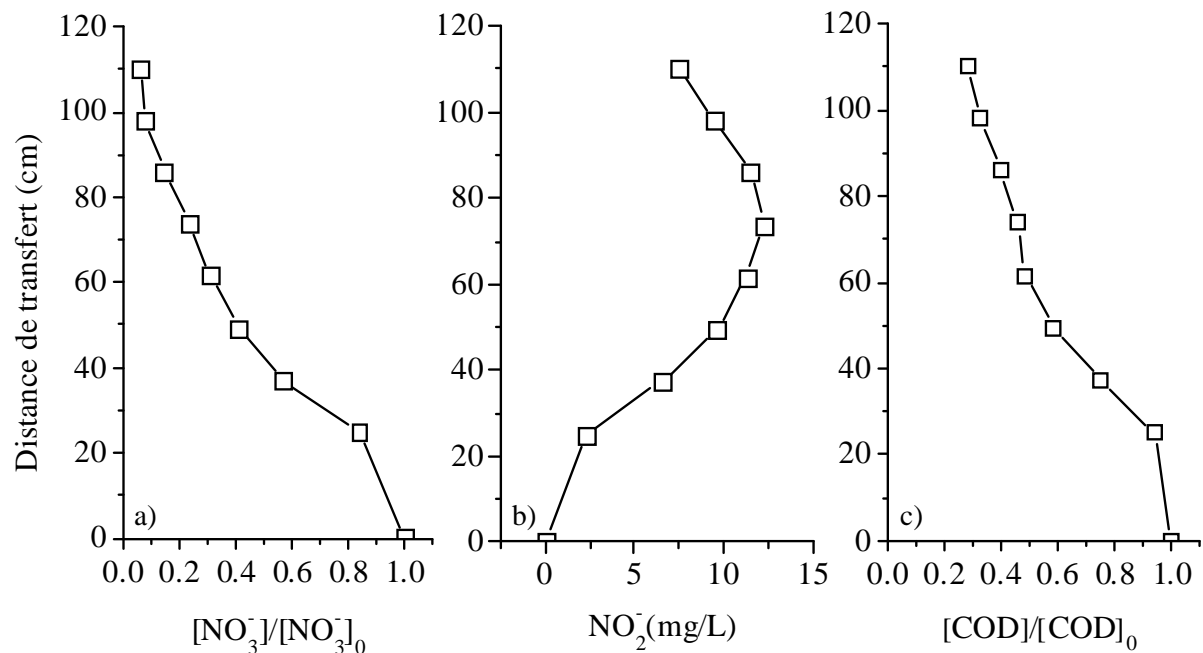


Figure 49 : Profils de concentrations en a) nitrates, b) nitrites et c) carbone organique dissous au temps au 30<sup>ème</sup> jour de l'essai D.

### 3.2.4.2.2 Corrélation entre développement bactérien, temps de séjour et rendement de dénitrification

L'encombrement de l'espace poral tel qu'observé sur la Figure 40 et traduit par les chutes de conductivités hydrauliques conditionne nécessairement les vitesses de transport des substrats entre l'entrée et la sortie du système. Considérons un temps caractéristique de transport en présence du biofilm ( $t_{0,3}$ , temps auquel un tiers de la concentration au palier est atteinte) pris sur les courbes de restitution des essais de traçage passif (TP) et reportons les ratios  $N\text{-NO}_{3\text{sortie}}/N\text{-NO}_{3\text{injecté}}$  moyens en fin de phase 1 en fonction de ces temps, on remarque que deux exponentielles décroissantes sont en mesure d'encadrer les données (Figure 50). Ce résultat témoigne qu'au-delà de la variabilité de la quantité de biomasse et des états réactifs du biofilm entre les différents essais, le temps de séjour dans le système constitue un facteur clé régulant les concentrations en sortie de système.

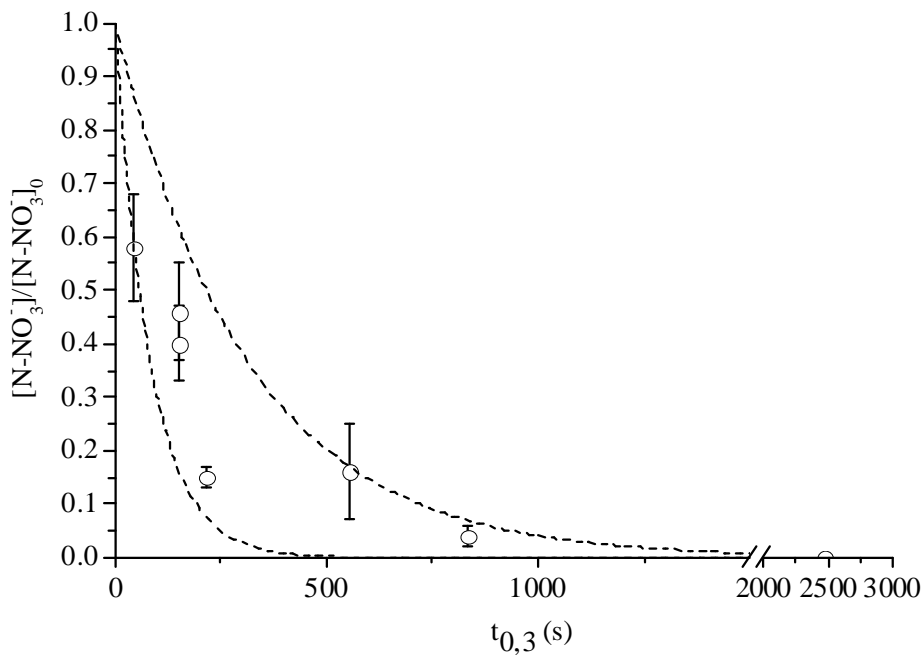
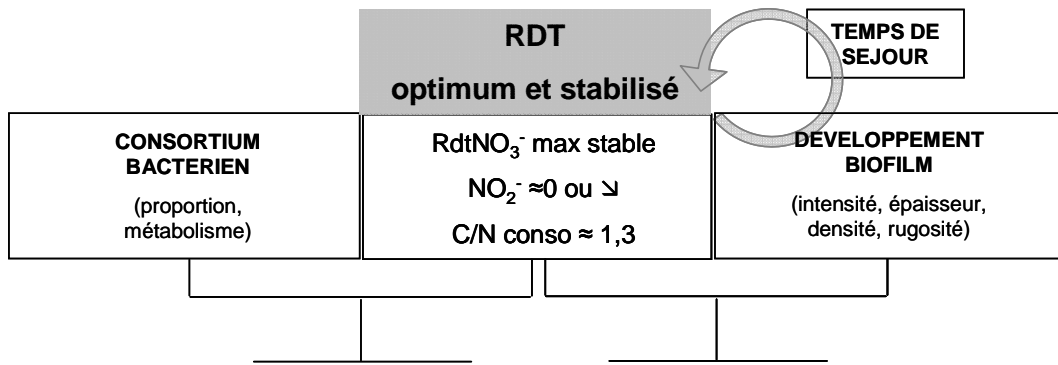


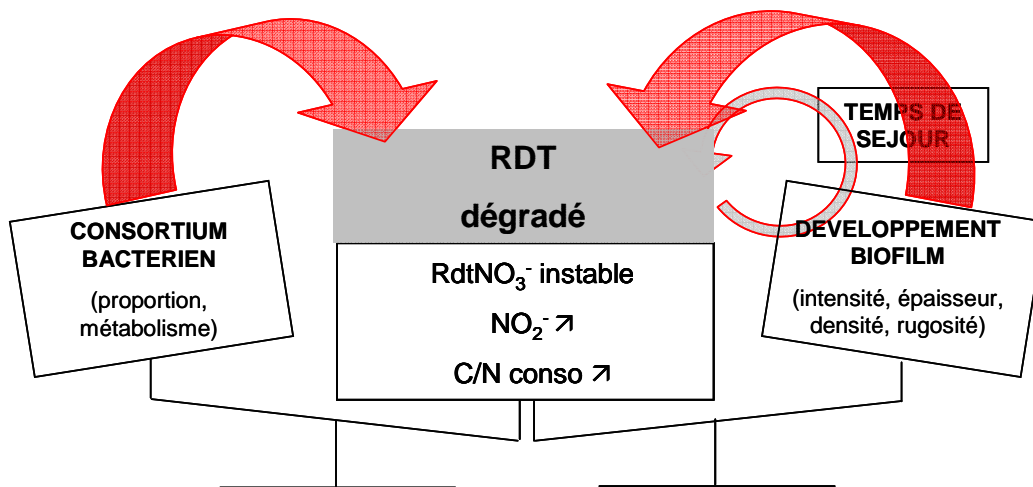
Figure 50 : Décroissance de la quantité d'azote dans le système avec l'augmentation du temps caractéristique  $t_{0,3}$ .

### 3.2.4.3 Conclusion intermédiaire

La première phase des essais a permis de stabiliser des rendements de dénitrification variant de 42 à 100% pour des temps de séjour inférieurs à 1 h 40. Le suivi de l'évolution des rendements de dénitrification, de la production de nitrites et du ratio de consommation C/N a mis en avant deux états réactifs principaux dépendants de l'état de développement du biofilm et des caractéristiques de fonctionnement du consortium bactérien. Il est ainsi possible de distinguer des rendements obtenus en phase d'équilibre correspondant à un fonctionnement optimum (Figure 51a) et des rendements mesurés en phase de déséquilibre correspondant à une dégradation du processus de dénitrification (Figure 51b). Les conditions limites engendrant la bascule d'un état à l'autre reste pour l'instant mal définies.



a)



b)

Figure 51 : Conditionnement des rendements de dénitrification RDT par les états de développement du biofilm et d'équilibre du consortium bactérien. a) Le rendement est stable et optimum. Cet état d'équilibre est observé lorsque la croissance du biofilm dénitrifiant est suffisante mais non limitante vis-à-vis de l'accessibilité des bactéries au substrat, b) le rendement est inférieur à l'optimum en raison d'un surdéveloppement bactérien (limitation de l'accessibilité au substrat et diminution des temps de séjour) et/ou de déséquilibres entre les espèces du consortium et de modification de leur métabolisme.

### 3.2.5 Investigations supplémentaires nécessaires dans la perspective d'une application *in situ*

A partir des résultats obtenus, de la compréhension du processus et du contexte auquel pourrait s'appliquer un tel procédé, il est possible de proposer plusieurs pistes d'investigations permettant une optimisation de fonctionnement. Ces pistes concernent trois axes principaux que sont : l'amélioration des performances dénitrifiantes, la prise en compte des modifications physico-chimiques au sein de l'aquifère.

#### 3.2.5.1 Améliorations des performances dénitrifiantes

##### 3.2.5.1.1 Optimisation des ratios C/N et P/N

Rappelons que les conditions de nutrition imposées sur le pilote *ex situ* ont été choisies de manière à favoriser la réaction (éthanol en excès, ajout de phosphates). Une analyse sélective de la source carbonée mériterait d'être conduite sur les échantillons de sortie afin de confirmer et préciser les proportions d'éthanol en présence. Des tests à différents C/N pourraient alors être menés afin de déterminer le ratio C/N minimum permettant la réduction complète des nitrates en forme gazeuse, la limitation d'un surdéveloppement bactérien. Ces deux critères étant intimement liés aux apports phosphatés, les essais devraient être menés à différents P/N. Cette phase d'expérimentation est incontournable pour l'évaluation des futures quantités d'éthanol et de phosphates à injecter en fonction des objectifs de dénitrification fixés. Cette étape constitue aussi un point clé d'évaluation des coûts de production.

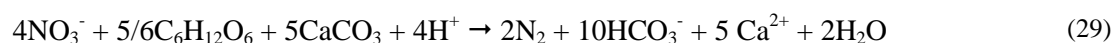
##### 3.2.5.1.2 Gestion du développement bactérien

Le succès d'une réalisation *in situ* réside dans la maîtrise, la stabilité et la pérennité des performances dénitrifiantes. En un mois de fonctionnement sur colonne, des déséquilibres affectent les performances de dénitrification. Les dysfonctionnements engendrés par des surdéveloppements bactériens (colmatage), le vieillissement du biofilm et des modifications du consortium bactérien sont de grands classiques des procédés biologiques (Richard and Thébault, 1992). Alors qu'une unité *ex situ* peut être soumise à la circulation de gaz pour décolmater et régénérer le biofilm, cette manipulation *in situ* ne peut constituer qu'un traitement local (puits d'injection) et exceptionnel de par son coût. Même si la probabilité de colmatage diminue en milieu fracturé karstifié, l'hypothèse de dysfonctionnements liés aux propriétés évolutives du biofilm ne peut être totalement écartée. Une méthode de prévention de ces dysfonctionnements réside dans l'instauration et la gestion de cycles de carence. Les cycles instaurés sur le pilote (9h/3h/9h/3h) se sont révélés, *a priori*, inopérants. L'efficacité de cette méthode est pourtant avérée si l'on se réfère aux expériences *in situ* de Hamon and Fustec (1991). Après

l'observation de la dégradation des propriétés hydraulique d'un aquifère alluvial et la baisse des rendements de dénitrification, l'instauration d'un cycle récurrent pour l'éthanol d'une heure d'injection et d'une heure de halte permet aux auteurs de restaurer les propriétés hydrodynamiques de l'aquifère et les rendements épuratoires. Il serait donc intéressant de tester d'autres amplitudes et fréquences de carence pour trouver l'optimum de fonctionnement. (Peyton, 1996b) remarque d'ailleurs que ce fonctionnement en pulse permet une distribution plus homogène de la biomasse dans le sens de l'écoulement en limitant les forts développements dans la zone d'injection des substrats.

### 3.2.5.2 Prise en compte des modifications physico-chimiques de la nappe et de l'encaissant

La production de CO<sub>2</sub> et les conditions réductrices nécessaires au processus sont susceptibles d'influencer la qualité des eaux de sortie. En premier lieu, la réaction de dénitrification modifie les équilibres calco-carboniques du système par la production de CO<sub>2</sub>. Trudell et al. (1986) démontrent une concordance entre la relation stœchiométrique (29) (le glucose est choisi arbitrairement par l'auteur à titre d'exemple) et l'augmentation des hydrogénocarbonates dans un aquifère calcaire siège d'un processus de dénitrification hétérotrophe. La dureté ainsi que le titre alcalimétrique complet (TAC) sont donc susceptibles d'augmenter. Cette réaction engendre d'autre part des modifications physiques de l'aquifère par dissolution de l'encaissant.



En second lieu, les conditions réductrices favorisent la mise en solution du fer, du manganèse et particularité régionale, du sélénium potentiellement immobilisé dans les remplissages argileux (cf. §2.1.2.2). Pour les deux premiers éléments, Le Bideau (1996) mesure ainsi une augmentation du fer total de 0 à 1000 µg/L et du manganèse de 0 à 30 µg/L dans les eaux d'un aquifère régional. Ces augmentations peuvent constituer un problème sanitaire puisque les seuils admissibles sont de 200 µg/L pour le fer, de 50 µg/L pour le manganèse et de 10 µg/L pour le sélénium.

### 3.2.6 Conclusion

L'objectif du pilote de dénitrification *ex situ* est de caractériser un processus de dénitrification dans des conditions de fonctionnement proches de celles prévues *in situ*. Le pilote *ex situ*, implanté sur le SEH, est constitué de quatre unités de dénitrification contenant un concassé calcaire centimétrique sur lequel s'écoule une eau souterraine amendée en nitrates, phosphates et éthanol. L'ensemencement se fait naturellement grâce au concassé préalablement immergé dans les forages du site. Les expérimentations sont conduites à différents débits s'échelonnant de 5 à 40 L.h<sup>-1</sup>. Ces débits engendrent des vitesses d'écoulement dans le milieu nonensemencé de  $2 \cdot 10^{-4}$  à  $1,7 \cdot 10^{-4}$  m.s<sup>-1</sup>, reflète de la gamme basse des vitesses au pic calculées sur les courbes de restitution des essais de traçage *in situ*.

Pour un milieu de conductivité hydraulique initiale  $K_{1,4}$  d'environ  $10^{-1}$  m.s<sup>-1</sup>, constitué de pores centimétriques et d'une surface volumique colonisable faible pour un milieu poreux d'approximativement 167 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> de réacteur, la stimulation bactérienne conduit au développement d'un biofilm gélatineux. Ce biofilm est probablement constitué à la fois de cellules bactériennes et de polymères extracellulaires (PEC). Son installation et son développement modifient les propriétés hydrauliques initiales du milieu en réduisant la conductivité hydraulique de deux à trois ordres de grandeur. En se basant sur les réductions de conductivité hydraulique et les flux massiques consommés (nitrates, éthanol), le développement du biofilm augmente avec l'augmentation du débit. On notera d'autre part, que la distribution longitudinale de la biomasse est hétérogène. On constate ainsi une colonisation privilégiée de la partie basse des colonnes du pilote *ex situ*, i.e. de la zone proche du point d'injection des substrats.

En terme de réactivité, l'implantation et le développement du biofilm permettent l'initiation et l'instauration d'un processus de dénitrification mesurable, et ce quelque soit le débit imposé. Les rendements de dénitrification varient de 42 à 100% pour des temps de résidence inférieurs à 1h40 pour une eau dont la concentration moyenne est de 100 à 150 mgNO<sub>3</sub>/L, le C/N de 1,9 et le P/N de 0,0025. Ces rendements sont une fonction conjointe des temps de séjour dans le milieu et des états réactifs du biofilm, paramètres tous deux contrôlés par le développement bactérien. Ainsi après une première phase de croissance cellulaire où développement du biofilm et rendement de dénitrification sont corrélés, deux états réactifs se distinguent. On peut assister à un maintien corrélé du développement et du rendement autour d'un optimum. Dans ce cas, la production de nitrites régresse pour devenir nulle et le ratio de consommation C/N est d'environ 1,3. Dans le second cas de figure, on constate un déséquilibre de fonctionnement du biofilm potentiellement engendré, d'une part, par un développement excessif du biofilm générant des problèmes d'accessibilité du substrat et une diminution des temps de séjour, et/ou d'autre part, par des modifications du métabolisme bactérien ou

des caractéristiques microbiologiques du biofilm. Cet état réactif dégradé se traduit par un rendement de stabilisation inférieur au rendement optimum, par la production de nitrites et l'augmentation de la consommation d'éthanol pour une même quantité de nitrates réduits. Le point et les raisons de la bascule entre un état de réaction optimum et un état dégradé ne sont à ce jour pas clairement établis.

Ces premiers résultats qualitatifs ont une implication notable dans la réalisation du travail de modélisation ultérieure. En termes de transport tout d'abord, les caractéristiques hydrodispersives initiales n'ont plus lieu d'être. Le milieu étudié doit être repensé de manière à intégrer le biofilm. En terme réactif, la quantité de biomasse et les états réactifs du biofilm variables d'un essai à l'autre sont susceptibles d'influencer la cinétique macroscopique de dénitrification. Ces points (transport/réactif) seront considérés dans l'élaboration des modèles ainsi que dans la discussion des paramètres de transport et de dénitrification simulés.

En terme de réalisation *in situ*, les rendements obtenus sont associés à des temps de séjour inférieurs à ceux calculés sur les courbes de traçage *in situ* ( $2 \text{ h } 30 < t_m < 21 \text{ h}$ ). En se basant sur ce seul critère, le procédé *ex situ* présente des performances prometteuses pour une réalisation *in situ*. Cependant, la réactivité mesurée *ex situ* est intimement liée à un développement bactérien sur une surface volumique  $S_v$  de  $167 \text{ m}^2/\text{m}^3$  de réacteur. Seule une surface volumique identique *in situ* traversée par 100% du flux assurerait un résultat identique. La compartimentation de l'aquifère en unités de surface volumique  $S_v$  différente (chenaux karstique, matrice fracturée) génère une incertitude qui pourrait potentiellement être comblée par les temps de séjour plus longs mesurés sur les doublets testés. D'autre part, l'implantation d'un pilote *in situ* demanderait d'approfondir quelques points sensibles touchant à la pérennité et aux performances de traitement. Ces points concernent notamment l'amélioration des performances dénitrifiantes (quantité de substrat, gestion du biofilm) et la prise en compte des modifications physico-chimiques nappe/encaissant.





### 3.3 Phase 2, essais de traçage : expression des propriétés hétérogènes du milieu colonisé et transcription cinétique de la réactivité du biofilm dénitrifiant.

Les résultats exposés dans le chapitre précédent montrent que le développement du biofilm affecte la conductivité hydraulique du milieu étudié. Les courbes de restitution obtenues à l'aide d'un traceur inerte indiquent qu'il en est de même pour la porosité et les propriétés dispersives. Dans ces conditions, l'accès aux valeurs scalaires de cinétiques de dénitrification par modélisation des courbes de traçage réactif nécessite une étape préalable de paramétrisation du transport non réactif. Pour ce faire, il faut s'affranchir du milieu initial et envisager une nouvelle conceptualisation de l'ensemble concassé/biofilm. Trois modèles paramétriques simples ou doubles continus sont ainsi testés. Les méthodologies de réalisation des essais de traçages et de modélisation sont tout d'abord exposées. Un préambule à l'exposé des résultats est ensuite présenté au travers d'une étude de sensibilité aux paramètres. Enfin les résultats sont discutés suivant deux axes. Le premier aborde les résultats des simulations du transport passif et les limites rencontrées pour caler le transport réactif. Le second se focalise sur les cinétiques macroscopiques de dénitrification et leur variabilité intra- et inter-modèles.

#### 3.3.1 Méthodologie

##### 3.3.1.1 Méthodologie des essais de traçage

###### 3.3.1.1.1 Solutions injectées et concentrations d'injection

Les traçages utilisent des solutions stériles de  $\text{NaNO}_3/\text{KH}_2\text{PO}_4$  et d'éthanol. La stérilisation de ces solutions est effectuée conformément au protocole décrit en 3.2.1.3. La solution de fluorescéine est préparée à partir d'eau du forage MP7.

Pour les essais dont le rendement de dénitrification est inférieur à 90 %, la concentration d'injection moyenne en nitrates est de 103  $\text{mgNO}_3^-/\text{L}$ . Pour les essais dont le rendement de dénitrification est supérieur à 90 %, la concentration d'injection est augmentée afin d'obtenir un signal de sortie non nul (Tableau 19). Les concentrations en éthanol et  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sont réglées de manière à obtenir un C/N et P/N molaires respectifs de 1,9 et 0,0025. Les concentrations d'injection en fluorescéine varient selon les essais de 0,2 à 0,35  $\text{mg/L}$ .

	A	B	C	D	E	F	G
$\text{NO}_3^-$ (mg/L)	600	117	190	86	87	137	88

Tableau 19 : Concentrations d'injection en nitrates pour les essais de traçage réactif TR

### 3.3.1.1.2 Protocole d'injection

Nitrates, phosphates, éthanol et fluorescéine sont injectés le temps d'un créneau de 100 à 300 minutes. Pour éviter toute interaction éventuelle entre la fluorescéine et la solution nitrate/éthanol, le traçage à la fluorescéine (traçage passif TP) est réalisé dans les 48 h suivant le traçage nitrates/éthanol/phosphates (traçage réactif TR).

L'injection en créneau est retenue pour limiter l'influence des effets densitaires sur le transport des nitrates. Des tests préalables ont été menés sur une colonne de laboratoire remplie de graviers siliceux grossiers (taille moyenne  $\approx 1,7$  cm). Pour un écoulement ascendant, les courbes de restitution obtenues pour l'injection instantanée d'une solution de fluorescéine à 466 mg/L (densité équivalente à 1) et d'une solution de  $\text{NaNO}_3$  à 70  $\text{gNO}_3^-/\text{L}$  (densité égale à 1,06) diffèrent (Figure 52). La comparaison des courbes fluo/ $\text{NaNO}_3$  par une solution 1D en milieu semi-infini indique une porosité plus importante et une dispersion plus faible pour la courbe  $\text{NO}_3^-$  ( $\Delta\theta = + 7\%$ ,  $D_{\text{fluo}}/D_{\text{NaNO}_3} = 1,8$ ). Pour un milieu nonensemencé de caractéristiques  $(\theta_i, \alpha_i)$  sur le pilote *ex situ*, l'obtention d'une concentration au pic d'environ 100  $\text{mgNO}_3^-/\text{L}$  avec une injection instantanée nécessite l'emploi de 2 mL d'une solution mère de concentration égale à 259  $\text{gNO}_3^-/\text{L}$  au débit maximum testé de 40  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ . Sur la base des résultats de laboratoire, l'utilisation d'une telle concentration est susceptible de générer un transport des nitrates différent de celui dont témoignerait la fluorescéine ou tout autre soluté de densité 1. Pour minimiser cet effet, la préférence est donnée à une injection en créneau pour laquelle la concentration de la solution injectée peut être abaissée à 10  $\text{gNO}_3^-/\text{L}$  ( $d=1,01$ ) pour un débit maximum de 40  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ . A 10  $\text{gNO}_3^-/\text{L}$ , les courbes fluorescéine/ $\text{NaNO}_3$  se superposent. L'injection en créneau possède l'avantage de présenter un palier permettant d'appréhender plus facilement la cinétique ou tout du moins son évolution en fonction du temps comme nous le verrons au paragraphe 3.3.1.2.2. Ce type d'injection a cependant l'inconvénient d'être visuellement moins pertinent pour l'appréciation des effets mécaniques du transport (amorce du front de convection, anomalies de dispersion particulièrement visibles à partir des formes de queues de restitution).

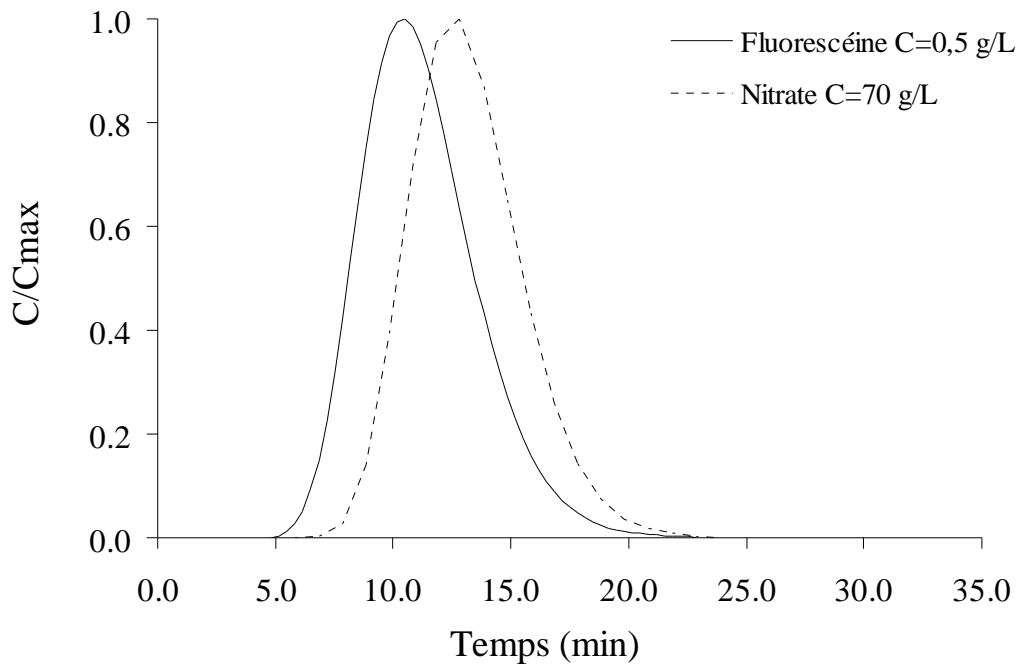


Figure 52 : Courbes de restitution obtenues suite à l'injection instantanée de deux solutions de densités différentes (fluorescéine :  $d=1$ ,  $\theta=36\%$ ,  $\alpha=1,9$  cm ;  $\text{NaNO}_3$ :  $d=1,06$ ,  $\theta=43\%$ ,  $\alpha=1,3$  cm).

L'injection est faite en pied de colonne par deux piquetages dans le septum auto-cicatrisant. Les seringues sont reliées à des pompes péristaltiques. Le débit moyen d'une pompe péristaltique d'injection est de  $0,4 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ . Le contrôle de ce débit est effectué par pesée de la solution injectée. Lors du traçage réactif, une des pompes sert pour l'injection des nitrates/phosphates et l'autre pompe sert pour l'injection d'éthanol. Lorsque le créneau d'injection se termine, les solutions sont remplacées par de l'eau du forage MP7. Afin de réaliser le traçage passif dans les mêmes conditions d'injection et de débit, une des pompes sert pour l'injection de fluorescéine quand l'autre sert à l'injection d'eau du forage MP7. De la même manière, la fin du créneau se résume au remplacement de la solution de fluorescéine par de l'eau du forage MP7.

### 3.3.1.1.3 Prélèvements et analyses

En fonction du débit d'expérimentation, les prélèvements sont effectués à des pas de temps variant de 1 à 40 minutes au niveau de la vanne n°9 (Figure 35). Les échantillons des traçages réactifs sont filtrés à  $0,22 \mu\text{m}$  sur filtre nylon et conservés à  $4^\circ\text{C}$ . Les concentrations en nitrates, nitrites, sulfates, chlorures et phosphates sont analysées par chromatographie ionique (DIONEX\_ICS1000). Le COD n'est pas analysé. Les échantillons de l'essai A dont la concentration en nitrates est supérieure à  $100 \text{ mg/L}$  sont dilués au  $10^{\text{ème}}$ . Les échantillons des traçages passifs sont placés dans le noir à  $4^\circ\text{C}$  et analysés dans les 24h à l'aide d'un spectrofluorimètre FluoroMax®-3.

### 3.3.1.2 Méthodologie de modélisation

#### 3.3.1.2.1 Contexte de modélisation

Les courbes de restitution TP témoignent d'un décalage des concentrations vers les temps courts et d'anomalie de dispersion (inflexion aux temps courts faible devant l'inflexion aux temps longs) (Figure 53). L'ensemble des courbes de restitution est disponible en annexe 5.

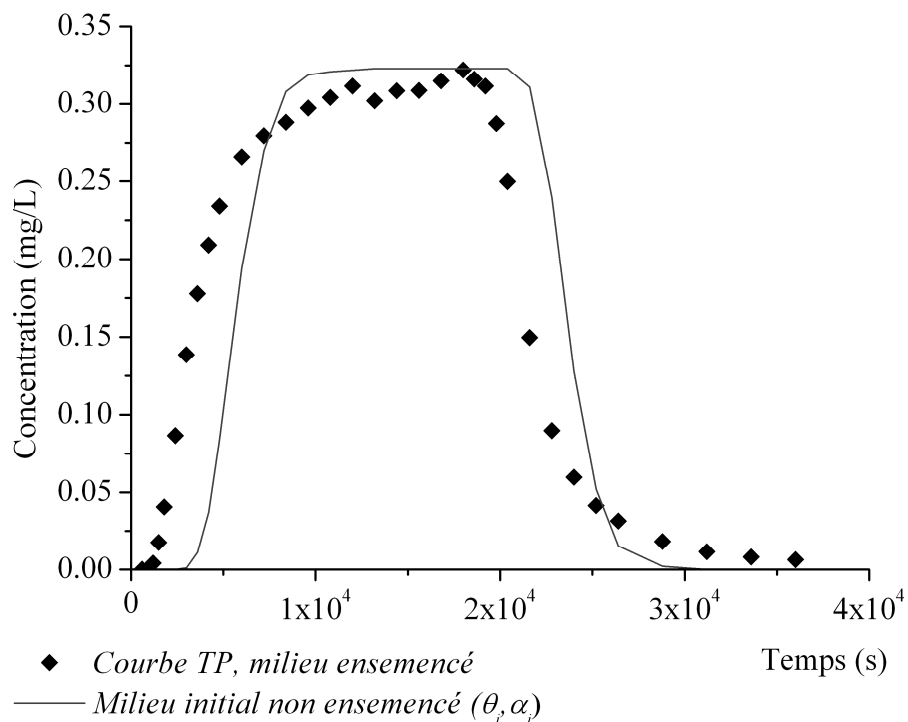


Figure 53 : Comparaison entre la courbe de restitution (TP) obtenue à 5,4 L/h en présence du biofilm et la courbe référence calculée à partir des paramètres initiaux ( $\theta_i, \alpha_i$ ).

En considérant un temps  $t_{0,3}$  arbitrairement choisi comme étant égal au temps pour lequel un tiers de la concentration au palier est atteint (temps caractéristique des premiers temps d'arrivée correspondant approximativement sur une gaussienne aux deux premiers sigmas  $\sigma_i$ ), le temps  $t_{0,3}$  en fin d'essai de dénitrification est 2 à 10 fois plus faible que le temps  $tr_{0,3}$  caractéristique du milieu initial (Tableau 20). Ces ratios témoignent d'une réduction de porosité.

Essai	A	B	C	D	E	F	G
Q (L.h <sup>-1</sup> )	5,1	9,9	11,9	20,1	30,1	40,1	40,2
t <sub>0,3</sub> /tr <sub>0,3</sub>	0,5	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	0,2

Tableau 20: Rapport du temps caractéristique  $t_{0,3}$  en fin d'essai de dénitrification sur le temps caractéristique  $tr_{0,3}$  du milieu initial.

D'autre part, l'asymétrie du front de concentrations des courbes TP traduit indéniablement une modification des propriétés dispersives du milieu. Dans des cas de développement intense tel qu'observé pour l'essai F ou G, la formation de chenaux d'écoulement traversant une matrice biofilm/concassé est visible sur la colonne (Figure 54). Cette observation, réalisée le long de la paroi PVC ne laisse bien sûr pas présager de l'organisation du biofilm au sein du milieu. Elle rejoint cependant les observations de Sharp et al. (2005) qui montrent que la colonisation bactérienne d'un milieu constitué de billes de verre se traduit par la constitution d'une double porosité, porosité principale de chenaux et porosité secondaire constituée de dead-end et de petits pores interconnectés au sein du biofilm. Sharp et al. (1999) précisent de plus que l'augmentation anormale de dispersion est corrélée positivement à la capacité des espèces bactériennes à sécréter des PEC (polymères exocellulaires), produits non analysés mais qui semblent constituer une part non négligeable du biofilm de par son aspect gélatineux. L'augmentation de l'hétérogénéité par la constitution d'un milieu à porosité multiple est à l'origine des nouvelles propriétés hydrodispersives du milieu colonisé.

Sur la base de ces observations (réduction de porosité, chenalisation), il est donc possible de se représenter le milieu colonisé au travers de trois modèles simple ou double continuum qui intégreraient pour partie l'hétérogénéité des caractéristiques hydrodispersives engendrée par l'implantation du biofilm. Le premier est un modèle simple milieu. Le second est un double milieu comprenant une phase mobile dans le milieu poreux initial non dénitrifiant et une phase immobile dans le milieu occupé par le biofilm dénitrifiant. Ce modèle simule un processus d'échange cinétique réversible entre les deux milieux. Le troisième complexifie le milieu en stipulant que la phase fluide au sein du biofilm n'est pas stagnante. Il s'agit d'un double milieu (poreux/biofilm) dont l'écoulement dans le poreux est plus véloce que dans le biofilm. L'échange entre les deux milieux est soit instantané soit régulé par une cinétique.



Figure 54 : Chenalisation du milieu en présence du biofilm (essai à  $40 \text{ L.h}^{-1}$ )

### 3.3.1.2.2 Formalisme mathématique des modèles employés

#### 1) Modèle M1 : Simple milieu

Ce modèle stipule que la limitation du transfert de masse entre la phase fluide dans le poreux et la phase fluide dans le biofilm est négligeable. Le milieu dénitrifiant est perçu comme un ensemble où les deux phases et les deux milieux ne sont ni séparés ni représentés explicitement (Figure 55).

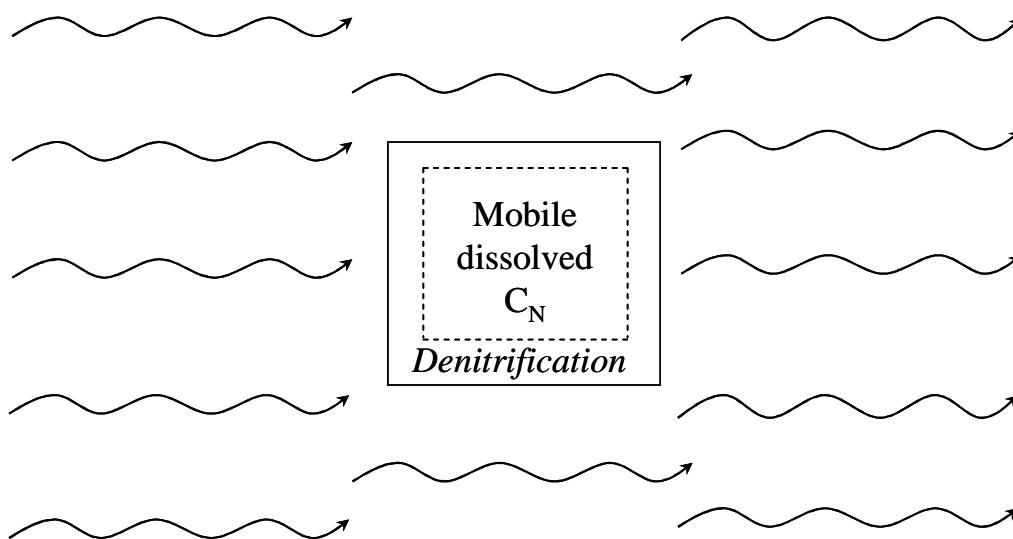


Figure 55 : Modèle M1 simple milieu. Le milieu considère un ensemble réactif poreux/biofilm sans séparation de phase.

Le transport 1D d'un soluté réactif non conservatif tel que l'ion nitrate est décrit par une équation d'advection dispersion dans laquelle la vitesse  $u_1$  et la dispersion  $D_1$  sont des termes paramétriques :

$$\theta_1 \frac{\partial C_N}{\partial t} = \theta_1 D_1 \frac{\partial^2 C_N}{\partial x^2} - \theta_1 u_1 \frac{\partial C_N}{\partial x} + R_1 \theta_1 \quad (30)$$

$C_N$  : concentration en nitrates [ $M.L^{-3}$ ]

$\theta_1$  : porosité apparente obtenue par le modèle M1 [-]

$D_1$  : dispersion obtenue par le modèle M1 [ $M^2.T^{-1}$ ]

$u_1$  : vitesse obtenue par le modèle M1 [ $L.T^{-1}$ ]

$R_1$  : le terme réactif représentant le taux de variation de la masse de nitrates dans le système

Les paramètres  $u_1$  et  $D_1$  permettent de déterminer une dispersivité paramétrique  $\alpha_1$  d'après la relation (26).

## 2) *Modèle M2 et M3 : double milieu*

Les modèles M2 et M3 sont proposés pour expliquer le caractère hétérogène du milieu perçu au travers de l'augmentation anormale de la dispersion  $D_1$ . Ces modèles font appel à une dichotomie en une phase fluide dans un milieu non dénitrifiant (le poreux) caractérisé par une concentration moyenne en nitrate  $C_{Np}$  et une phase fluide dans un milieu dénitrifiant (le biofilm) caractérisé par une concentration moyenne en nitrate  $C_{Nb}$ . Pour ces deux modèles la biomasse n'est donc pas décrite explicitement. Elle occupe simplement un compartiment associé à une porosité  $\theta_b$ .

Deux hypothèses peuvent être formulées sur l'échange de masse interphase : l'hypothèse d'un équilibre local (Local Equilibrium Assumption LEA) et l'hypothèse d'un échange cinétique (Non-Equilibrium Assumption NEA). L'hypothèse LEA (31) nécessite que le temps caractéristique de transfert entre les deux phases soit bien inférieur au temps caractéristique de transport du soluté dans le milieu poreux. Lorsque cette condition n'est pas remplie, l'échange se fait suivant l'hypothèse NEA (32). Dans ce cas, le coefficient de transfert  $\gamma$  est empirique. Il traduit l'effet combiné de la résistance à la diffusion et des effets de la géométrie du biofilm (Wood et al., 1994).

$$C_{Np} = C_{Nb} \quad (31)$$

$$\theta_b \frac{\partial C_{Nb}}{\partial t} = \gamma_i (C_{Np} - C_{Nb}) \quad (32)$$

$C_{Np}$ ,  $C_{Nb}$  : concentrations respectives en nitrates dans le poreux et dans la phase biofilm [ $M.L^{-3}$ ]

$\theta_b$  : porosité allouée au biofilm [-]

$\gamma_i$  : coefficient de transfert de masse entre le poreux et le biofilm [ $T^{-1}$ ],  $i$  le numéro attribué au modèle (2 pour M2 ou 3 pour M3).

La différence principale entre les modèles M2 et M3 repose sur la conceptualisation de la phase fluide dans le milieu biofilm.

### Modèle M2 :

L'approche choisie ici est celle classiquement utilisée pour représenter le transport d'un soluté en présence d'un biofilm (Zysset et al., 1994; Seifert and Engesgaard, 2007). Dans ces modèles, le biofilm est assimilé à une couche uniforme dans laquelle le transport de soluté est uniquement affecté par de la diffusion moléculaire tandis que le transport par convection/dispersion est dominant dans le milieu poreux juxtaposé. Dans ce cas, le milieu biofilm est le seul siège de la réaction de dénitrification (Figure 56).

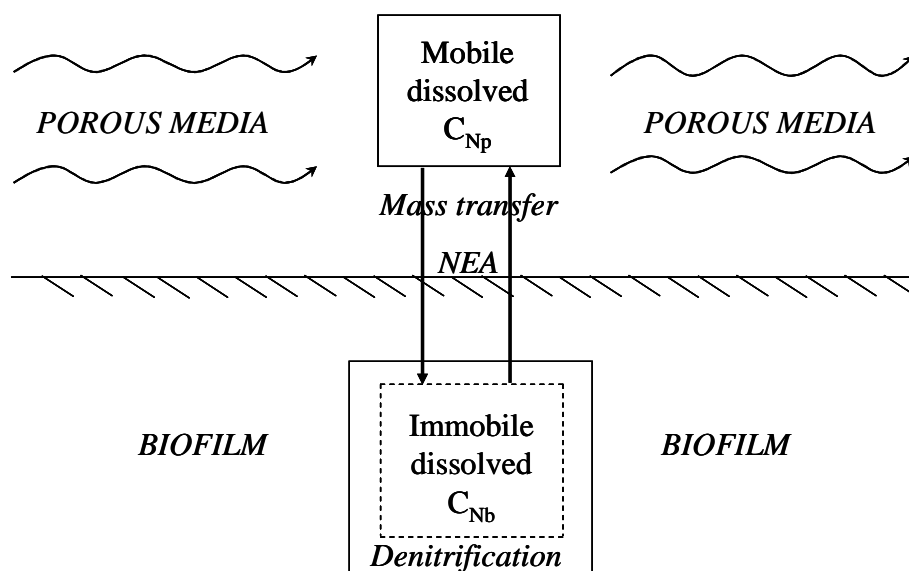


Figure 56 : Modèle M2. Milieu poreux non réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne  $C_{Np}$  et biofilm immobile réactif de concentration moyenne  $C_{Nb}$ . Le transfert de masse entre les deux milieux est décrit par une hypothèse NEA (Non Equilibrium Assumption).



L'équation régissant le transport réactif des nitrates est alors décrite par la relation (33) incluant un transfert de masse entre les deux milieux suivant une hypothèse NEA.

$$\theta_p \frac{\partial C_{Np}}{\partial t} + \theta_b \frac{\partial C_{Nb}}{\partial t} = D_2 \theta_p \frac{\partial^2 C_{Np}}{\partial x^2} - u_2 \theta_f \frac{\partial C_{Np}}{\partial x} + R_2 \theta_b \quad (33)$$

$$\theta_b \frac{\partial C_{Nb}}{\partial t} = \gamma_2 (C_{Np} - C_{Nb})$$

$C_{Np}$ ,  $C_{Nb}$  : concentrations respectives en nitrates dans le poreux et le biofilm [ $M.L^{-3}$ ]

$\theta_p$  : porosité allouée au milieu poreux [-]

$\theta_b$  : porosité allouée au milieu biofilm [-]

$D_2$  : dispersion dans le poreux obtenue par le modèle M2 [ $M^2.T^{-1}$ ] avec  $D_2 = u_2 \alpha_2$

$u_2$  : vitesse du soluté dans le poreux obtenue par le modèle M2 [ $L.T^{-1}$ ]

$R_2$  : le terme réactif s'appliquant aux concentrations  $C_{Nb}$

$\gamma_2$  : le coefficient de transfert de masse interphase [ $T^{-1}$ ]

### Modèle M3 :

Pour ce modèle, le fluide circule dans la phase biofilm (Figure 57). Cette hypothèse s'appuie sur les travaux de Stoodley et al. (1994) et de de Beer et al. (1996) qui observent que les biofilms incluent une porosité connectée dans laquelle le soluté est transporté par convection. De la même manière que pour le modèle M2, le processus de dénitrification n'est effectif que dans le compartiment biofilm.

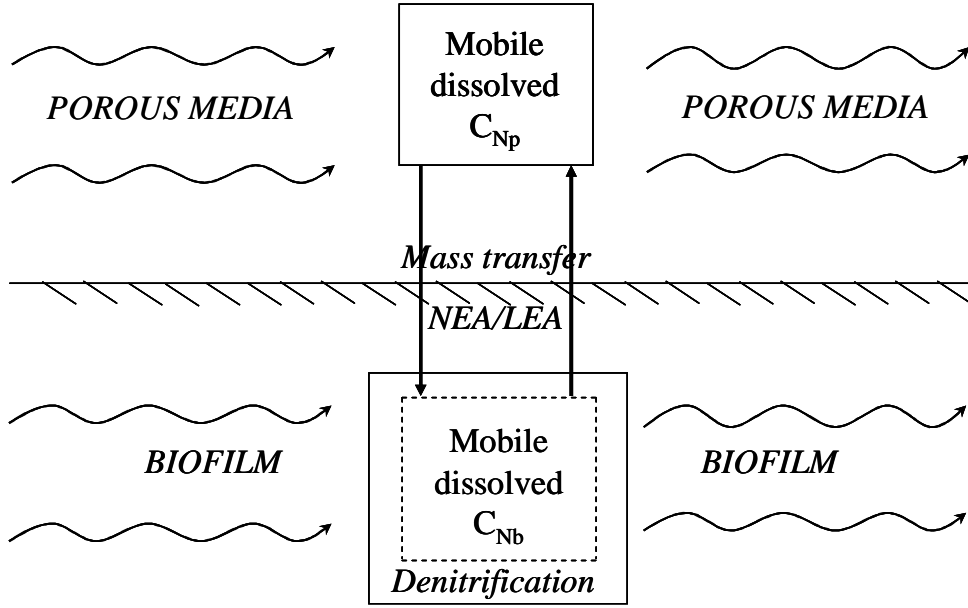


Figure 57 : Modèle M3. Milieu poreux non réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne  $C_{Np}$  et biofilm réactif avec phase fluide mobile de concentration moyenne  $C_{Nb}$ . Le transfert de masse entre les deux milieux est décrit 1) soit par une hypothèse LEA (Local Equilibrium Assumption), 2) soit par une hypothèse NEA (Non Equilibrium Assumption).

L'équation régissant le transport réactif des nitrates est alors décrite par la relation (34) à laquelle s'ajoute le transfert de masse entre les deux phases suivant une hypothèse NEA ou LEA.

$$\begin{cases}
 \theta_p \frac{\partial C_{Np}}{\partial t} = \theta_p D_{3p} \frac{\partial^2 C_{Np}}{\partial x^2} - \theta_p u_{3p} \frac{\partial C_{Np}}{\partial x} + F_{p \rightarrow b} \\
 \theta_b \frac{\partial C_{Nb}}{\partial t} = \theta_b D_{3b} \frac{\partial^2 C_{Nb}}{\partial x^2} - \theta_b u_{3b} \frac{\partial C_{Nb}}{\partial x} - F_{p \rightarrow b} + R_3 \theta_b \\
 F_{p \rightarrow b} = \theta_b \frac{\partial C_{Nb}}{\partial t} = -\theta_p \frac{\partial C_{Np}}{\partial t} = \gamma_3 (C_{Np} - C_{Nb}) \\
 \text{ou} \\
 C_{Nb} = C_{Np}
 \end{cases} \quad (34)$$

$C_{Np}$ ,  $C_{Nb}$  : concentrations respectives en nitrates dans le milieu poreux et le milieu biofilm [ $M.L^{-3}$ ]

$\theta_p$  : porosité allouée au milieu poreux [-]

$\theta_b$  : porosité allouée au milieu biofilm [-]

$D_{3p}$ : dispersion dans le milieu poreux obtenue par le modèle M3 [ $M^2.T^{-1}$ ] avec  $D_{3p} = u_{3p}\alpha_{3p}$

$u_{3p}$ : vitesse du soluté dans le milieu poreux obtenue par le modèle M3 [ $L.T^{-1}$ ]

$D_{3b}$ : dispersion dans le milieu biofilm obtenue par le modèle M3 [ $M^2.T^{-1}$ ]

$u_{3b}$ : vitesse du soluté dans le milieu biofilm obtenue par le modèle M3 [ $L.T^{-1}$ ] avec  $D_{3b} = u_{3b}\alpha_{3b}$

$R_3$  : le terme réactif concernant les concentrations  $C_{Nb}$

$\gamma_3$  : le coefficient de transfert de masse [ $T^{-1}$ ]

### 3) Expression du terme réactif de dénitrification $R_i$

#### Écriture générique du terme réactif

Dans la revue de Battersby (1990) sur les expressions mathématiques décrivant les cinétiques de biodégradation, l'auteur détaille la formulation de Monod (1949), formulation communément employée dans les problématiques de biodégradation dans les eaux souterraines. Ainsi Battersby (1990) explique qu'en faisant l'hypothèse que 1) la croissance bactérienne est continue et 2) la consommation du substrat produit de la masse cellulaire, le taux de croissance cellulaire basé sur un seul substrat limitant peut être décrit par :

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \left( \frac{C}{K + C} \right) \quad (35)$$

$\mu_{\max}$  : le taux maximal de croissance bactérienne [ $T^{-1}$ ]

X : la concentration en bactéries [ $M.L^{-3}$ ]

K : la constante de demi-saturation du substrat [ $M.L^{-3}$ ], définie comme la concentration pour laquelle le taux de croissance est égal à la moitié du taux maximal de croissance bactérienne.

C : la concentration en substrat [ $M.L^{-3}$ ]

Si le métabolisme d'une quantité unitaire de substrat conduit à une production de biomasse donnée, un facteur de rendement cellulaire Y (quantité de biomasse produite/quantité de substrat consommé) peut être incorporé à l'équation (35). Le taux de dégradation du substrat s'écrit alors :

$$\frac{dX}{dt} = -Y \frac{dC}{dt}$$

avec

$$R = \frac{dC}{dt} = -\frac{\mu_{\max} X}{Y} \left( \frac{C}{K + C} \right) \quad (36)$$

Cette dernière écriture peut être adaptée pour intégrer l'effet limitant ou inhibiteur d'autres éléments (substrat carboné, nutriments etc.) (Widdowson et al., 1988; Kinzelbach and Schafer, 1991; Clement et al., 1997; Rashid and Kaluarachchi, 1999). Appliquée au contexte réactif étudié sur le pilote *ex situ*, ces adaptations se traduisent de manière non exhaustive par :

$$\frac{dX}{dt} = -Y \frac{dC_N}{dt}$$

(37)

$$R = -\frac{\mu_{\max} X}{Y I_{O_2}} \left( \frac{C_N}{K_N + C_N} \right) \left( \frac{C_C}{K_C + C_C} \right) \left( \frac{C_P}{K_P + C_P} \right)$$

$I_{O_2}$  : facteur d'inhibition non compétitive de l'oxygène dissous sur la dénitrification

$K_N, K_C, K_P$  : les constantes de demi-saturation des nitrates, de l'éthanol et des phosphates [ $M.L^{-3}$ ]

$C_N, C_C, C_P$  : les concentrations en nitrates, éthanol et phosphates [ $M.L^{-3}$ ]

Cette relation signifie qu'en dehors des paramètres propres au biofilm ( $\mu_{\max}$ ,  $Y$ ,  $X$ ), la dénitrification dépend d'une part, d'un facteur d'inhibition stipulant qu'au-delà d'une certaine concentration en oxygène dissous, la dénitrification est inhibée et d'autre part, de trois facteurs limitants non exhaustifs que sont les concentrations en nitrates, éthanol et phosphates. Elle implique aussi que le taux de dénitrification soit indépendant du taux de réduction des composés intermédiaires ( $NO_2^-$ ,  $N_2O$ ). L'hypothèse est faite que les nitrites n'ont aucun effet inhibiteur sur la vitesse de dénitrification (inhibition non compétitive rapportée pour des concentrations en nitrites supérieures à 100 mg/L (Glass et al., 1997)).

La détermination des cinétiques se base uniquement sur la courbe de restitution des concentrations en nitrates au cours du temps. De fait, l'appellation « cinétique de dénitrification » est utilisée par abus de langage car ce paramètre intègre à la fois la quantité de nitrates réduits sous forme gazeuse (dénitrification *sensu stricto*), la quantité de nitrates réduits en nitrites ainsi que la part de nitrates assimilée par les bactéries.

#### Hypothèse simplificatrice 1 : croissance bactérienne négligeable

Nous considèrerons ici que pour un régime de dénitrification instauré (i.e. après 1 mois ½ de phase 1, phase d'ensemencement et de mise en régime de la dénitrification cf. § 3.2), la croissance bactérienne est nulle au regard des temps de traçage appliqués (entre 3 h et 10 h). La concentration en bactéries  $X$  est assimilée à une constante.

#### Hypothèse simplificatrice 2 : pas d'effet inhibiteur de l'oxygène dissous

Les concentrations d'entrée en oxygène dissous sont de 4,5 mg/L. En dépit du fait que cette valeur soit supérieure au seuil d'inhibition compris entre 0,2 à 2 mgO<sub>2</sub>/L, les profils de concentrations

$\text{NO}_3^-/\text{NO}_3^-_{\text{injecté}}$  tous essais confondus attestent de l'existence d'un processus de dénitrification dans les vingt premiers centimètres de colonne. Le fait est que la consommation d'oxygène est suffisamment élevée pour créer les conditions de micro-anaérobie nécessaires à la dénitrification et ce dès l'entrée de colonne (Figure 47, Figure 49). Il en est de même lorsque l'injection d'éthanol est interrompue pendant la phase de carence précédant le traçage réactif. En conséquence, l'approximation est faite que le facteur d'inhibition  $I_{\text{O}_2}$  peut être ignoré.

#### Hypothèse simplificatrice 3 : éthanol et phosphates non limitants

La concentration en phosphates injectée étant équivalente à la limite du seuil de détection analytique, il n'est pas possible de juger de son évolution sur la hauteur de colonne. Cependant, il semblerait que l'accumulation de nitrites (processus sensible au manque de phosphates) soit généralement associée à d'autres facteurs (§ 3.2.4.2.1). Les phosphates ne seront donc pas considérés comme limitants.

D'autre part, les profils de concentrations en carbone organique dissous indiquent que l'éthanol est excédentaire. L'hypothèse sera donc faite que l'éthanol ne représente pas non plus un facteur limitant de la réaction de dénitrification.

#### Hypothèse simplificatrice 4 : distribution longitudinale homogène de la biomasse

Le calcul des conductivités hydrauliques à différents niveaux démontre que la répartition de la biomasse est hétérogène (§ 3.2.3.3). La partie basse de colonne (< 74 cm) est sujette à un développement plus intense que la partie haute. Cette variabilité se traduit probablement par des propriétés moyennes de transport différentes en fonction de la hauteur de colonne considérée. Peu de données de conductivités sont à ce jour disponibles. Aucun élément de contrainte n'est donc disponible pour paramétrer le transport à différents niveaux de la colonne. En conséquence, le milieu est ramené à un ensemble hydrauliquement homogène.

#### Ordre cinétique

Les hypothèses simplificatrices 1, 2 et 3 conduisent à une écriture réduite de l'équation (37):

$$R = -\frac{\mu_{\max} X}{Y} \left( \frac{C_N}{K_N + C_N} \right) \quad (38)$$

En fonction des concentrations d'entrée dans le système, la relation non linéaire (38) possède des comportements asymptotiques de type cinétique d'ordre 1 ( $C_N \ll K_N$ ) ou d'ordre 0 ( $C_N \gg K_N$ ).

Cependant, sans mesure explicite des paramètres  $\mu_{\max}$ ,  $X$ ,  $Y$  et  $K_N$ , cette écriture se traduit uniquement par des degrés de liberté supplémentaires laissés au modèle. Les valeurs de constante  $K_N$  rapportées dans la littérature sont extrêmement variables en raison de la dépendance de ce paramètre aux conditions d'expérimentation (batch/dynamique, consortium bactérien, structure du biofilm, substrat etc.). Les valeurs de  $K_N$  peuvent varier de 0,2 à 232 mg/L (Bowman and Focht, 1974; Lee and Dahab, 1988; Kinzelbach and Schafer, 1991; Mckenney et al., 1994; Clement et al., 1997; Strong and Fillery, 2002; Chun et al., 2009). Les concentrations d'injection employées ( $[\text{NO}_3^-]_{\text{moyenne}} \approx 103$  mg/L,  $[\text{NO}_3^-]_{\text{min}} \approx 85$  mg/L,  $[\text{NO}_3^-]_{\text{max}} \approx 600$  mg/L), s'inscrivent dans une gamme où la non-linéarité est mathématiquement justifiée. Cela étant, pour éviter de résoudre des problèmes non linéaires, il est opté de tester les deux extrêmes : cinétique d'ordre 1 et cinétique d'ordre 0.

La relation faisant intervenir une cinétique d'ordre 1 ( $\lambda$ ) s'écrit alors :

$$R = -\lambda C_N \quad (39)$$

$\lambda$  : la cinétique d'ordre 1 [ $\text{T}^{-1}$ ]

Si la relation fait intervenir une cinétique d'ordre 0 ( $\beta$ ), la relation s'écrit :

$$R = -\beta \quad (40)$$

$\beta$  : la cinétique d'ordre 0 [ $\text{M.L}^{-3}.\text{T}^{-1}$ ]

#### Variation de la cinétique en fonction du temps

Les courbes de restitution de transport réactif TR montrent différents comportements de dénitrification. Sur la durée du palier, la concentration en nitrates qui devrait être constante telle qu'illustrée sur la Figure 58a peut, dans certains cas, être décroissante avec le temps (Figure 58b). Cette dernière dynamique traduit une augmentation de la cinétique de dégradation au cours du temps. Les essais de traçage A, C, D et G sont concernés (Tableau 19, annexe 6).

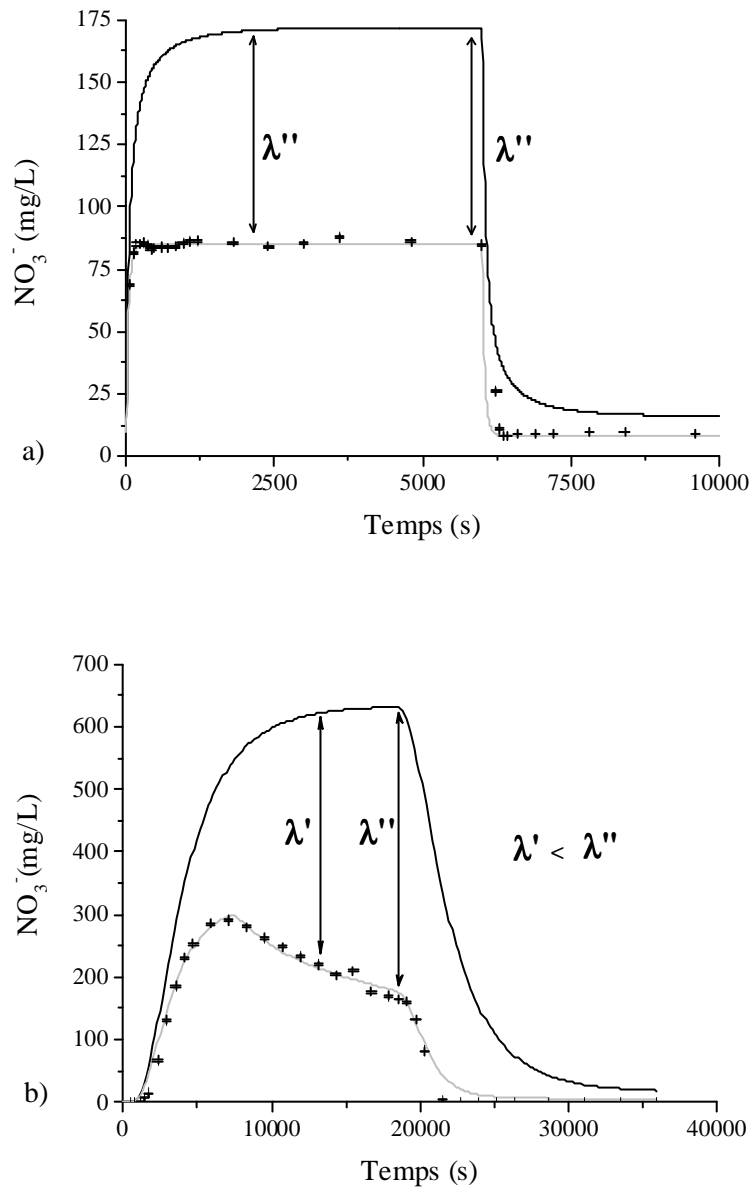


Figure 58 : Comportements réactifs mesurés lors des essais de traçage TR, exemple de calage avec une cinétique d'ordre 1. Trait plein : courbe de restitution référence (TP), pointillé : courbe de restitution après dégradation (TR). Selon les essais, la cinétique de dénitrification est soit constante (a) soit croissante dans le temps (b).

Croissance bactérienne et/ou évolution de la réactivité d'un même pool bactérien peuvent être responsables de cette augmentation de réactivité du milieu avec le temps. Si croissance bactérienne il y a, elle n'est pas visible au travers d'une baisse de la conductivité hydraulique (Figure 59). Cette hypothèse ne peut cependant être totalement écartée puisque la sensibilité des capteurs n'est pas forcément suffisante pour détecter les variations de conductivités hydrauliques associées à de petites variations de l'épaisseur du biofilm lors du traçage.

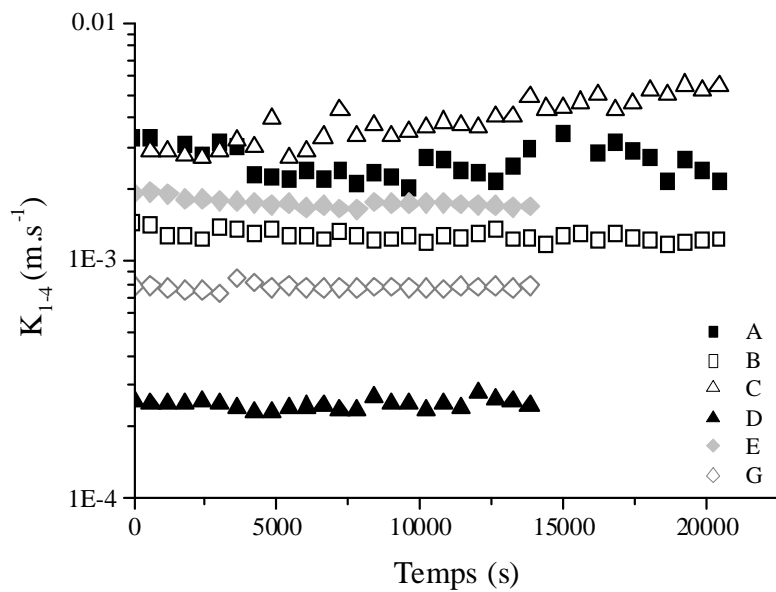


Figure 59 : Constance de la conductivité hydraulique  $K_{1-4}$  au cours des essais de traçage TR. Les capteurs étant en surpression au moment de l'essai F, aucune donnée n'est disponible.

Parmi les facteurs physico-chimiques susceptibles d'influencer le taux de dénitrification (pH,  $O_2$ , T), seule la température d'entrée évolue au cours des traçages. Cependant, le Tableau 21 indique que la variation maximum de température entre le début et la fin de l'injection n'est pas corrélée à l'existence d'un taux de dénitrification variable. En conséquence, la température n'est pas le facteur responsable des différences de comportements réactifs.

Essai	$R_{NO_3}$	$\Delta T$ (°C)
A	↗	+5
B	↔	+2
C	↗	+2
D	↗	+1
E	↔	+1
F	↔	0
G	↗	0

Tableau 21 : Evolution du taux de dénitrification  $R_{NO_3}$  et variation de la température au cours des essais TR. L'évolution du taux de dénitrification est évaluée à un moment où le taux devrait être constant et qui correspond à la période associée au palier de concentration sur les courbes TP.

Le second facteur d'influence potentiel réside dans la méthodologie employée. Il est ainsi probable que la phase de carence précédant le traçage TR affecte en partie les propriétés réactives du biofilm.



L'augmentation du taux de dénitrification reflèterait le fait que le biofilm retrouve progressivement ses capacités de réaction lors du traçage.

En conséquence, les relations (39) et (40) sont modifiées de manière à intégrer la variation de la cinétique de dénitrification en fonction du temps (41). Les variations de vitesses de dégradation sont observées pour une concentration 'au palier', i.e. pour des temps bien supérieurs au temps par convection pour lesquels le biofilm 'voit' des concentrations sensiblement constantes en raison de l'injection continue faite en entrée de colonne. Il ne s'agit donc pas d'une non linéarité due à des variations de concentrations telle que décrit par l'équation (38).

$$R = -\lambda(t)C_N \quad (41)$$

ou

$$R = -\beta(t)$$

Pour les essais concernés (A, C, D, G), l'évaluation de la cinétique à chaque pas de temps est faite par une interpolation linéaire entre la valeur  $(\lambda, \beta)'$  et la valeur  $(\lambda, \beta)''$ .

### 3.3.1.2.3 Méthodologie de résolution du problème direct

#### 4) Démarche « pas à pas » : de l'essai TP à l'essai TR

Quel que soit le modèle considéré, la démarche adoptée pour l'obtention des valeurs de cinétique est identique (Figure 60) :

Etape 1 : Détermination des paramètres hydrodispersifs,

Les relations (30) à (34) sont utilisées pour simuler les courbes TP en admettant un terme R nul. Cette étape permet l'obtention d'un jeu de paramètres hydrodispersifs caractérisant le milieu non réactif :  $(\theta_1, \alpha_1)$  pour M1,  $(\theta_p, \theta_b, \alpha_2, K_2)$  pour M2 et  $(\theta_p, \theta_b, \alpha_{3p}, \alpha_{3b}, K_3)$  pour M3. L'ajustement des courbes se fait à la main par essai-erreur avec en premier lieu une appréciation visuelle des courbes de restitution, ensuite affinée par la minimisation de la valeur de l'erreur quadratique moyenne RMS normalisée (42) entre le temps  $T_0$  et le temps d'injection  $T_{inj}$ .

$$RMS = \frac{\sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (C_{exp}(t) - C_{sim}(t))^2}}{(\max(C_{exp}) - \min(C_{exp}))} \quad (42)$$

$C_{exp}$  : la concentration expérimentale [M.L<sup>-3</sup>]

$C_{sim}$  : la concentration simulée [M.L<sup>-3</sup>]

t: le temps [T]

N : le nombre d'échantillons

Etape 2 : Calcul des concentrations initiales en nitrates  $C_{Ni}$  aux instants précédant le traçage réactif,

Lors de la phase de carence précédant le traçage réactif TR, le processus de dénitrification n'est pas nul (Tableau 22). Afin de minimiser l'influence des concentrations résiduelles dans la colonne sur la simulation du transport réactif TR, une approximation préalable des concentrations résiduelles en nitrates  $C_{Ni}$  est effectuée. Cette étape consiste à simuler, en appliquant une cinétique d'ordre 1, les concentrations entrée/sortie sur la base des blancs prélevés avant le traçage. La concentration d'entrée en nitrates est comprise entre 14 et 16 mg/L, les concentrations en sortie sont reportées dans le Tableau 22.

Essai	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)
A	0
B	3,2
C	0,7
D	2
E	11,8
F	9,8
G	8,3

Tableau 22 : Concentrations en nitrates mesurées en sortie de colonne quelques minutes avant le début du traçage TR (période de carence).

Etape 3 : Détermination de la cinétique de dénitrification.

La dernière étape consiste à injecter les concentrations  $C_{Ni}$  calculées lors de l'étape 2 accompagnées du jeu de paramètres hydrodispersifs de l'étape 1 dans une phase de simulation des traçages réactifs TR. Cette étape permet l'obtention des cinétiques macroscopiques  $\lambda$ ,  $\beta$ . Ces paramètres sont ajustés visuellement en se basant sur les concentrations au palier. Lorsque la cinétique évolue avec le temps, seule la valeur  $\lambda''$  ou  $\beta''$  est retenue pour la discussion.

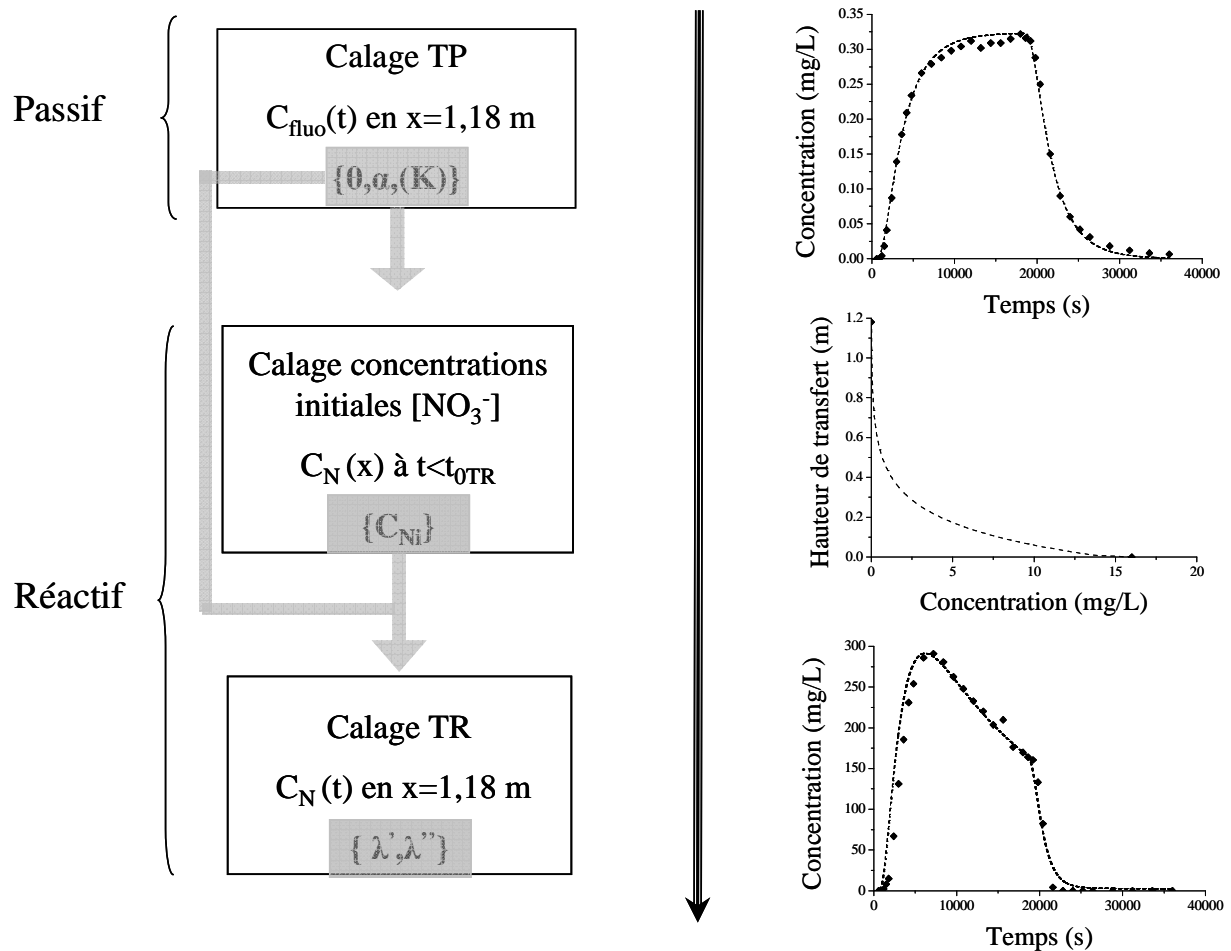


Figure 60 : Démarche adoptée pour la résolution du problème direct, exemple dans le cas d'une cinétique d'ordre 1. Etape 1 : détermination des paramètres hydrodispersifs (courbe TP), étape 2 : détermination des concentrations initiales en nitrates aux instants précédant le traçage réactif, étape 3 : détermination de la cinétique macroscopique par simulation de la courbe TR à partir des données issues des étapes 1 et 2.

### 5) Paramétrisation du transport

Aucune contrainte de calage n'est appliquée au modèle M1. L'intérêt de l'utilisation des modèles M2 et M3 est de retranscrire l'hétérogénéité du milieu par la modélisation de deux milieux aux propriétés hydrodispersives tranchées. Aucune donnée directe n'est cependant disponible pour contraindre les caractéristiques propres à chaque milieu (porosité, vitesse moyenne, dispersion etc.). La paramétrisation relève donc de choix arbitraires fondés sur une vision simplifiée du milieu. Les chenaux observés ainsi que les fronts abrupts de concentration sur les courbes TP suggèrent une phase fluide vélocé. A l'inverse, la phase fluide dans le biofilm est perçue comme une phase stagnante (M2) ou à circulation lente (M3). Cette conceptualisation se traduit par l'imposition de contraintes sur :

### 1- Les porosités $\theta_p$ et $\theta_b$ respectivement allouées au milieu poreux et au milieu biofilm

-  $\theta_p = \theta_1 \frac{t_{0,3}}{t_1}$ , il s'agit ici d'attribuer une valeur de porosité  $\theta_p$  au milieu poreux qui permet des

vitesse rapides expliquant ainsi les premiers temps d'arrivée des courbes de restitution.  $\theta_1$  et  $t_1$  sont respectivement la porosité apparente et le temps par convection calculés à partir du modèle M1.  $t_{0,3}$  est le temps caractéristique de l'arrivée des premières concentrations (temps pour lequel un tiers de la concentration au palier est atteint).

-  $\theta_p + \theta_b \leq \theta_i$ , la somme des porosités allouées à chaque milieu est inférieure ou égale à la porosité initiale. Concrètement, les tests menés sur les modèles M2 et M3 ont montré que la somme des porosités est généralement égale, à quelques pourcents près, à la porosité obtenue avec le modèle M1, soit  $\theta_p + \theta_b \approx \theta_1$ . De fait, la porosité  $\theta_1$  étant inférieure à la porosité initiale  $\theta_i$ , l'hypothèse est faite qu'une partie de la porosité colonisée est imperméable et inerte.

### 2- le rapport des flux $Q_p/Q_T$ (modèle M3 uniquement)

-  $Q_p/Q_T$  est tel que  $u_p \geq u_b$ . Concrètement, le rapport  $Q_p/Q_T$  ne peut être inférieur à 0,7, limite au-delà de laquelle la condition de vitesse n'est pas respectée. Deux rapports de flux sont donc proposés pour la discussion des résultats :  $Q_p/Q_T = 0,9$  et  $Q_p/Q_T = 0,7$ .

### 3- La dispersion dans le milieu poreux

- On considère ici que le milieu poreux à phase fluide vélocité (i.e. la traduction des chenaux) n'est pas affecté par la colonisation bactérienne et qu'en conséquence il possède des propriétés dispersives comparables à celle du milieu initial nonensemencé. La dispersion est alors contrainte de manière à ce que le Péclet soit de l'ordre du Péclet initial, i.e. 30, témoignant d'un milieu où la convection et la dispersion sont les seuls mécanismes de transport.

#### *6) Résolution numérique et discrétisation*

Les trois modèles sont programmés sous MatLab (The MathWorks, Inc). Les codes résolvent le transport par des différences finies 1D et une approche séquentielle non itérative (SNIA) pour le couplage avec les échanges éventuels entre milieux (poreux/biofilm) et les équations de réactions. L'approche SNIA consiste à résoudre les opérateurs de transport et de chimie successivement (Herzer and Kinzelbach, 1989; Walter et al., 1994; Fahs, 2007). Les équations de transport sont résolues sur le pas de temps ( $dt$ ), les concentrations obtenues sont ensuite utilisées comme concentrations initiales pour la résolution des équations de chimie. L'erreur de calcul engendrée par la séparation d'opérateurs

dans le calcul séquentiel diminue lorsque le pas de temps est affiné (Valocchi and Malmstead, 1992; Kaluarachchi and Morshed, 1995; Lanini and Kervévan, 2007). La résolution du problème étant appliquée à un domaine de petite taille, le temps de calcul ne représente pas une contrainte majeure. Afin d'obtenir une solution précise, le pas de temps ne dépasse pas 16 secondes pour un temps effectif de calcul compris entre 0,5 et 20 minutes. Au besoin, l'échange NEA est traité avec un pas de temps inférieur à celui utilisé pour le problème de transport (Figure 61). Pour la partie réaction, l'expression (39) de la cinétique d'ordre 1 possède une solution exacte (annexe 7). Pour cette raison, la discrétisation du pas de temps initial en pas de temps plus petit est inutile. Il en est de même pour la réaction d'ordre 0 dont le taux de dénitrification est indépendant de la concentration.

	①	②	③
	Advection-dispersion	Echange interphase LEA/NEA	Réaction de dénitrification Ordre 1/Ordre 0
Discrétisation temporelle	dt	dt/f *	dt
Discrétisation spatiale	dx	dx	dx

Figure 61 : Résolution du transport réactif par une approche séquentielle non itérative (SNIA). Le transport par advection dispersion est résolu en premier, vient ensuite la résolution de l'échange interphase par LEA ou NEA. Dans le cas d'un échange NEA, le pas de temps est affiné en divisant le pas de temps initial par un facteur  $f$ . Notons que cette étape ne concerne que les modèles M2 et M3. Une fois l'échange interphase résolu, la dernière étape consiste à résoudre la réaction de dénitrification.

Le schéma de discrétisation appliqué aux équations (30), (33) et (34) est reporté dans le Tableau 23 et détaillé en annexe 7. Le système linéaire d'équations correspondant à la partie transport (advection-dispersion) est résolu directement par un algorithme de Thomas (« triangulation » du système linéaire initial, annexe 8).

	<i>Temporelle</i>	<i>Spatiale</i>
Advection	Explicite	Amont
Dispersion	Implicite	Centrée
Echange interphase	Explicite	-
Dénitrification	Explicite	-

Tableau 23: Schémas de discrétisation temporels et spatiaux

Les troncatures calculées à partir du développement de Taylor et du théorème de superposition indiquent que :

- le schéma implicite centré pour la dispersion n'engendre pas d'erreur de troncature d'ordre 2.

La dispersion numérique est nulle au regard de l'équation de dispersion.

- le schéma explicite amont pour la convection engendre une erreur de troncature  $R_{\Delta}$  d'ordre 2 équivalente à :

$$R_{\Delta} = \left( u^2 \frac{\Delta t}{2} - u \frac{\Delta x}{2} \right) \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (43)$$

Pour que le schéma soit stable au regard de la résolution explicite de la convection, le code respecte un critère de stabilité énoncé au travers du nombre de Courant :

$$Cr = u \frac{\Delta t}{\Delta x} \leq 1 \quad (44)$$

Lorsque le nombre de Courant vaut 1, l'erreur de troncature  $R_{\Delta}$  engendrée par le schéma explicite amont est nulle. Pour les modèles M1 et M2, la discrétisation choisie impose un nombre de Courant égal à 1. Le modèle M3 constitue un cas particulier. La discrétisation temporelle et la discrétisation spatiale appliquées aux deux phases sont identiques. La valeur du nombre de Courant vaut 1 dans le milieu le plus vélocité (poreux). Le nombre de Courant dans le milieu biofilm est donc nécessairement inférieur à 1 respectant ainsi la stabilité du schéma mais engendrant une dispersion numérique dont la valeur est calculable par le terme algébrique de l'équation (43). Les dispersions numériques calculées pour l'ensemble des simulations du modèle M3 sont toujours trois à quatre ordres de grandeur inférieures à la dispersion  $D_{3b}$ . La dispersion numérique est donc négligeable.

#### 3.3.1.2.4 Condition initiale et conditions aux limites

La condition initiale appliquée quel que soit le modèle est donnée par :

$$C(x, 0) = C_{Ni} \quad (45)$$

$C_{Ni}$  : la concentration résiduelle en nitrates dans la colonne au début du traçage [M.L<sup>-3</sup>]

Les conditions aux limites sont les suivantes :

$$C(0, t) = C_{inj} \quad \text{pour } t \leq T_{inj} \quad (46)$$

$$C(0, t) = C_{NI} \quad \text{pour } t > T_{inj} \quad (47)$$

$$\left. \frac{\partial C}{\partial x} \right|_{L'} = 0 \quad \text{pour } t > 0 \quad (48)$$

$C_{inj}$  : la concentration d'injection [ $M.L^{-3}$ ]

$T_{inj}$  : le temps du créneau d'injection [T]

$C_{NI}$  : la concentration en nitrates dans l'eau du site [ $M.L^{-3}$ ]

$L'$  : la taille du domaine de modélisation égale à 5 mètres

La taille du domaine de modélisation  $L'$  est supérieure à la taille de la colonne de manière à supprimer l'influence de la condition (48) et éviter de perdre de la masse en « sortie » en raison du caractère très dispersif du milieu.

### 3.3.1.2.5 Sensibilités aux paramètres

Il s'agit ici de regarder la sensibilité macroscopique, i.e. de l'ensemble du modèle, à de petites variations de ses paramètres. Cette sensibilité macroscopique permet de juger à la fois de la stabilité des solutions trouvées mais également des éventuelles indéterminations ou concurrences d'effets lorsque plusieurs paramètres agissent de façon similaire sur les résultats du modèle.

Dans le cas présent, l'étude consiste à prendre un cas référence et à regarder la variation de l'erreur RMS pour une variation de 5 % des différents paramètres de calage. Deux options sont abordées. On cherche dans un premier temps à évaluer l'influence des paramètres sur le calage des courbes de transport passif. On se place donc dans un cas où le terme réactif  $R$  est nul. Le coefficient de sensibilité  $X_k$  (49) est alors calculé à partir de la variation de l'erreur RMS sur la première partie de courbe ( $t \leq T_{inj}$ ), partie privilégiée lors du calage direct des courbes TP (Figure 62a). Dans un second temps, on cherche à évaluer l'influence des paramètres sur la détermination de la valeur de cinétique. On se place alors dans un cas réactif ( $R \neq 0$ ). Le coefficient de sensibilité  $X_{Rk}$  est alors calculé à partir de la variation de l'erreur RMS sur la période correspondant au palier de stabilisation de la concentration dégradée, partie de courbe sur laquelle se base le calage des cinétiques (Figure 62b). Les résultats sont présentés en préambule de la présentation des résultats de modélisation.

$$X_k, X_{Rk} = \frac{\partial y / y}{\partial a_k / a_k} = \frac{[y(a_k + \Delta a_k) - y(a_k)] / y(a_k)}{\Delta a_k / a_k} \quad (49)$$

$X_k$  : coefficient adimensionnel de sensibilité

$y$  : la variable d'intérêt à savoir l'erreur quadratique normalisée RMS

$a_k$  : le paramètre d'influence

$\Delta a_k$  : la variation imposée au paramètre d'influence (+5%)

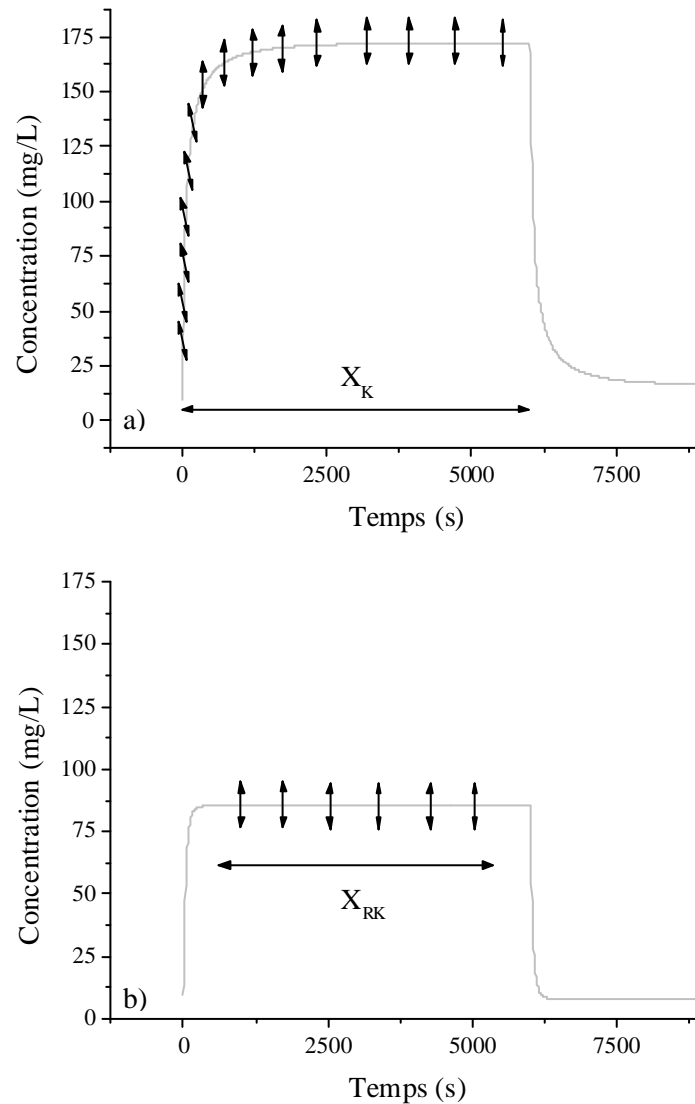


Figure 62 : Méthode de calcul des coefficients de sensibilité a) en contexte non réactif  $X_K$  et b) en contexte réactif  $X_{RK}$



### 3.3.1.2.6 Paramètres caractéristiques : $Pe$ , $\sigma_x$ , $Da$

Afin de pouvoir juger du sens des paramètres obtenus à l'aide des différents modèles et des temps caractéristiques des processus mis en jeu, quelques nombres caractéristiques peuvent être calculés. Pour rappel, ils sont définis de la façon suivante :

#### *Le nombre de Péclet ( $Pe$ )*

Ce paramètre adimensionnel a déjà été présenté au paragraphe 3.1.2.1. Il permet de juger de l'importance relative des processus de convection et de dispersion. Dans le cas du milieu non colonisé par le biofilm, le nombre de Péclet initial est de  $33,2 \pm 8,2$ . On rappelle que  $Pe = uL/D$ .

#### *La dispersion spatiale des concentrations à l'échelle d'une maille de modèle ( $ED$ )*

Ce terme est utilisé pour l'évaluation des paramètres de dispersion dans le modèle M3. Il permet de comparer, à l'échelle d'une maille du modèle, l'étalement respectif des concentrations attaché au milieu poreux et au milieu biofilm. Il est défini par :

$$ED_{p,b} = \sigma_x = \sqrt{2D_{p,b}\Delta t} \quad (50)$$

#### *Les nombres de Damköhler ( $Da1$ , $Da2$ , $Da3$ )*

Ces nombres adimensionnels caractérisent les rapports de temps caractéristiques entre les différents processus. Le Damköhler1 ( $Da1$ ) est le rapport du temps caractéristique par convection sur le temps caractéristique de réaction (51). Le Damköhler2 ( $Da2$ ) représente quant à lui le ratio du temps caractéristique par convection sur le temps caractéristique de transfert de masse interphase (52). Enfin, le Damköhler3 ( $Da3$ ) représente le ratio du temps caractéristique de transfert de masse interphase sur le temps caractéristique de réaction (53). Les temps caractéristiques de termes cinétiques sont en  $1/$  (constante cinétique) dans le cas d'une cinétique d'échange ou d'une cinétique de réaction d'ordre 1 et en (concentration d'injection)/ (constante cinétique) pour une cinétique de réaction d'ordre 0.

$$Da1 = \frac{t_{convection}}{t_{reaction}} = \frac{\lambda L}{u_{1,p}} \quad (51)$$

ou

$$Da1 = \frac{t_{convection}}{t_{reaction}} = \frac{\beta L}{u_{1,p} C_{inj}} \quad (52)$$

$$Da2 = \frac{t_{convection}}{t_{transfert}} = \frac{\gamma L}{u_p} \quad (52)$$

$$Da3 = \frac{t_{transfert}}{t_{reaction}} = \frac{\lambda}{\gamma} \quad (53)$$

ou

$$Da3 = \frac{t_{transfert}}{t_{reaction}} = \frac{\beta}{\gamma C_{inj}}$$

### 3.3.2 Résultats et discussion

#### 3.3.2.1 Préambule : étude de sensibilité

Les données d'entrée des différents cas tests ont été choisies en fonction des ordres de grandeur des valeurs obtenues en calage (Tableau 24).

		M1	M2	M3_LEA		M3_NEA	
	Q (L.h <sup>-1</sup> )	12	12	12	12	12	12
	Q <sub>p</sub> /Q <sub>T</sub>	-	-	0,9	0,7	0,9	0,7
TRANSPORT	u <sub>1</sub> , u <sub>2</sub> , u <sub>p</sub> (m.s <sup>-1</sup> )	1,6.10 <sup>-3</sup>	3,2.10 <sup>-3</sup>	2,8.10 <sup>-3</sup>	2,2.10 <sup>-3</sup>	2,8.10 <sup>-3</sup>	2,2.10 <sup>-3</sup>
	u <sub>b</sub> (m.s <sup>-1</sup> )	-	-	3,2.10 <sup>-4</sup>	9,5.10 <sup>-4</sup>	3,2.10 <sup>-4</sup>	9,5.10 <sup>-4</sup>
	D <sub>1</sub> , D <sub>2</sub> , D <sub>p</sub> (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	9,4.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-4</sup>	1,1.10 <sup>-4</sup>	8,4.10 <sup>-5</sup>	1,1.10 <sup>-4</sup>	8,4.10 <sup>-5</sup>
	D <sub>b</sub> (m.s <sup>-1</sup> )	-	-	7,9.10 <sup>-4</sup>	9,5.10 <sup>-4</sup>	5,7.10 <sup>-5</sup>	1,4.10 <sup>-3</sup>
	Pe <sub>1</sub> , Pe <sub>2</sub> , Pe <sub>3p</sub>	2	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1
	Pe <sub>3b</sub>	-	-	0,5	1,2	6,6	0,8
	θ <sub>1</sub> , θ <sub>p</sub> (%)	12	6	6	6	6	6
	θ <sub>1</sub> , θ <sub>b</sub> (%)	-	6	6	6	6	6
	α <sub>1</sub> , α <sub>2</sub> , α <sub>p</sub> (m)	0,6	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	α <sub>b</sub> (m)	-	-	2,5	1	0,18	1,5
	γ (s <sup>-1</sup> )	-	2.10 <sup>-4</sup>	-	-	1.10 <sup>-4</sup>	9.10 <sup>-4</sup>
	Da <sub>2</sub>	-	0,07	-	-	0,04	0,48
	REACTION	λ (s <sup>-1</sup> )	0,005	0,005/0,0001	0,005	0,005	0,005
Da <sub>1</sub>		4	2 / 0,04	2	3	2	24
Da <sub>3</sub>		-	25 / 0,5	-	-	50	50
β (mg.L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )		0,2	0,2 / 0,5	0,2	0,2	0,5	0,5
Da <sub>1</sub>		0,7	0,3 / 0,7	0,3	0,4	0,8	1
Da <sub>3</sub>		-	4 / 9	-	-	19	2

Tableau 24 : Paramètres d'entrée utilisés pour les études de sensibilités

#### Modèle M1

La simulation de la montée des courbes TP indique que le modèle est particulièrement sensible à la porosité, i.e. à la vitesse ou temps par convection (Figure 63a). Si l'on s'intéresse ensuite à l'influence des paramètres sur le calage du plateau de dénitrification (et donc sur la masse de nitrates dégradée),

on remarque que dans le cas d'une cinétique d'ordre 1, le modèle est à la fois sensible à la porosité et à la dispersion (perçue au travers de la dispersivité), i.e. au temps par convection ainsi qu'à l'étalement des temps et aux concentrations locales (Figure 63b). Dans le cas d'un modèle avec une cinétique d'ordre 0, le modèle est plus sensible à la porosité qu'à la dispersion puisque les valeurs locales de concentrations, influencées par la dispersion, n'entrent pas en jeu dans la cinétique (équation (40), Figure 63c). Rappelons que la vitesse de dégradation à l'ordre 0 est constante, donc la masse dégradée dépend directement du temps passé dans le système.

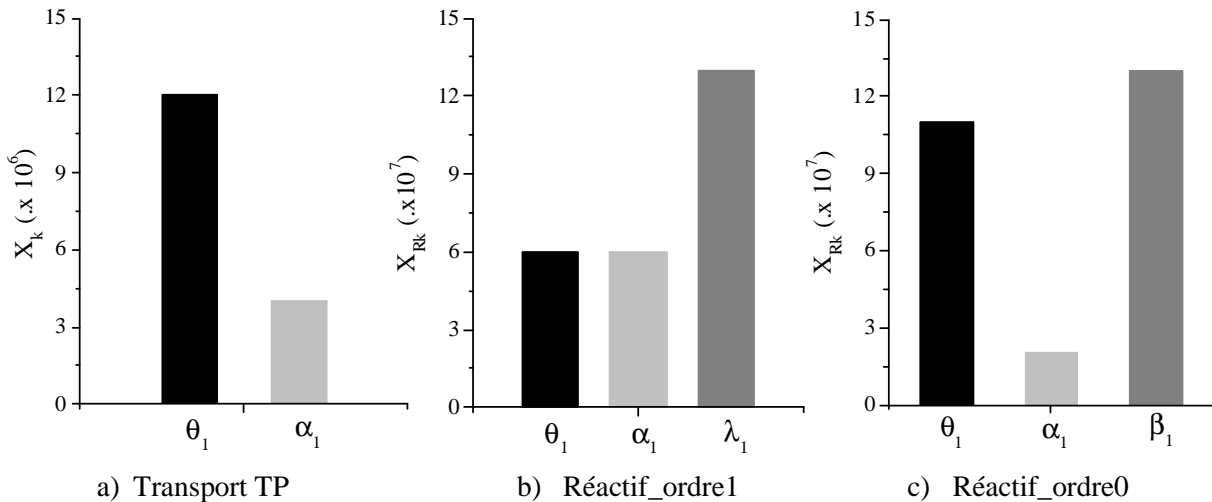


Figure 63 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M1.  $X_k$  retranscrit la sensibilité du modèle de transport aux paramètres de porosité  $\theta_1$  et de dispersivité  $\alpha_1$ .  $X_{Rk}$  retranscrit la sensibilité de la partie réactive du modèle aux paramètres de transport et de réaction pour une cinétique d'ordre 1 ou une cinétique d'ordre 0.

### Modèle M2

Pour le modèle M2, les paramètres clé du calage des courbes TP sont les porosités allouées à chaque milieu : la porosité  $\theta_p$  qui impose la vitesse et le temps par convection du soluté et la porosité  $\theta_b$  qui régule pour partie les masses échangées avec le biofilm et donc incidemment la distribution des temps (Figure 64a). Lors de cette première phase de modélisation, le coefficient d'échange interphase  $\gamma$  constitue quant à lui un paramètre peu sensible. Lors du traitement de la réaction, la porosité  $\theta_p$  affecte peu la masse dénitrifiée quand cette dernière est principalement influencée par la porosité  $\theta_b$ , la valeur de cinétique et dans certains cas le coefficient d'échange interphase  $\gamma$  (Figure 64b-e).

Pour une porosité  $\theta_b$  prédéfinie, la sensibilité de la partie réactive du modèle dépend de la valeur du Damköhler3 (Figure 64b/c-d/e). Aux Damköhler3 les plus élevés, le coefficient d'échange interphase  $\gamma$  peut avoir plus de poids sur la masse dénitrifiée que n'en a la cinétique elle-même. De fait, le coefficient  $\gamma$  « régule » les concentrations distribuées dans la phase réactive. Ainsi pour de fortes

valeurs de cinétique ( $\lambda$ ,  $\beta$ ) et de faibles valeurs de coefficient  $\gamma$ , i.e. pour un temps de réaction beaucoup plus court que le temps de transfert interphase, le coefficient  $\gamma$  devient limitant dans la réaction. Lorsque le Damköhler<sup>3</sup> diminue, i.e. que le temps de transfert interphase diminue devant le temps de réaction, la sensibilité de la réactivité du système se reporte alors sur la valeur de la cinétique.

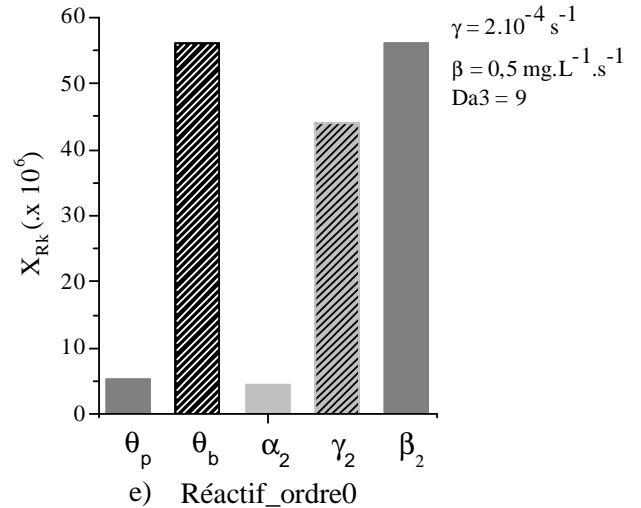
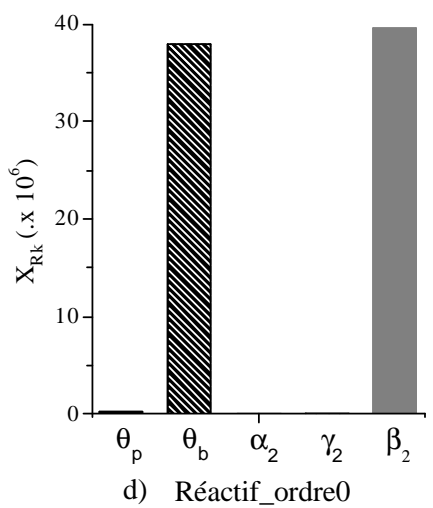
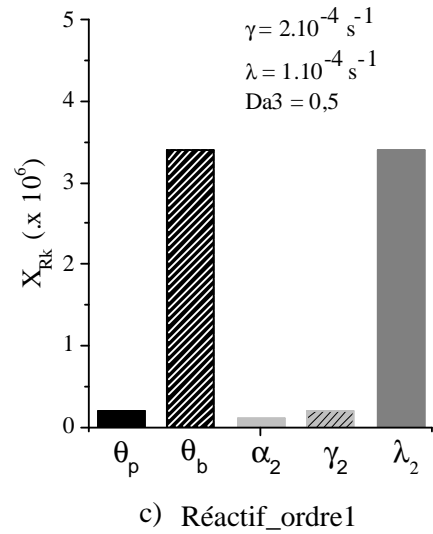
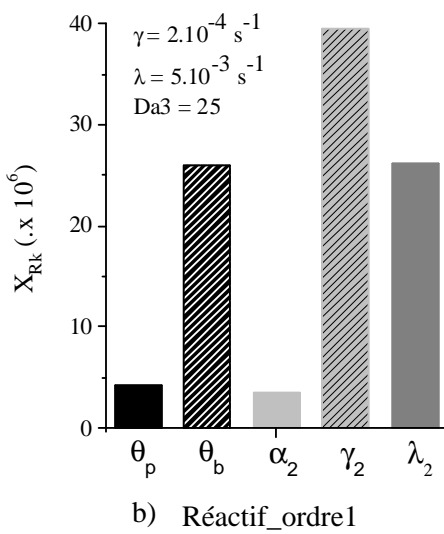
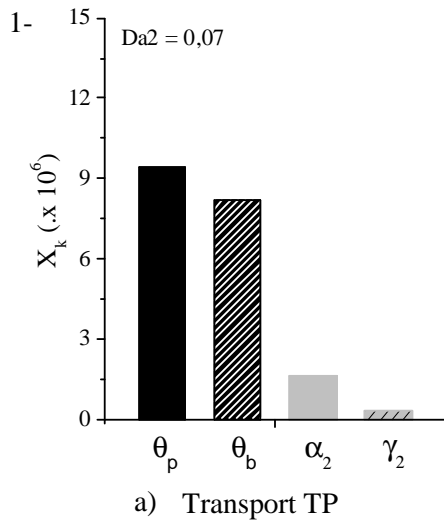


Figure 64 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M2.  $X_k$  retranscrit la sensibilité du modèle de transport aux paramètres de porosité  $\theta_p$ ,  $\theta_b$ , de dispersivité  $\alpha_2$  et de coefficient d'échange interphase  $\gamma_2$ .  $X_{Rk}$  retranscrit la sensibilité de la partie réactive du modèle aux paramètres de transport et de réaction pour une cinétique d'ordre 1 ou une cinétique d'ordre 0.

### Modèle M3\_LEA

Pour le modèle M3 avec un échange interphase type équilibre instantané (LEA), seuls les coefficients de sensibilité pour un rapport de flux de 0,9 sont présentés (Figure 65). Pour un rapport de flux de 0,7, les tendances sont similaires, les coefficients  $X_k$  et  $X_{Rk}$  pour les paramètres attachés au milieu biofilm étant alors légèrement supérieurs à ceux calculés pour un rapport de flux de 0,9 en raison d'un flux massique transitant dans le biofilm plus important.

Le calage du transport passif dépend essentiellement des temps par convection caractéristiques de chaque milieu (porosités  $\theta_b$  et  $\theta_p$ ) et de la dispersion dans le milieu biofilm  $\alpha_b$  (Figure 65a). En réactif, le modèle est particulièrement sensible à la porosité  $\theta_b$  qui détermine pour partie la masse échangée avec le milieu poreux et influence ainsi la distribution des temps (Figure 65bc).

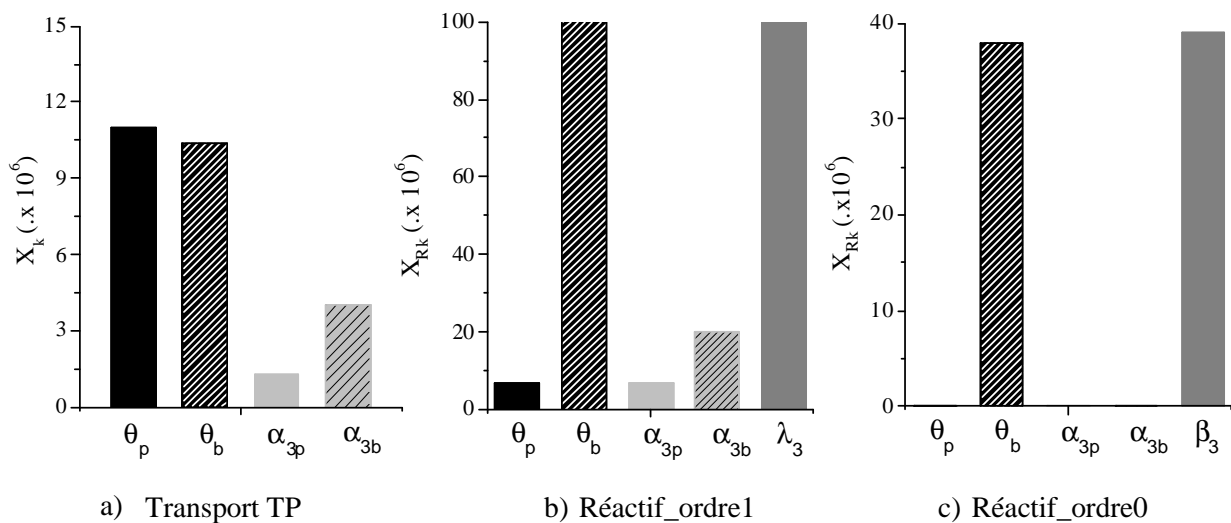


Figure 65 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3\_LEA.  $X_k$  retranscrit la sensibilité du modèle de transport aux paramètres de porosité  $\theta_p$ ,  $\theta_b$ , et de dispersivité  $\alpha_{3p}$ ,  $\alpha_{3b}$ .  $X_{Rk}$  retranscrit la sensibilité de la partie réactive du modèle aux paramètres de transport et de réaction pour une cinétique d'ordre 1 ou une cinétique d'ordre 0.

### Modèle M3\_NEA

Les coefficients  $X_k$  et  $X_{Rk}$  pour des rapports de flux de 0,9 et 0,7 sont respectivement présentés sur la Figure 66 et la Figure 67.

Pour un rapport de flux de 0,9, les réponses du modèle à la variation des paramètres sont comparables à celles observées avec le modèle M2. De la même manière, la sensibilité de la part réactive du modèle

peut s'avérer, en fonction de la valeur du Damköhler3, particulièrement sensible à la valeur de  $\gamma$  (Figure 66bc). Cette ressemblance s'explique par le faible flux massique transporté dans le milieu biofilm et la faible vitesse d'écoulement associée à ce milieu en comparaison de celle ayant cours dans le milieu poreux. La dispersion dans le milieu biofilm a peu d'influence quel que soit le problème traité (TP vs. TR).

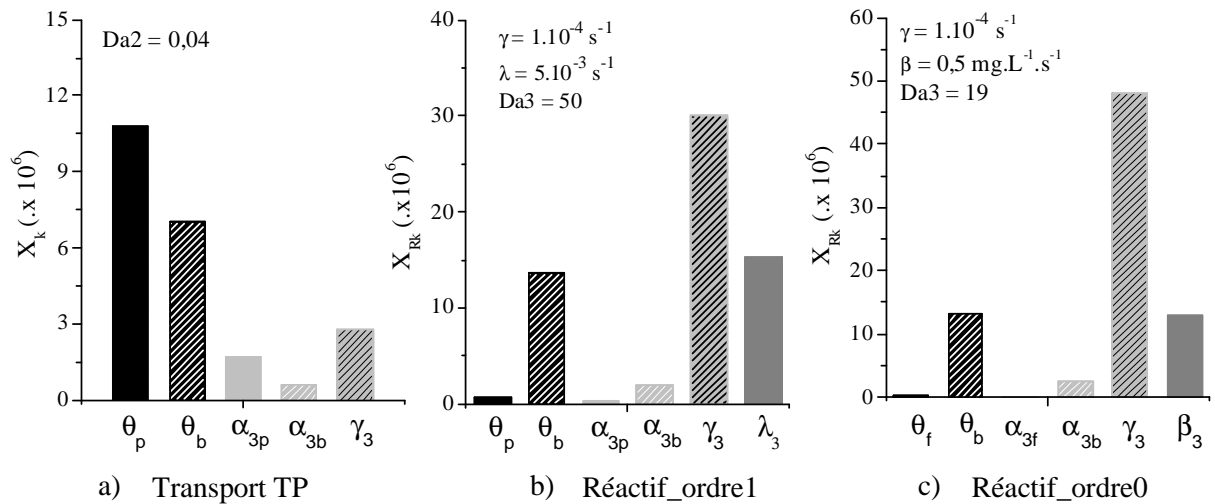


Figure 66 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3\_NEA\_0,9.  $X_k$  retranscrit la sensibilité du modèle de transport aux paramètres de porosité  $\theta_p$ ,  $\theta_b$ , de dispersivité  $\alpha_{3p}$ ,  $\alpha_{3b}$  et de coefficient d'échange interphase  $\gamma_3$ .  $X_{Rk}$  retranscrit la sensibilité de la partie réactive du modèle aux paramètres de transport et de réaction pour une cinétique d'ordre 1 ou une cinétique d'ordre 0.

Pour un rapport de flux de 0,7 en calage TP, le modèle est plus sensible à la dispersivité  $\alpha_b$  qu'au coefficient d'échange interphase  $\gamma$  (Figure 67a). En réactif, ces deux paramètres influencent la quantité dénitrifiée (et donc la valeur de cinétique déterminée) avec un impact plus marqué pour le coefficient d'échange interphase (Figure 67bc).

Dans la configuration M3\_NEA\_0,9, un  $Da_3$  de 50 (i.e. un temps de réaction court devant le temps d'échange interphase) pour une réaction d'ordre 1 équivaut à un coefficient d'échange limitant vis-à-vis de la réaction. Pour un rapport de flux de 0,7, un  $Da_3$  de 50 à un impact moins marqué sur la quantité dénitrifiée. Cette plus faible régulation de la quantité dénitrifiée par le coefficient  $\gamma$  résulte de la combinaison d'un flux massique imposé dans le milieu biofilm dénitrifiant plus important (30% du flux massique en entrée au lieu de 10%) et d'un  $Da_2$  (temps par convection/temps de transfert) plus élevé qui génère plus de masse transportée dans le biofilm.



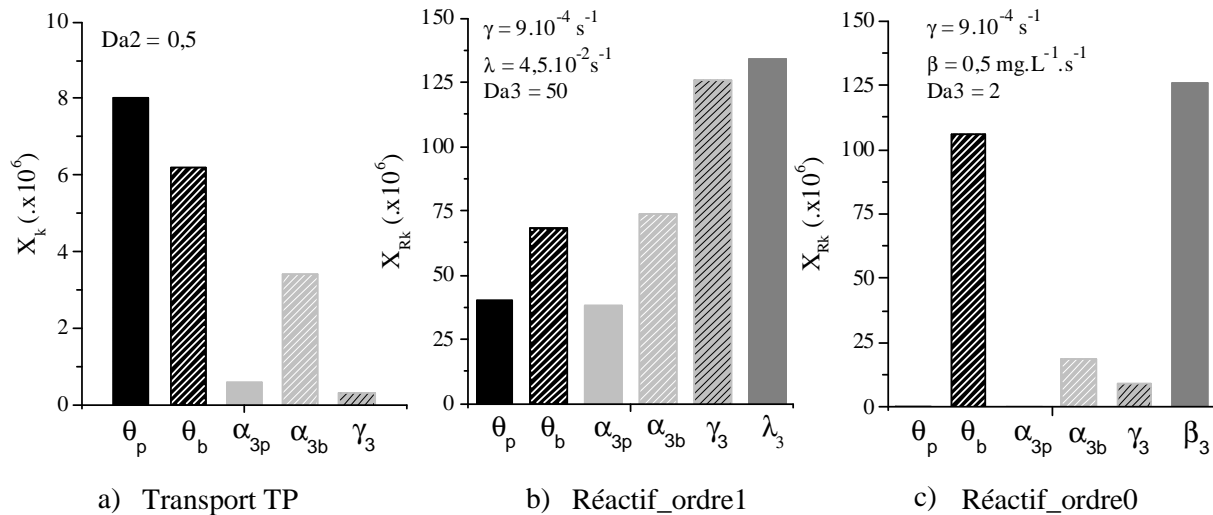


Figure 67 : Coefficients de sensibilité calculés pour le modèle M3\_NEA\_0,7.  $X_k$  retranscrit la sensibilité du modèle de transport aux paramètres de porosité  $\theta_p$ ,  $\theta_b$ , de dispersivité  $\alpha_{3p}$ ,  $\alpha_{3b}$  et de coefficient d'échange interphase  $\gamma_3$ .  $X_{Rk}$  retranscrit la sensibilité de la partie réactive du modèle aux paramètres de transport et de réaction pour une cinétique d'ordre 1 ou une cinétique d'ordre 0.

### Bilan

Si l'on synthétise les résultats des analyses de sensibilités aux paramètres des trois modèles testés, les points notables sont :

1- Tous modèles et configurations confondus, les porosités  $\theta_1$ ,  $\theta_p$ ,  $\theta_b$  comptent parmi les paramètres les plus influents dans la simulation des courbes de traçage. Les porosités conditionnent le temps passé dans le milieu dénitrifiant au travers des vitesses, i.e. des temps par convection et la distribution des temps au travers de la masse échangée entre les milieux (calcul des concentrations à l'équilibre, annexe 7). Lors des simulations de courbes expérimentales, la porosité  $\theta_1$  calée définit la porosité  $\theta_p$  utilisée dans les modèles M2 et M3 (porosité permettant d'obtenir les temps courts,  $\theta_p = \theta_1 \frac{t_{0,3}}{t_1}$ ). Pour une porosité  $\theta_p$  alors prédéfinie, la forte sensibilité des modèles à la porosité  $\theta_b$  (caractéristique du milieu biofilm) témoigne qu'il n'existe pas une infinité de solution autour de celle proposée ultérieurement, à savoir  $\theta_p + \theta_b \approx \theta_1$ .

2- L'influence de la dispersion  $D_p$  sur le calage des courbes en transport passif ou réactif est peu marquée. En conséquence, la contrainte portant sur le Péclet du milieu poreux (Péclet de l'ordre de 30) n'a finalement que peu d'incidence sur le calage des courbes.

3- Lorsqu'un échange cinétique existe entre deux milieux, i.e. un échange NEA, certains rapports entre coefficient d'échange  $\gamma$  et cinétique de réaction  $\lambda$  ou  $\beta$  conduisent à une réaction limitée par le coefficient d'échange plus que par la cinétique de dégradation elle-même. Ceci est observé lorsque le flux massique imposé en entrée du biofilm est nul ou faible (M2 et M3\_NEA\_0,9) et que le temps de réaction est bien inférieur au temps de transfert ( $Da_3$  élevé).

### 3.3.2.2 Les paramètres de transport simulés et leurs implications dans la résolution du problème réactif

A chaque débit, les modèles M1, M2 et M3 permettent de simuler correctement plus de 90 % de la courbe TP considérée et ce, en respectant les contraintes citées dans le paragraphe sur la paramétrisation du transport. La présentation des résultats comprend l'ensemble des paramètres calés avec le modèle M1 ainsi que la porosité  $\theta_p$  déduite servant de base aux modèles M2/M3. Les modèles M2 et M3 sont présentés au travers de deux exemples types (essai C et G).

#### 3.3.2.2.1 Le modèle M1 ou la traduction simple continuum d'un système chenalisé en présence du biofilm

Le Tableau 25 récapitule les paramètres de calage ( $\theta_1, D_1$ ) des simulations M1 ainsi que les paramètres calculés à partir de ces derniers ( $u_1, \alpha_1, Pe_1, \theta_p$ ). La Figure 68 illustre les simulations des essais C et G.

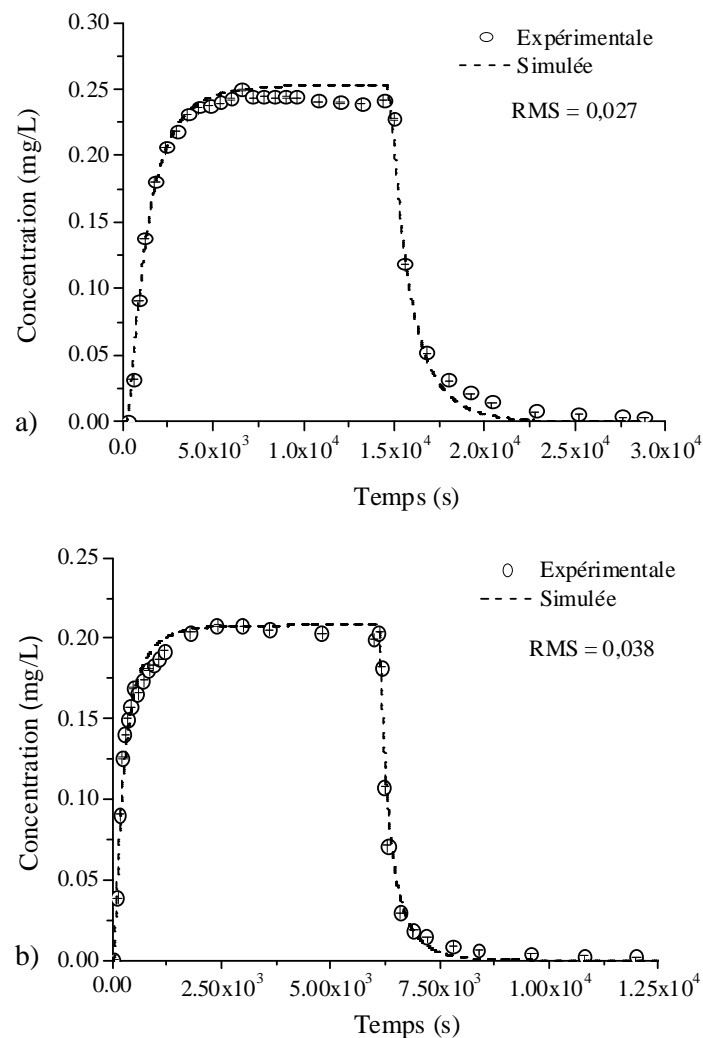


Figure 68 : Exemples de simulation obtenue avec le modèle M1. a) essai C, b) essai G

Essai	A	B	C	D	E	F	G
Q (L.h <sup>-1</sup> )	5,5	10,1	12,1	20,8	30,5	40,8	40,1
u <sub>1</sub> (m.s <sup>-1</sup> )	2,9.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-3</sup>	7,4.10 <sup>-4</sup>	2,6.10 <sup>-3</sup>	3,2.10 <sup>-3</sup>	5,6.10 <sup>-3</sup>	3,4.10 <sup>-3</sup>
D <sub>1</sub> (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	7,8.10 <sup>-5</sup>	4,5.10 <sup>-4</sup>	3,3.10 <sup>-4</sup>	1,6.10 <sup>-3</sup>	2,6.10 <sup>-3</sup>	1,2.10 <sup>-2</sup>	2,4.10 <sup>-3</sup>
θ <sub>1</sub> (%)	30	12	26	12	15	11	19
α <sub>1</sub> (m)	0,27	0,35	0,45	0,63	0,8	2,2	0,7
Pe <sub>1</sub>	4,3	3,4	2,6	1,9	1,5	0,5	1,7
RMS	0,026	0,032	0,027	0,037	0,067	0,027	0,038
θ <sub>p</sub> (%)	19	8	14	6	6	2	8
θ <sub>p</sub> / θ <sub>1</sub>	0,6	0,7	0,5	0,5	0,4	0,2	0,4
Réaction	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

Tableau 25 : Modèle M1 : Paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP. La case réaction indique si les paramètres de transport permettent la résolution du problème réactif (simulation des courbes TR). RMS est la valeur de la moyenne des erreurs quadratique calculée sur la première partie de courbe ( $t < t_{injection}$ ).

Les premières observations faites sur les courbes de restitution et sur l'organisation du système concassé/biofilm sur les parois des colonnes (§3.3.1.2.1) se confirment au travers des paramètres de transport simulés avec le modèle M1. Les porosités  $\theta_1$  obtenues indiquent une réduction de porosité variant, selon les essais, de - 25% (essai A) à -73 % (essai F). En termes de temps caractéristiques, cela se traduit par des temps de séjour moyens dans le système 1,5 à 3,5 fois plus faibles que les temps de séjour initiaux. D'autre part, la dispersion nécessaire au calage est telle que le nombre de Péclet chute, atteignant des valeurs comprises entre 0,5 et 4,3. Cette augmentation de dispersion se traduit par des dispersivités anormalement élevées pouvant, dans certains cas, dépasser la taille de la colonne (essai F). La dispersion n'est alors plus une fonction linéaire de la vitesse d'écoulement telle que définie pour un milieu homogène (Figure 69).

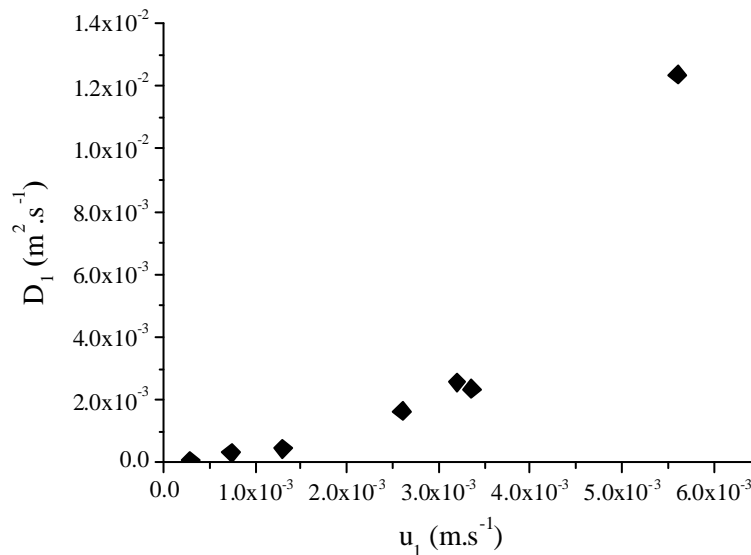


Figure 69 : Relation non linéaire entre la vitesse d'écoulement et la dispersion pour différents essais

La réduction de porosité associée à une augmentation anormale de la dispersion corrobore la présence d'un système chenalisé ou tout du moins multi-milieux engendrant des anomalies dans l'analyse de la dispersion macroscopique entre l'entrée et la sortie du système. Au regard des valeurs de Péclet, on peut dès lors se poser la question du sens que revêt la dénomination de « vitesse moyenne d'écoulement » associée au terme  $u_1$ . Les valeurs de dispersion sont telles qu'elles ne traduisent plus un étalement sensiblement gaussien des vitesses locales autour de la vitesse moyenne (Figure 70). Ces anomalies de dispersion témoignent d'une forte hétérogénéité dans la distribution des vitesses d'écoulement potentiellement combinée à des processus de rétention réversible au sein du biofilm. Si le modèle simple en convection-dispersion permet de simuler les courbes, le sens physique généralement attribué au terme  $u$  et  $D$  n'a plus lieu d'être. Il paraît alors plus juste de parler de vitesse apparente d'écoulement et de porosité cinématique apparente. En revanche, le temps et plus généralement sa distribution conservent leur sens puisqu'il ne s'agit pas de processus factuels paramétrés mais bien de grandeurs physiques mesurables, conséquences de l'ensemble des mécanismes actant dans le système.

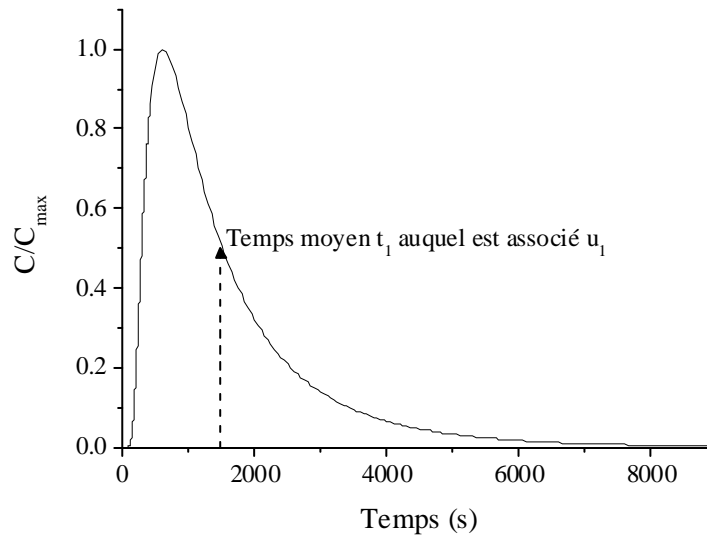


Figure 70 : Etalement des temps dans le cas d'anomalies de dispersion ( $Pe = 2,6$ ). Exemple de l'essai G pour une injection instantanée simulée.

Sur la base de ces résultats, reprenons l'hypothèse formulée à partir des flux massiques de nitrates et d'éthanol consommés et qui concerne l'accroissement de la quantité de biomasse lorsque le débit augmente. Si tel est le cas et si la production de biomasse se traduit par une augmentation de l'épaisseur du biofilm, la porosité devrait être décroissante lorsque le débit augmente. Aux fluctuations près inhérentes aux expérimentations conduites avec du vivant, la relation entre réduction de porosité et débit illustrée sur la Figure 71 s'accorde grossièrement avec cette hypothèse. Dans le détail, si la porosité apparente semble bien décroissante de l'essai A à l'essai D (l'essai B faisant exception très probablement en raison d'un nettoyage incomplet de la colonne), elle tend à être constante pour les essais conduits entre 20 et 40  $L.h^{-1}$  (Figure 71). Entre 20 et 40  $L.h^{-1}$ , la corrélation entre l'augmentation de la quantité de biomasse et la réduction de porosité est donc moins nette.

Cependant, la porosité apparente  $\theta_1$  est une résultante des vitesses d'écoulement échantillonnées dans un milieu où les champs de vitesses sont fortement hétérogènes. Dans l'idée d'une dichotomie vitesse élevée/vitesse faible, la proportion des deux gammes de vitesses varie très probablement en fonction du développement du biofilm. Dans ces conditions, on peut imaginer qu'une même porosité apparente puisse résulter de configurations d'échantillonnage des vitesses accessibles différentes fonction des fractions chenaux/biofilm rencontrées. Dans un milieu hétérogène tel que celui étudié, la porosité apparente n'est plus le seul reflet de la porosité connectée mais devient un paramètre intégrateur des différentes porosités participant à l'écoulement et des vitesses caractéristiques qu'elles engendrent sous l'imposition d'un flux. D'autre part, l'approche macroscopique ignore l'hétérogénéité longitudinale du milieu (i.e. stratification en fonction de la hauteur en « tranche » de conductivités hydrauliques différentes), biais supplémentaire susceptible d'influencer la porosité macroscopique

apparente de calage  $\theta_1$ . De fait, il n'y a pas forcément de contradiction entre l'hypothèse d'un développement bactérien croissant et d'une porosité  $\theta_1$  sub-constante. Il pourrait s'agir d'un artefact engendré par l'apposition d'un modèle physique adapté aux milieux homogènes sur un milieu hétérogène.

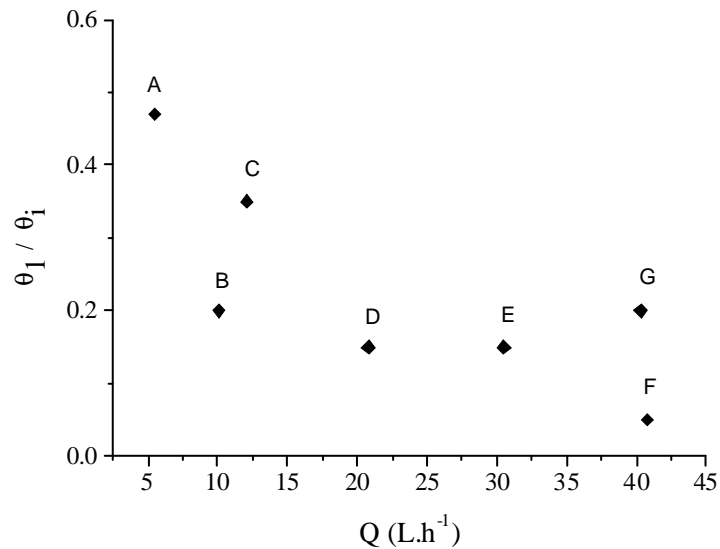


Figure 71 : Evolution du ratio entre la porosité apparente  $\theta_1$  obtenue avec le modèle M1 et la porosité initiale  $\theta_i$  en fonction du débit d'alimentation.

### 3.3.2.2.2 Une paramétrisation des modèles limitante pour la résolution conjointe du transport et de la réaction de dénitrification

Le modèle M2 faisant appel à une cinétique d'échange entre le milieu poreux convecto-dispersif et le milieu biofilm dénitrifiant à phase fluide stagnante permet une description correcte des courbes de transport passif TP (Tableau 26). Cependant, pour les configurations testées, ce modèle échoue à retranscrire l'intensité des réactions de dénitrification. Les Damköhler2 (Da2) sont inférieurs à 0,1 témoignant d'un temps de transfert interphase ( $1/\gamma$ ) au moins dix fois plus long que le temps de transport par convection. A ces Da2 faibles sont associés des Damköhler3 élevés. Le cas est ici similaire à celui présenté dans l'étude de sensibilité sur M2 à savoir que le taux de dénitrification n'est plus simplement influencé par la cinétique de réaction mais devient une fonction directe du coefficient  $\gamma$  qui limite la quantité de nitrates réduits. Ce résultat signifie que le report de la totalité de l'hétérogénéité du milieu sur un seul et unique paramètre tel que le coefficient de transfert interphase  $\gamma$  est probablement correct mais que dans ce contexte, la contrainte de réaction stipulant que le milieu biofilm est seul siège de dénitrification, est erronée. Une cinétique de dénitrification appliquée aux deux milieux (poreux/biofilm) permettrait peut-être de résoudre le transport réactif tout en utilisant un modèle de transport dont les paramètres conservent un sens physique.

Essai	C	G
Q (L.h <sup>-1</sup> )	12,1	40,1
u <sub>2</sub> (m.s <sup>-1</sup> )	1,4.10 <sup>-3</sup>	7,7.10 <sup>-3</sup>
D <sub>2</sub> (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	5,3.10 <sup>-5</sup>	2,9.10 <sup>-4</sup>
α <sub>2</sub> (m)	0,038	0,038
γ <sub>2</sub> (s <sup>-1</sup> )	1,2.10 <sup>-4</sup>	3,3.10 <sup>-4</sup>
θ <sub>p</sub> (%)	14	8
θ <sub>b</sub> (%)	12	11
Pe <sub>2</sub>	31,1	31,1
Da <sub>2</sub>	0,09	0,05
Da <sub>3</sub>	250	273
RMS	0,026	0,031
Réaction	Non	Non

Tableau 26 : Modèle M2, paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP. Ce modèle ne permet pas de retranscrire l'intensité de la réaction de dénitrification lors des simulations des courbes TR. Les Damköhler 3 présentés sont ceux obtenus avec une cinétique d'ordre 1. La réaction ne pouvant être résolue, le Damköhler3 est calculé sur la base de la cinétique λ maximum au-delà desquelles la concentration simulée ne varie plus de plus de 1%. Les Da3 pour une cinétique d'ordre 0 ne sont pas présentés puisque cet ordre cinétique ne permet pas non plus de solutionner le problème réactif.

Etudions maintenant les résultats du modèle M3\_LEA.

Si l'on s'essaie à retranscrire l'hétérogénéité simplement au travers de deux milieux aux vitesses d'écoulement caractéristiques différentes ( $u_p > u_b$ ) avec un milieu poreux principalement convecto-dispersif (Péclet = 30) et un échange interphase (poreux/biofilm) suffisamment rapide pour faire l'approximation d'un équilibre instantané, les résultats reportés dans le Tableau 27 et sur la Figure 72 indiquent que des solutions existent mais se traduisent inmanquablement par des nombres de Péclet pour le milieu biofilm proches de 1 ou inférieurs à 1. Ce modèle génère une dichotomie entre un milieu convecto-dispersif (le poreux) et un milieu convectif mais fortement dispersif (le biofilm). Ce caractère très dispersif du milieu biofilm indique que le biofilm est un milieu plus complexe géométriquement qu'un milieu poreux homogène (au sens statistique du terme). De fait, cette forte dispersion dans le milieu biofilm génère un étalement spatial des concentrations ( $ED_{3b}$ ) environ quatre fois supérieur à l'étalement dans le milieu poreux ( $ED_{3p}$ ). Les premiers temps d'arrivée résultent alors de l'action combinée des vitesses locales dans le milieu poreux et de la dispersion dans le milieu biofilm. Si l'on teste une configuration différente en échangeant simplement les dispersions entre les milieux poreux/biofilm (ce qui revient à un milieu poreux caractérisé par une phase fluide vélocité et une forte hétérogénéité des vitesses et un milieu biofilm lent et statistiquement homogène), le



comportement macroscopique est identique et les paramètres de calage inchangés. En conséquence, en raison de l'échange instantané, le biofilm encaisse finalement la forte variabilité des vitesses (effet de chenalisation d'une part et zone quasi-stagnante d'autre part). La simple prise en compte du rapport de vitesses ne permet donc pas de redonner un sens physique « milieu homogène » à l'ensemble concassé/biofilm considéré. Notons cependant que ce modèle permet de résoudre le problème réactif.

	Hypothèse LEA				Hypothèse NEA			
	0,9		0,7		0,9		0,7	
Essai	C	G	C	G	C	G	C	G
$Q_p/Q_T$								
Q (L.h <sup>-1</sup> )	12,1	40,1	12,1	40,1	12,1	40,1	12,1	40,1
$u_{3p}$ (m.s <sup>-1</sup> )	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$7,2 \cdot 10^{-3}$	$9,4 \cdot 10^{-4}$	$5,6 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$7,2 \cdot 10^{-3}$	$9,4 \cdot 10^{-4}$	$5,6 \cdot 10^{-3}$
$D_{3p}$ (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	$4,7 \cdot 10^{-5}$	$2,7 \cdot 10^{-4}$	$3,7 \cdot 10^{-5}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$	$4,7 \cdot 10^{-5}$	$2,7 \cdot 10^{-4}$	$3,7 \cdot 10^{-5}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
$\alpha_{3p}$ (m)	0,038	0,038	0,038	0,038	0,038	0,038	0,038	0,038
$\theta_p$ (%)	14	8	14	8	14	8	14	8
$\gamma_3$ (s <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	$8,2 \cdot 10^{-5}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$4,1 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-4}$
$u_{3b}$ (m.s <sup>-1</sup> )	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$5,8 \cdot 10^{-4}$	$4,7 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$5,8 \cdot 10^{-4}$	$4,7 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$
$D_{3b}$ (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	$5,6 \cdot 10^{-4}$	$3,8 \cdot 10^{-3}$	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$4,3 \cdot 10^{-3}$	$2,9 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-3}$
$\alpha_{3b}$ (m)	3,5	6,5	1,3	2,5	0,18	0,18	1,1	2
$\theta_b$ (%)	12	11	12	11	12	11	12	11
$Pe_{3p}$	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1
$Pe_{3b}$	0,3	0,2	0,9	0,5	7	6,5	1,1	0,6
ED3p	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02
ED3b	0,07	0,07	0,08	0,08	0,01	0,02	0,07	0,08
Da2	-	-	-	-	0,08	0,03	0,51	0,19
Da3	-	-	-	-	487	500	43	46
RMS	0,026	0,043	0,025	0,042	0,025	0,046	0,026	0,041
Réaction	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui

Tableau 27 : Modèle M3, paramètres de transport obtenus par simulation des courbes TP avec un échange interphase LEA ou NEA pour différents rapports de flux.

Si l'échange cinétique interphase et la dichotomie du champ de vitesses considérés de manière indépendante ne permettent pas d'homogénéiser le milieu correctement tout en lui conférant les propriétés réactives appropriées, la combinaison des deux processus mérite d'être évaluée.

C'est l'objet du modèle M3\_NEA.

Si l'on s'attache uniquement au transport, un rapport de flux  $Q_p/Q_T$  de 0,9 permet d'obtenir des champs de vitesses tranchés ( $u_p \approx 10u_b$ ) où les vitesses s'approchent de leur sens premier de vitesses moyennes d'écoulement ( $Pe_3 > 5$ ). Dans ces cas là, les vitesses d'écoulement dans le milieu poreux et

les valeurs de  $\gamma_3$  sont telles que le Damköhler2 devient inférieur à 0,1 auquel se combinent des Damköhler3 élevés de l'ordre de 500. La configuration est équivalente à celle détaillée pour l'étude de sensibilité à savoir que les temps d'échange interphase et les vitesses d'écoulement dans le poreux deviennent limitants vis-à-vis de la réaction. Le modèle ne peut alors plus répondre à la partie réactive du système. Lorsque le rapport de flux est diminué à 0,7, la différence de vitesse entre les deux milieux s'estompe ( $u_p \approx 2-3u_b$ ). Le Da2 augmente alors par l'action conjointe d'une diminution de la vitesse  $u_p$  et de l'augmentation du coefficient  $\gamma$ . L'augmentation de  $\gamma$  permet aussi de faire diminuer le Da3. D'autre part, le flux massique imposé en entrée du milieu biofilm dénitrifiant est plus important que pour un rapport de flux de 0,9. En conséquence, la configuration M3\_NEA\_0,7 permet une résolution du problème réactif. En revanche, les Péclet3 montrent des valeurs faibles, quasi-identiques aux valeurs LEA\_0,7 (Figure 72). On pourrait croire que ce résultat est le fait de la faible sensibilité du modèle au coefficient d'échange dans la résolution du transport TP (le modèle étant plus sensible à la dispersion  $D_{3b}$ ). Cependant, des tests cherchant à privilégier le coefficient d'échange lors de la résolution du transport TP ne permettent pas d'obtenir de solution avec de faibles dispersions. Le problème d'homogénéisation dans cette configuration réside dans la masse transitant dans le milieu biofilm trop importante générant suffisamment de temps longs associée à des vitesses apparentes d'écoulement insuffisamment contrastées entre les phases fluides du poreux et du biofilm.

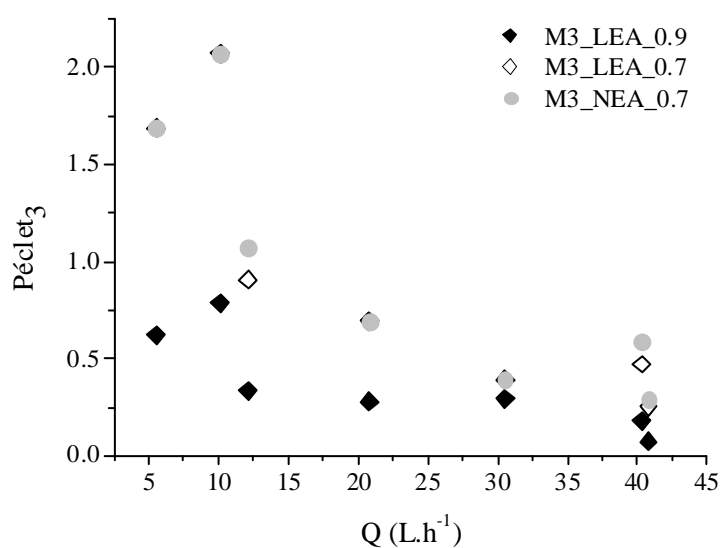


Figure 72 : Nombres de Péclet obtenus lors du calage des courbes TP à l'aide du modèle M3. M3\_LEA représente l'échange instantané auquel est indexé le rapport de flux utilisé. M3\_NEA représente l'échange cinétique auquel est indexé le rapport de flux utilisé. Pour ce dernier cas, le rapport 0,9 n'est pas reporté car les paramètres de transport ne permettent pas une résolution ultérieure de la réaction de dénitrification.

### 3.3.2.3 Cinétiques de dénitrification

Parmi les six configurations de transport réactif testées, quatre permettent la résolution du transport des nitrates et de leur dégradation au sein des colonnes (M1 / M3\_LEA\_0,7 / M3\_LEA\_0,9 / M3\_NEA\_0,7). La partie suivante s'attache à présenter les valeurs scalaires de cinétiques macroscopiques simulées. Les résultats sont discutés autour de deux points principaux qui sont la variabilité des valeurs inter-modèle et la variabilité des valeurs intra-modèle (variabilité entre les différents essais)

Quel que soit le modèle considéré, une cinétique d'ordre 1 et une cinétique d'ordre 0 permettent toutes deux un calage correct des courbes de restitution illustré au travers des simulations des essais C et G (Figure 73ab). L'erreur sur le bilan de masse est toujours inférieure ou égale à 7% (Tableau 28). Cependant, dans le contexte de réaction catalytique qui caractérise le processus de dénitrification, i.e. dans un contexte où la cinétique dépend de la concentration en nitrates (concentrations minimales nécessaires à l'induction des enzymes et concentrations élevées pouvant générer une inhibition du processus) et de facteurs extérieurs tels que les concentrations en substrat, nutriments, oxygène dissous ou les propriétés du biofilm (densité, épaisseur etc.), une réaction d'ordre 0, i.e. une réaction indépendante de la concentration, va à l'encontre de la nature même du processus. Afin de conserver cette notion de dépendance à la concentration, le choix est fait de conduire le raisonnement sur la base des résultats obtenus avec une cinétique d'ordre 1 (Tableau 29). Les résultats des simulations obtenus avec une cinétique d'ordre 0 sont reportés en annexe 9.

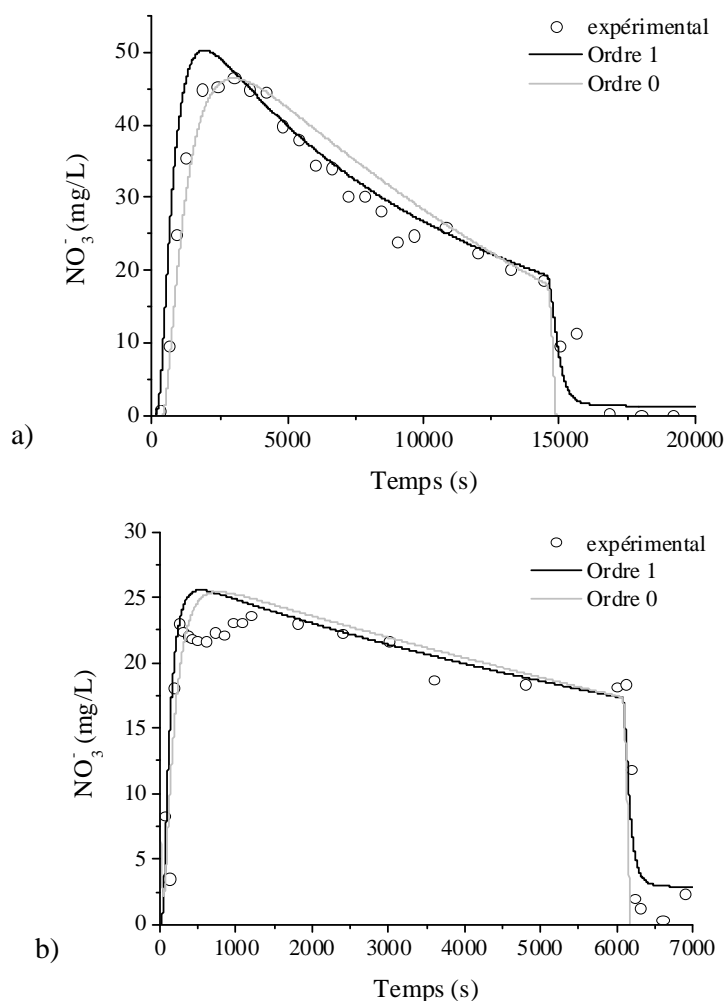


Figure 73 : Exemple du modèle M1 : simulations des courbes TR à l'aide d'une cinétique d'ordre 1 ou d'une cinétique d'ordre 0 pour a) l'essai C et b) l'essai G. Les deux cas expérimentaux présentés témoignent d'une cinétique croissante au palier de concentration, cf. § 3.3.1.2.2. On rappelle que lors de ces simulations, les paramètres de transport utilisés sont identiques à ceux ayant permis de simuler les courbes de restitution de transport passif.

Essai	Ordre 1	Ordre 0
A	2%	4%
B	2%	7%
C	5%	3%
D	2%	5%
E	2%	4%
F	2%	2%
G	3%	4%

Tableau 28 : Variations relatives calculées sur les masses restituées simulées et les masses restituées expérimentales dans le cas de l'utilisation d'une cinétique d'ordre 1 et dans le cas d'une cinétique d'ordre 0.

### 3.3.2.3.1 Cinétiques macroscopiques : variabilité inter-modèle

Si l'on compare les cinétiques simulées d'un modèle à l'autre, les variations inter-essais sont identiques mais les valeurs vont croissantes du modèle le plus simple au modèle le plus complexe: les plus faibles sont celles du modèle M1, les valeurs intermédiaires celles du modèle M3\_LEA et les plus fortes celles du modèle M3\_NEA (Figure 74). Pour un même essai, les différences inter-modèles n'excèdent cependant jamais l'ordre de grandeur (Tableau 29).

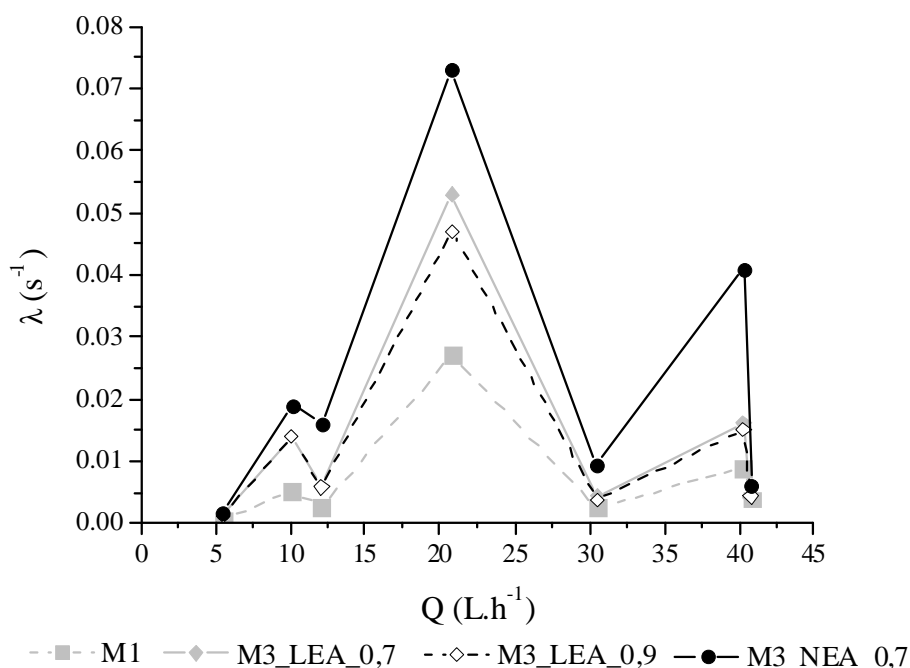


Figure 74 : Evolutions inter- modèles des valeurs de cinétique. (( $\lambda$ ) M1 < ( $\lambda$ ) M3\_LEA < ( $\lambda$ ) M3\_NEA)

Si l'on compare en premier lieu les résultats du modèle M1 à ceux du modèle M3\_LEA, le rapport des valeurs de cinétique M3\_LEA/M1 se situe entre 1,2 et 2,8 (Tableau 29). Cette variation modérée en contexte d'écoulement et pour des modèles conceptuellement différents est justifiée de la manière suivante : le modèle M3\_LEA essaie de séparer en deux milieux (temps longs vs. temps courts) le systèmeensemencé. Les temps longs seraient ceux du transfert dans une phase biofilm dense, les temps courts ceux du transfert dans le milieu poreux nonensemencé. La réalité est telle que pour la paramétrisation imposée, le modèle M3 ne peut être calé autrement qu'avec une très forte dispersion du milieu biofilm. L'échange entre milieu biofilm et milieu poreux étant instantané, la dispersion forte du milieu biofilm s'étend 'instantanément' au milieu poreux. *In fine*, malgré la dichotomie opérée, le modèle M3\_LEA a un comportement dynamique proche du modèle M1. A cela, on ajoutera que la dichotomie temps courts/ temps longs n'est véritablement franche qu'avec un rapport de flux de 0,9. Dans le cas d'un rapport de 0,7, le distinguo temps courts/temps longs est bien moins clair et de

manière générale les temps convectifs passés dans le système diffèrent peu de ceux du modèle M1 (Tableau 30). Pour ces raisons, il est logique que les cinétiques de dénitrification entre le modèle M3\_LEA et le modèle M1 soient du même ordre de grandeur. La variation moyenne de cinétique calculée entre les deux modèles résulte d'effet de la dispersion associée au milieu biofilm, dispersion en moyenne 1,5 fois plus forte que celle calculée avec le modèle M1. La dispersion affecte d'une part la distribution des temps de séjour dans le milieu dénitrifiant et d'autre part, les concentrations moyennes à dégrader dans la phase biofilm. La valeur de cinétique d'ordre 1 étant dépendante à la fois de la concentration moyenne 'rencontrée' et du temps, on comprendra que pour une même dégradation macroscopique attendue, la cinétique puisse être modifiée par des variations de dispersion.

	A	B	C	D	E	F	G
M1	$4,3.10^{-4}$	$5,2.10^{-3}$	$2,7.10^{-3}$	$2,7.10^{-2}$	$2,5.10^{-3}$	$3,9.10^{-3}$	$9.10^{-3}$
M3_LEA_0,7	$1,1.10^{-3}$	$1,4.10^{-2}$	$6.10^{-3}$	$5,3.10^{-2}$	$4,3.10^{-3}$	$4,2.10^{-3}$	$1,6.10^{-2}$
M3_LEA_0,9	$1,2.10^{-3}$	$1,4.10^{-2}$	$5,8.10^{-3}$	$4,7.10^{-2}$	$3,8.10^{-3}$	$4,3.10^{-3}$	$1,5.10^{-2}$
M3_NEA_0,7	$1,7.10^{-3}$	$1,9.10^{-2}$	$1,6.10^{-2}$	$7,3.10^{-2}$	$9,5.10^{-3}$	$6,2.10^{-3}$	$4,1.10^{-2}$

Tableau 29 : Essai TR : Cinétiques d'ordre 1 simulées avec les différents modèles. Les valeurs sont données en  $s^{-1}$ .

Si l'on compare maintenant les résultats du modèle M3\_LEA\_0,7 à ceux du modèle M3\_NEA\_0,7, le rapport des valeurs de cinétique M3\_LEA/M3\_NEA se situe entre 1,3 et 2,6 alors que les temps caractéristiques de transport et les dispersions associées à chaque phase sont comparables (Tableau 30). Dans la configuration M3\_NEA, la cinétique d'échange entre les deux milieux constitue un « frein » au transfert de masse favorisant ainsi les temps de transport plus courts dans le milieu poreux. Le temps passé dans la phase biofilm étant alors plus court, il faut donc augmenter les valeurs de cinétiques pour pouvoir dégrader la même quantité de nitrates.

	A	B	C	D	E	F	G
<b>M1</b>							
$t_l$	4111	908	1595	454	369	210	351
$\sigma_t$	2797	699	1393	469	429	406	383
<b>M3_LEA_0,7</b>							
$t_p$	3688	843	1229	311	211	54	215
$\sigma_{tp}$	936	214	319	79	53	14	54
$t_b$	5130	983	2458	738	738	562	694
$\sigma_{tb}$	5588	967	3727	1252	1663	1586	1429
$D_b/D_1$	2,1	1,5	1,8	1,7	1,9	0,8	1,8
<b>M3_LEA_0,9</b>							
$t_p$	2878	663	983	241	164	41	166
$\sigma_{tp}$	730	168	250	61	42	10	42
$t_b$	15325	2980	7375	2185	2226	1662	2070
$\sigma_{tb}$	27501	4751	17963	5830	8198	8655	6871
$D_b/D_1$	1,9	1,3	1,7	1,4	1,7	0,9	1,6
<b>M3_NEA_0,7</b>							
$t_p$	3688	843	1229	311	211	54	215
$\sigma_{tp}$	936	214	319	79	53	14	54
$t_b$	5130	983	2458	738	738	562	694
$\sigma_{tb}$	5588	967	3356	1252	1663	1463	1278
$t_{interphase}$	5000	1111	2433	454	2500	1000	1111
$D_b/D_1$	2,1	1,5	1,6	1,7	1,9	0,7	1,4

Tableau 30 : Temps par convection et étalement des temps ( $t_p$ ,  $\sigma_{tp}$  pour le milieu poreux,  $t_b$ ,  $\sigma_{tb}$  pour le milieu biofilm), temps d'échange interphase  $t_{interphase}$  et rapport de dispersion entre celle simulée pour le milieu biofilm et celle simulée avec le modèle M1. Tous les temps sont donnés en seconde.

Finalement, l'observation des valeurs de cinétiques d'un modèle à l'autre indique qu'en raison de milieux réactifs extrêmement dispersifs, les valeurs pour un même essai ne sont pas véritablement 'temps caractéristiques-dépendantes', les dispersions élevées étalant fortement les temps de séjour autour des temps caractéristiques (i.e. les temps convectifs). Le temps moyen passé dans le milieu a moins d'incidence que la distribution des temps. Cette dispersion conditionne en retour les valeurs de cinétiques de dénitrification. Dit autrement, si les milieux étaient essentiellement convectifs, on aurait entre modèles, des temps caractéristiques contrastés qui n'auraient pas la même incidence sur la dégradation. Pour une même perte de masse, un temps de séjour plus court supposerait une dégradation rapide tandis qu'un temps de séjour plus long supposerait une dégradation plus lente.

### 3.3.2.3.2 Cinétique macroscopique : variabilité intra-modèle

Quel que soit le modèle considéré, la variabilité intra-modèle (ou inter-essai, i.e. essai A vs. essai B vs. essai C etc.) est importante. Elle se traduit par des écarts-types de valeur comparable aux moyennes donnant des coefficients de variation compris entre 1,1 et 1,3 (Tableau 31). En raison du caractère dispersif commun aux quatre configurations de modélisation testées, cette variabilité n'est pas atténuée par la dichotomie opérée sur l'ensemble concassé/biofilm. Elle présente de plus une évolution en fonction du débit identique quel que soit le modèle considéré (Figure 74). En conséquence, l'évolution des valeurs en fonction du débit et les coefficients de variation inter-modèles étant similaires, la discussion sur l'origine possible de la variabilité intra-modèle peut être menée sur la base des résultats d'une seule configuration de modélisation. Dans le cas présent, les résultats discutés sont ceux du modèle simple continuum M1.

	Moyenne (s <sup>-1</sup> )	Ecart type (s <sup>-1</sup> )	CV
M1	7,2.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-3</sup>	1,3
M3_LEA_0,7	1,4.10 <sup>-2</sup>	1,8.10 <sup>-2</sup>	1,3
M3_LEA_0,9	1,3.10 <sup>-2</sup>	1,6.10 <sup>-2</sup>	1,2
M3_NEA_0,7	2,4.10 <sup>-2</sup>	2,5.10 <sup>-2</sup>	1,1

Tableau 31 : Valeur moyenne de cinétique et coefficient de variation CV calculés par modèle. Le coefficient de variation est égal au rapport de l'écart-type sur la moyenne.

Pour mémoire, les valeurs de cinétiques pour la configuration M1 s'échelonnent sur approximativement un ordre et demi de grandeur ( $4,3.10^{-4}$  à  $2,7.10^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Afin de juger plus aisément de la tendance que suivent les données, le *damköhler*1 (Da1) est reporté en fonction du temps par convection  $t_1$  (Figure 75). On rappelle que pour une cinétique constante indépendante de facteurs extérieurs (hydrodynamique, conditions physico-chimique, biomasse, réactivité et accessibilité au biofilm), le Da1 (temps convectif/temps réactif) augmente linéairement avec l'augmentation du temps de séjour moyen dans le milieu. Dans le cas présent, si une tendance croissante semble se détacher au regard des essais B, C, E, F et G, les essais A et D ne se placent pas dans cette évolution. Ces deux essais sont respectivement associés aux bornes inférieure et supérieure des valeurs de cinétique (A :  $4,3.10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , D :  $2,7.10^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).



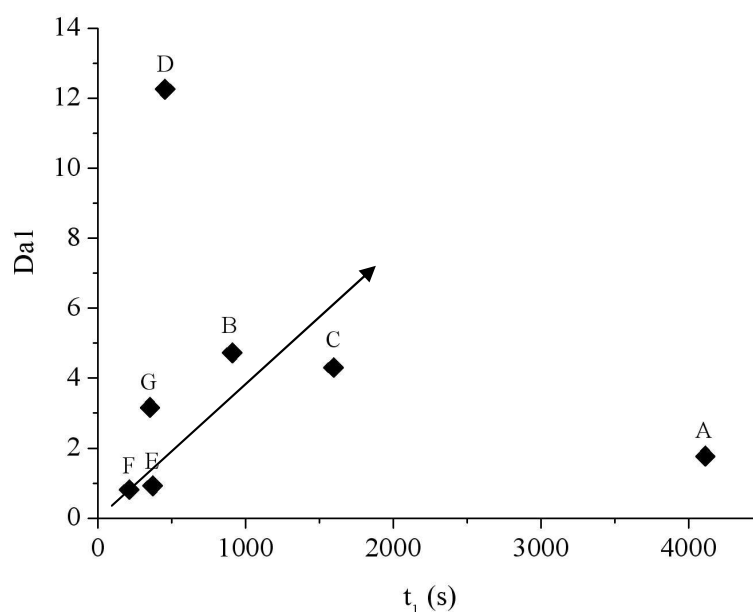


Figure 75 : Variabilité des valeurs de cinétiques intra-modèle vue au travers du Damkolher1 en fonction du temps par convection  $t_1$ .

Le traçage TR associé à l'essai A est le seul à être conduit à une concentration d'injection de 600  $\text{mgNO}_3^-/\text{L}$ , concentration six fois supérieure à la concentration moyenne d'injection des autres essais et différant notablement de la concentration moyenne appliquée lors de la phase 1 (phase de mise en régime du processus de dénitrification,  $C_{\text{moy}} \approx 150 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ , essai A, Tableau 14). Si l'on simule en lieu et place du traçage TR expérimental, un traçage TR 'artificiel' dont les paramètres de transport sont ceux du traçage TP et pour lequel la concentration d'injection et le rendement de dénitrification sont ceux mesurés en fin de phase 1 ( $[\text{NO}_3^-] = 131 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ ,  $\text{RDT}=100\%$ ), la cinétique simulée est de  $4 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , comparable à celle des essais B, C, E, F et G. Cette simulation relève l'influence de la concentration d'injection sur la valeur de cinétique. Le fait que la valeur de cinétique soit d'un ordre de grandeur inférieure à la moyenne peut alors résulter de deux mécanismes actant simultanément. D'un côté, l'injection brutale d'une concentration forte en nitrates à laquelle le biofilm n'est pas « habitué » peut générer une déstabilisation de ce dernier incluant des processus d'inhibition vis-à-vis de la dénitrification. D'un autre côté, une cinétique plus faible peut être la traduction numérique de l'approximation d'ordre 1 d'une cinétique non linéaire. Comme relevé par Bekins et al. (1998), l'approximation du premier ordre lorsque la concentration ne respecte pas  $C_N \ll K_N$  est possible lorsqu'elle se cantonne à une gamme de concentrations restreinte. Il est donc possible que pour l'essai A, la cinétique d'ordre 1 simulée ne soit tout simplement pas comparable à celle des autres essais car caractéristique d'une gamme de concentrations plus élevées. En reprenant l'écriture de la cinétique de Monod modifiée (relation (54)) on constate effectivement que l'approximation par une cinétique

d'ordre 1 diminue la valeur de  $\lambda$  si la concentration  $C_N$  augmente. Pour des concentrations élevées,  $\lambda$  est donc plus faible.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\lambda C_N$$

avec

$$\lambda = \left( \frac{\mu_{\max} X}{Y(K_N + C_N)} \right) \quad (54)$$

Si l'on s'intéresse maintenant à l'essai D, on remarque que la valeur élevée de cinétique ( $\lambda = 0,027$ ) ne résulte pas d'un effet de concentration puisque la concentration d'injection employée (86 mg/L) est quasi-identique à celle des essais E et G, essais qui ne témoignent pas d'une cinétique aussi forte. Le Tableau 32 démontre que la température de l'eau lors du traçage ne diffère pas des autres essais et qu'en conséquence la cinétique élevée ne résulte pas d'un biofilm plus actif stimulé par une température supérieure. Sur la base de ces constats, il semble que la cinétique élevée de l'essai D reflète une réactivité différente de celle des autres essais (en raison de caractéristiques structurales et/ou microbiologiques du biofilm particulières), singularité déjà évoquée lors de la description des performances de dénitrification en phase 1. Pour cette raison, cette valeur de cinétique est écartée.

	T (°C)
A	12 ± 2
B	14 ± 1
C	14 ± 1
D	14 ± 1
E	13 ± 0
F	13 ± 1
G	14 ± 1

Tableau 32: Température moyenne de l'eau lors des essais TR. La température moyenne est calculée sur le temps de l'essai sur la base des données des capteurs de température entrée/sortie.

En s'affranchissant des essais A et D, le Tableau 33 indique que les coefficients de variation sont deux fois plus faibles que lorsque l'on considère l'ensemble des essais. Donc, pour cinq essais conduits sur une gamme de concentrations 80-200 mg/L pour des conditions physico-chimiques comparables, les cinétiques sont évaluées à un demi ordre de grandeur près. Il est alors possible d'avancer une valeur moyenne de cinétique indépendante du temps de séjour dans le milieu. Les oscillations autour de cette moyenne sont le fait de modifications temporaires de la réactivité du biofilm potentiellement engendrée par la méthodologie (phase de carence), une certaine variabilité de la structure du biofilm ou une augmentation temporaire d'efficacité dénitrifiante (oscillations observées en phase 1, Figure

44). Elles peuvent aussi résulter d'erreurs dans le calage des paramètres de transport et notamment d'une erreur sur la porosité à laquelle le modèle réactif est particulièrement sensible (Cf. 3.3.2.1). Cette erreur proviendrait de modifications des propriétés hydrodispersives du milieu entre le traçage TR et le traçage TP. Ce biais est notamment suggéré par des modifications de conductivité hydraulique pour l'essai C (Tableau 16).

	Moyenne (s <sup>-1</sup> )	Ecart-type (s <sup>-1</sup> )	CV
M1	5.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	0,6
M3_LEA_0,7	9.10 <sup>-3</sup>	6.10 <sup>-3</sup>	0,6
M3_LEA_0,9	9.10 <sup>-3</sup>	5.10 <sup>-3</sup>	0,6
M3_NEA_0,7	1,8.10 <sup>-2</sup>	1,4.10 <sup>-2</sup>	0,8

Tableau 33 : Diminution de la valeur moyenne de cinétique  $\langle \lambda \rangle$ , de l'écart type et du coefficient de variation CV après élimination des essais A et D.

Alors que l'augmentation du débit engendre une augmentation des flux massiques imposés et des vitesses locales susceptibles de générer des biofilms de propriétés structurales différentes (épaisseur, densité, rugosité etc.) et une modification du transfert de masse fluide/biofilm, on aurait pu s'attendre à ce que la cinétique de dénitrification témoigne de l'influence de ces variations. On aurait par exemple pu s'attendre à une augmentation de la réactivité macroscopique du système lorsque la vitesse augmente parce que le transfert de masse de la phase fluide au biofilm est favorisé à l'échelle du pore (de Beer et al., 1996; Dykaar and Kitanidis, 1996). De la même manière, la réactivité du système aurait pu être supérieure aux plus forts débits en raison de l'augmentation conjointe de l'épaisseur du biofilm et du nombre de bactéries créant ainsi un volume réactionnel plus important. A l'inverse, l'augmentation de l'épaisseur et du nombre de bactéries auraient pu engendrer une baisse de la réactivité du système en raison d'une limitation de la pénétration des solutés dans le biofilm par des problèmes de diffusion engendrés par une densité bactérienne trop importante générant alors une zone non active de bactéries dans la partie basale du biofilm (Seker et al., 1995). Ce mécanisme avait d'ailleurs été suggéré pour les essais B et F pour lesquels des baisses de performances dénitrifiantes avaient été observées.

Au regard des valeurs de cinétiques obtenues, si de tels processus ont lieu à l'échelle microscopique, leurs effets antagonistes font qu'à l'échelle macroscopique aucune tendance ne se détache en fonction de la vitesse ou de la quantité de bactéries dans le système. Pour le système étudié et les modèles utilisés se caractérisant par une composante fortement dispersive, la cinétique macroscopique est indépendante des caractéristiques structurales du biofilm et des vitesses d'écoulement. La quantité de

nitrate réduits est une fonction principale du temps de séjour et de l'étalement de ces temps dans le milieu, i.e. des vitesses locales du soluté.

### 3.3.3 Conclusion

La formation d'un biofilm dénitrifiant à la surface du concassé calcaire modifie les propriétés hydrodynamiques du milieu initial. La comparaison des courbes de restitution obtenues par traçage passif TP aux courbes de référence pour un milieu nonensemencé indique une diminution de la porosité et des anomalies de dispersion. Ces observations concordent avec les baisses de conductivités hydrauliques mesurées et l'observation visuelle d'un système chenalisé sur les parois des colonnes. Les propriétés initiales du milieu n'ayant plus cours, trois vues conceptuelles de l'ensemble concassé/biofilm sont proposées pour simuler les courbes de restitution des traçages passif et réactif :

- 1- Modèle M1 : un simple milieu réactif et fortement dispersif.
- 2- Modèle M2 : un double milieu avec une phase fluide vélocé dans un milieu poreux convecto-dispersif nonensemencé (i.e. un milieu non dénitrifiant aux caractéristiques hydrodispersives comparables à celles du milieu initial) et une phase fluide stagnante dans le milieu biofilm dénitrifiant.
- 3- Modèle M3 : un double milieu comparable au modèle M2 mais pour lequel la phase fluide attachée au biofilm dénitrifiant est mobile mais plus lente que celle du milieu poreux.

Pour le modèle M2, l'échange interphase est de type cinétique (NEA). Pour le modèle M3, l'échange interphase est soit instantané (LEA) soit cinétique (NEA). Deux rapports de flux (flux poreux/flux total) permettant de respecter la dichotomie phase fluide vélocé / phase fluide lente sont étudiés, pour un rapport de flux de 0,9 on note M3\_0,9, pour un rapport de flux de 0,7 on note M3\_0,7.

Les simulations reposent sur deux traçages avec injection en créneau réalisés successivement. Le traçage passif TP permet de caler les paramètres de transport. Le traçage réactif TR permet de déterminer la cinétique de dénitrification en s'affranchissant du problème de transport grâce aux paramètres prédéfinis par la simulation TP. La cinétique non linéaire qui décrit classiquement la réaction de catalyse enzymatique de dénitrification biologique est approximée par une cinétique d'ordre 1.

Les modifications de propriétés hydrodynamiques vues au travers du modèle simple continuum (M1) se traduisent par une réduction conséquente de la porosité apparente (de 25 à 73% en relatif) et de fortes dispersions traduisant une importante hétérogénéité des vitesses locales ( $Pe < 5$ ). La description de cette hétérogénéité au travers des modèles double-continuum (M2 et M3) permet un calage correct des courbes de transport TP. Cependant, en respectant les contraintes de calage imposées, les simulations menées avec les modèles M3\_LEA conduisent à l'obtention de dispersions anormalement élevées dans le milieu biofilm ( $Pe_b < 5$ ) traduisant un milieu géométriquement plus complexe qu'un simple poreux. En raison de l'échange instantané, le biofilm encaisse finalement la forte variabilité des

vitesse (effet de chenalisation d'une part et zone quasi-stagnante d'autre part). Pour la configuration M3\_NEA\_70, on obtient aussi des Péclet faibles et ce en dépit d'un échange cinétique entre les deux milieux sensé générer des temps longs. Pour les contraintes de porosités et de flux imposées, le caractère dispersif du biofilm résulte d'un flux massique imposé trop important et d'un manque de contraste entre les vitesses moyennes caractéristiques de chaque milieu.

En termes de transport réactif dénitrifiant, les modèles et configurations fortement dispersifs M1, M3\_LEA et M3\_NEA\_0,7 permettent de caler les courbes de restitution obtenues. Pour espérer résoudre le transport et la réaction avec le modèle M3 tout en conférant un sens milieu homogène au poreux et au biofilm, d'autres configurations de modélisation mériteraient d'être testées. En modifiant les contraintes de calage et notamment celles portant sur la fraction volumique allouée au milieu poreux, on pourrait par exemple conserver un fort contraste de vitesse entre les deux milieux (poreux/biofilm) tout en imposant un flux massique initial important dans le milieu biofilm dénitrifiant.

Les modèles M2 et M3\_NEA\_0,9 qui calent le transport pour des valeurs scalaires de paramètres en accord avec le concept attaché au modèle, i.e. un système chenalisé avec zones stagnantes pour M2 et un système double milieux homogènes affecté par un échange cinétique pour M3\_NEA\_0,9, ne permettent pas de résoudre la partie réactive du problème. Dans la configuration imposée (milieu biofilm seul siège de la dénitrification) et au regard des masses dénitrifiées, cet échec est engendré par une trop faible masse de soluté amenée à transiter dans le milieu dénitrifiant, i.e. le biofilm. En considérant que ces deux modèles sont corrects quant à la description hydrodispersive du milieu, le biais sur la résolution du problème réactif provient de la contrainte imposée sur la réaction, à savoir que le milieu biofilm est le seul siège de la dénitrification. Si les deux milieux étaient considérés comme réactifs, le problème pourrait probablement être résolu avec, cependant, une inconnue supplémentaire concernant l'intensité de la réaction dans chacun des milieux (i.e. la réactivité doit-elle être décrite par une seule et même valeur de cinétique ou par des valeurs différentes). Le Tableau 34 synthétise les configurations ayant permis de simuler les courbes de traçages pour du transport passif et du transport réactif.

Résolution du transport réactif	
NON (résolution TP uniquement)	OUI (résolution TP et TR)
M2 M3_NEA_0,9	M1 M3_LEA_0,7 M3_LEA_0,9 M3_NEA_0,7

Tableau 34 : Synthèse des configurations ayant permis de résoudre à la fois le problème de transport ET le problème de réaction.

La variabilité inter modèle des valeurs de cinétique simulées s'exprime pour un même essai considéré, i.e. un même débit, au travers de valeurs croissantes du modèle M1 au modèle M3\_LEA et du modèle M3\_LEA au modèle M3\_NEA\_0,7. La variation maximum des valeurs (entre M1 et M3\_NEA\_0,7) n'atteint cependant pas l'ordre de grandeur. L'étude des temps moyens de séjour caractéristiques et de l'étalement de ces temps pour chaque milieu dans les configurations M3 montrent que les valeurs de cinétiques sont sensibles à l'étalement des temps plus qu'au temps caractéristique du milieu dénitrifiant (le milieu biofilm). Les valeurs pour un même essai ne sont pas véritablement 'temps caractéristiques-dépendantes', les dispersions élevées étalant fortement les temps de séjour autour des temps caractéristiques (i.e. les temps convectifs). Dans le cas du modèle M3\_NEA, les valeurs sont aussi fonction du temps de transfert entre les deux milieux.

Si l'on s'affranchit de l'essai A réalisé à une concentration d'injection non comparable aux autres essais et de l'essai D dont la réactivité singulière avait déjà été évoquée lors du traitement des résultats de la phase 1, la variabilité intra modèle des valeurs de cinétique est comparable d'un modèle à l'autre ( $0,6 < CV < 0,8$ ). Alors que l'augmentation du débit engendre une augmentation des vitesses locales et des flux massiques imposés susceptibles de générer des biofilms de propriétés structurales (épaisseur, densité bactérienne, rugosité) et réactives (modifications du transfert de masse entre la phase fluide et le biofilm) différentes, les valeurs de cinétique ne suivent aucune tendance fonction du débit. Pour la gamme de débits et de vitesses testée, la cinétique est indépendante des variations structurales du biofilm et de l'augmentation des vitesses d'écoulement. Les paramètres clés définissant alors la quantité de nitrates pouvant être dégradée sont le temps de séjour moyen et la distribution des temps de séjour dans le milieu traversé. Pour des vitesses initiales dans le milieu comprises entre  $10^{-4}$  et  $10^{-3}$  m.s<sup>-1</sup> le biofilm est en mesure de s'installer et de ce maintenir à des vitesses pouvant atteindre  $5.10^{-2}$  m.s<sup>-1</sup> (vitesse mesurée au pic pour l'essai F pour un milieuensemencé). Dans un contexte fortement dispersif, la cinétique macroscopique d'ordre 1 si le milieu est considéré comme un simple continuum est en moyenne de  $5.10^{-3}$  s<sup>-1</sup>. Pour un milieu dichotomisé selon le concept et la paramétrisation du

modèle M3\_LEA, la cinétique macroscopique d'ordre 1 est en moyenne de  $9.10^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Pour un milieu dichotomisé selon le concept et la paramétrisation du modèle M3\_NEA\_0,7, la cinétique macroscopique d'ordre 1 est en moyenne de  $1,8.10^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

*In situ*, si le transport entre deux forages témoigne d'écoulement chenalisé et d'une distribution des temps étalée comme observés sur les doublets testés (cf. §2.3), il semble que le concept attaché au modèle M3 soit le plus à même de se transposer à l'hydrodynamique du site. De la même manière qu'en présence du biofilm, il est fort probable qu'une dichotomie milieu à écoulement rapide vs. milieu à écoulement plus lent soit une transcription macroscopique assez fidèle de la réalité (les processus de diffusion dans la matrice étant négligeables au regard des temps de transport). Ce n'est pas pour autant qu'un modèle plus simple tel que le modèle M2 (chenaux vs. zones stagnantes) ne sera pas en mesure de simuler les courbes correctement. D'autre part, il est fort probable que les cinétiques de dégradation restent invariantes en fonction des conditions hydrodynamiques tant que les gammes de vitesses restent comparables à celles testées ( $10^{-4}$  et  $10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ ). Ce qui risque d'affecter les cinétiques à l'échelle du site mais qui n'est pas appréhendable sur un pilote de laboratoire est l'hétérogénéité structurale de l'aquifère qui, au travers des surfaces volumiques de chaque compartiment (chenaux/ fractures/ matrice) offertes à la colonisation va ségréger des zones au potentiel dénitrifiant variable. De fait, les cinétiques macroscopiques pourraient être influencées par la distribution des temps de séjour dans ces différents compartiments, i.e. par la macrodispersion du système entre le puits d'injection et le puits de pompage.



## 4 Conclusions & perspectives

### 4.1 Conclusions et implications en vue de la réalisation d'un pilote de dénitrification *in situ* en contexte fracturé

La contamination des eaux souterraines par les nitrates implique des traitements spécifiques pour la production d'eau potable. La possibilité de créer des unités de dénitrification biologique *in situ*, i.e. au sein même de l'aquifère, pourrait constituer une solution économique prometteuse. D'une part, la mise en œuvre d'une unité de traitement *in situ* nécessite de s'atteler à la connaissance du fonctionnement hydrodynamique et des caractéristiques bio-physico-chimiques des aquifères profonds hétérogènes qui constituent, à l'échelle de la région Poitou-Charentes, l'essentiel de la ressource dédiée à la production potable, et à l'échelle mondiale, le quart des ressources en eau. D'autre part, il faut disposer d'outils de modélisation nécessaires à la simulation numérique du processus de dénitrification. De fait, ce travail s'est focalisé sur 1- la connectivité des puits et des structures géologiques d'écoulement dans l'aquifère du Dogger, 2- les caractéristiques hydrochimiques des masses d'eau et du potentiel naturel dénitrifiant de l'aquifère et 3- les grandeurs cinétiques de dénitrification hétérotrophe en contexte dynamique déterminées sur la base de modèles homogénéisés. Ces trois points ont fait l'objet d'expérimentations *in situ* permises par la trentaine de forages du SEH et d'expérimentations *ex situ* en batch et sur colonnes.

#### 4.1.1 Connectivité des puits et des structures d'écoulement

**Les profils de température réalisés au sein des forages pour différentes conditions hydrodynamiques témoignent d'une composante verticale de l'écoulement au sein de l'aquifère.** Cette composante est omniprésente à l'échelle du site. En écoulement ambiant, 75 % des puits échantillonnés y sont sujets. Ces écoulements résultent de différences de charges entre les plans karstiques horizontaux mis en connexion par des fractures subverticales et les forages. La forte transmissivité des structures d'écoulement (chenaux, fractures) génère des vitesses de circulation élevées limitant alors la mise à l'équilibre de la température de l'eau avec l'encaissant. Ce trait propre au contexte géologique fracturé engendre des anomalies de signature thermique des arrivées d'eau dans les forages. **La température de l'eau est utilisée ici de manière originale comme un outil simple et économique pour tracer les écoulements. Elle fournit une information intégratrice de la géométrie des circulations au puits et autour du puits en apportant une information sur l'origine superficielle ou profonde des flux alimentant un plan karstique.** Par exemple, sur les puits M5, M2, M16 et P2, le plan profond (110-115 m) est alimenté dans l'environnement des puits par des eaux provenant des niveaux supérieurs. A l'inverse, la zone fracturée interceptée à 60-65 m par les puits M2 et M13 est en partie alimentée par des eaux équilibrées avec les niveaux plus profonds.

**Utilisés en condition forcée (pompage), les profils de température deviennent de précieux indicateurs des connexions préférentielles entre le niveau sollicité au puits pompé et les autres structures d'écoulement représentées dans la zone d'influence du pompage.** La détermination de ces connexions demande d'établir le gradient de charge relatif au sein des puits observés, i.e. le sens de l'écoulement entre les niveaux producteurs. En raison des anomalies de signature thermique, la comparaison des trois profils permet 1) de détecter les niveaux producteurs, 2) de juger du sens de l'écoulement et 3) d'évaluer le(s) niveau(x) en relation avec le puits pompé. Il a ainsi été établi qu'en pompage sur M7, le plan karstique situé à 88 m de profondeur est en connexion préférentielle avec les plans 30-40 m et 110-115 m ainsi qu'avec une zone fracturée située à 60-65 m de profondeur. Dans certains cas, une incertitude persiste quant à la détermination du gradient de charge relatif. Les données de température sont alors croisées avec des mesures de débitmétrie verticale (flowmétrie).

**En dépit de circulations inter-plan mises en évidence et qui tendent à augmenter les risques de fuite du soluté dans un réseau détourné, les traçages à la fluorescéine attestent que les pertes de soluté dans le milieu sont limitées.** Les taux de restitution obtenus s'échelonnent de 60 à 90 %. L'analyse statistique des courbes de restitution montre des contrastes de connectivité en fonction des puits d'injection. Sur les quatre traçages, un facteur 7 sur les temps moyens de séjour et un facteur 10 sur les variances des temps sont calculés indépendamment de la distance entre puits. Cette variabilité résulte très probablement de l'échantillonnage de structures aux propriétés hydrauliques différentes.

*Les connexions préférentielles entre plans karstiques de différentes profondeurs constituent une difficulté accrue au confinement de la zone de traitement. Ces connexions n'étant pas le seul artefact des forages mais bien le fait de relations naturelles engendrées par la présence de fractures subverticales, l'utilisation de packers pour contraindre le traitement sur une profondeur donnée pourrait se révéler infructueuse. Ces connexions possèdent cependant l'avantage d'être suffisamment développées pour limiter la perte d'un soluté injecté (substrats/effluents). Dans ce système à écoulements complexes, les risques de contamination involontaire de l'environnement du procédé de traitement sont donc faibles.*

#### 4.1.2 Caractéristiques hydrochimiques et potentiel naturel dénitrifiant de l'aquifère

Les analyses hydrochimiques menées au droit du SEH indiquent quatre provinces à la minéralisation décroissante. Les concentrations en nitrates varient ainsi de  $37 \pm 7$  mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  pour la province 1 à  $3 \pm 4$  mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  pour la province 4. La baisse des concentrations en nitrates est indépendante du sens d'écoulement régional de l'eau, de la présence de remplissages argileux riches en matière organique et pyrite et de la profondeur de circulation de l'eau. **L'étude des ratios  $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  et du rapport isotopique  $\delta^{15}\text{N}$  indique qu'à l'échelle du site, la dénitrification n'est a priori pas le**

**processus responsable des variations de concentrations en nitrates. Des processus de dilution entre masses d'eaux de concentrations caractéristiques différentes et l'action conjointe de la configuration hydrodynamique régionale (écoulement divergent) et des activités anthropiques susceptibles d'influencer les zones de recharge de la nappe semblent plus à même d'expliquer les résultats obtenus.** Après examen de l'occupation des sols sur le bassin d'alimentation potentiel de l'aquifère à l'amont du SEH, la zone caractérisée par les plus fortes concentrations en nitrates et en pesticides est influencée par un bassin à forte pression agricole.

*Pour la réalisation d'un pilote de dénitrification in situ, aucune zone ne semble suffisamment active pour soutenir naturellement la dénitrification d'un effluent nitraté ou favoriser l'initiation du processus. Le pilote de dénitrification doit faire appel à un substrat exogène pour la stimulation des bactéries dénitrifiantes. Dans le cas du traitement direct de la nappe, cibler la ressource à traiter demande de cerner le contexte d'écoulement à l'échelle du bassin d'alimentation de la zone pressentie. Plus que les écoulements locaux et verticaux au sein de l'aquifère, ce sont ces écoulements associés aux contextes d'activités anthropiques qui déterminent en partie les caractéristiques hydrochimiques de la nappe.*

**Les tests de dénitrification en batch menés sur du matériel colonisé au sein de l'aquifère démontrent la présence d'un pool bactérien dénitrifiant comprenant des espèces hétérotrophes et des espèces autotrophes.** L'absence d'activité dénitrifiante significative au droit du SEH n'est donc pas le fait des bactéries mais peut être la conséquence de conditions d'oxygénation limitantes ( $O_2 > 3$  mg/L pour deux des provinces) et de concentrations en carbone organique dissous trop faibles (COD < 1 mg/L). Pour les substrats testés (éthanol ou ions thiosulfates), les bactéries dénitrifiantes hétérotrophes sont plus efficaces que les bactéries dénitrifiantes autotrophes. Les vitesses de dénitrification mesurées en batch sont faibles (7,5 mg/L/j au maximum). Comme démontré ultérieurement sur le pilote de laboratoire, l'ajout de phosphates à la solution d'éthanol permettra d'augmenter les vitesses de réaction.

*La présence de bactéries dénitrifiantes ayant été démontrée, le pilote de dénitrification in situ peut fonctionner sur la base d'une stimulation de la croissance des populations bactériennes autochtones. L'utilisation d'un substrat carboné telle que l'éthanol additionné de phosphates semble la plus adaptée pour assurer des rendements de dénitrification élevés.*

#### 4.1.3 Cinétiques de dénitrification en contexte dynamique

**La démarche adoptée pratique l'aller-retour entre expérience et modélisation. Le processus de dénitrification hétérotrophe est étudié en écoulement sur un pilote de laboratoire puis**

**retranscrit au travers d'un terme cinétique dans des modèles de transport réactif à l'échelle de Darcy.**

Pour s'assurer des conditions bio-physico-chimiques comparables à celles du milieu naturel, les expériences se sont appuyées sur un pilote *ex situ* implanté sur le SEH et dont l'enceinte climatisée comprend quatre colonnes métriques alimentées en continu par les eaux de l'aquifère sous-jacent. Une série de capteurs permet de suivre l'évolution des propriétés physiques du milieu et des propriétés physico-chimiques de l'eau souterraine. Le milieu est constitué d'un empilement de concassé calcaire centimétrique colonisé par les bactéries autochtones (conductivité hydraulique  $K > 10^{-1} \text{ m.s}^{-1}$ , porosité cinématique  $\theta_c = 40 \%$ ). **Les expériences de dénitrification sont conduites à différents débits permettant d'imposer des vitesses moyennes s'étalant sur un ordre de grandeur de  $2 \cdot 10^{-4}$  à  $1,7 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ . Pour chaque expérience de dénitrification l'eau souterraine en entrée de colonne est amendée en nitrates, éthanol et phosphates à raison d'une concentration en nitrates de 100-150 mg/L, d'un C/N de 1,9 et d'un P/N de 0,0025.**

**Selon le débit testé, le rendement de dénitrification varie de 42 à 100 % pour des temps de séjour inférieurs à 1h30.** Entre 5 jours et plus d'un mois sont nécessaires pour atteindre ces valeurs. Cette phase de mise en régime du processus de dénitrification est engendrée par le développement progressif du biofilm comme en témoigne la réduction de 2 à 3 ordres de grandeur de la conductivité hydraulique. **Les rendements sont une fonction conjointe des temps de séjour dans le milieu et des états réactifs du biofilm, paramètres tous deux contrôlés par le développement bactérien.** Les dysfonctionnements rencontrés lors des expériences sont le fait de déséquilibres au sein du consortium bactérien, déséquilibres favorisés notamment par l'utilisation d'éthanol en excès et des cycles de carence nutritionnels trop courts.

*Quelques points sensibles touchant à la pérennité et aux performances de traitement mériteraient d'être approfondis ; la gestion du biofilm en fait partie. Il serait judicieux de tester des ratios C/N et P/N plus faibles que ceux employés ici afin de déterminer les valeurs minimum permettant la réduction complète des nitrates sous formes gazeuses tout en limitant les surdéveloppements bactériens. Cette phase d'expérimentation est incontournable pour l'évaluation des futures quantités d'éthanol et de phosphates à injecter en fonction des objectifs de dénitrification fixés. Il serait d'autre part nécessaire de réévaluer l'amplitude et la fréquence des carences nutritionnelles visant à limiter le développement bactérien. Alors que les expériences menées dans le cadre de cette thèse étaient contraintes par le temps, les investigations proposées mériteraient d'être conduites sur le long terme (de l'ordre de l'année) afin d'évaluer l'adéquation des conditions de fonctionnement avec l'objectif de durée du système épurateur. Cette étape constitue aussi un point clé d'évaluation des coûts de production.*

**Une foisensemencé, le milieu tend à se comporter comme un système hétérogène à porosité multiple générant une forte variabilité des vitesses d'écoulement.** Dans ces conditions, l'accès aux valeurs scalaires de cinétique de dénitrification par modélisation des courbes de traçage réactif nécessite une étape préalable de paramétrisation du transport non réactif en milieu hétérogène. Cette étape nous permet d'identifier ce qui est du ressort des conditions génériques d'écoulement et de proposer différentes conceptualisations du milieu (convection ou dispersion dominante, simple ou double continuum etc.). **Trois modèles macroscopiques homogénéisés simple ou double continoums sont testés.** Le modèle M1 est un simple milieu réactif et fortement dispersif (nombre de Péclet inférieur à 5). Le modèle M2 représente un double milieu avec une phase fluide véloce dans un milieu poreux convecto-dispersif nonensemencé (i.e. un milieu non dénitrifiant aux caractéristiques hydrodispersives comparables à celles du milieu initial) et une phase fluide stagnante dans le milieu biofilm dénitrifiant. Le modèle M3 s'apparente à un double milieu comparable au modèle M2 mais stipule que la phase fluide au sein du biofilm n'est pas stagnante. Il s'agit d'un double milieu (poreux/biofilm) dont l'écoulement dans le poreux est plus véloce que dans le biofilm. Pour un équilibre instantané entre les deux milieux, ce modèle conduit à l'obtention de dispersions anormalement élevées dans le milieu biofilm (Péclet < 5) traduisant un milieu géométriquement plus complexe qu'un simple poreux. En raison de l'échange instantané, le biofilm encaisse finalement la forte variabilité des vitesses (effet de chenalisation d'une part et zone quasi-stagnante d'autre part). Lorsque l'échange de masse est décrit au travers d'un terme cinétique, imposer 90 % du flux massique initial dans le milieu véloce permet d'obtenir des paramètres de transport en accord avec le concept attaché au modèle, i.e. un système double milieux convecto-dispersifs homogènes. Lorsque seuls 70 % transitent dans le milieu chenalisé, le milieu apparenté au biofilm redevient un milieu hétérogène avec une dispersion anormalement élevée. Pour les contraintes de porosités et de flux imposées, le caractère dispersif du biofilm résulte alors d'un flux massique imposé trop important et d'un manque de contraste entre les vitesses moyennes caractéristiques de chaque milieu. D'autres simulations mériteraient d'être conduites avec plus de flexibilité sur les fractions volumiques utilisées afin de conserver un fort contraste de vitesses poreux/biofilm tout en maintenant un flux massique initial important dans le milieu biofilm dénitrifiant.

**La réaction de dénitrification, généralement décrite par une cinétique non linéaire est ici approximée par une cinétique d'ordre 1 greffée aux modèles de transport cités précédemment.** Le modèle M3 dans la configuration « échange cinétique, 90 % du flux dans le milieu véloce » ainsi que le modèle M2 échouent à retranscrire la réactivité du milieuensemencé. Cet échec est engendré par une trop faible masse de soluté amenée à transiter dans le milieu dénitrifiant, i.e. le biofilm. Pour les autres modèles, le rapport des valeurs scalaires de cinétique d'un modèle à un autre ne dépasse pas l'ordre de grandeur. En raison de milieux réactifs extrêmement dispersifs, les valeurs pour un même

essai ne sont pas véritablement ‘temps caractéristiques-dépendantes’, les dispersions élevées étalant fortement les temps de séjour autour des temps caractéristiques (i.e. les temps convectifs) quel que soit le modèle considéré. **Pour la gamme de débits et de vitesses testée, la cinétique est indépendante des variations structurales du biofilm et de l’augmentation des vitesses d’écoulement.** Les paramètres clés définissant alors la quantité de nitrates pouvant être dégradée sont le temps de séjour moyen et la distribution des temps de séjour dans le milieu traversé. Les valeurs moyennes de cinétiques respectivement obtenues pour les modèles M1, « M3, équilibre instantané » et « M3, échange cinétique, 70 % » sont de  $5.10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ,  $9.10^{-3} \text{ s}^{-1}$  et  $1,8.10^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

*In situ, il est probable que les cinétiques de dégradation restent invariantes en fonction des conditions hydrodynamiques tant que les gammes de vitesses restent comparables à celles testées ( $10^{-4}$  et  $10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ ). En revanche, il se pourrait qu’à l’échelle du doublet de puits la grandeur scalaire de cinétique soit affectée par l’hétérogénéité structurale de l’aquifère. La variabilité des réponses hydrodispersives exprime un échantillonnage contrasté de structures (chenaux/ fractures) aux propriétés hydrauliques différentes présentant très probablement des surfaces volumiques colonisables et incidemment un potentiel dénitrifiant différent. Cette hypothèse mériterait d’être vérifiée en évaluant l’influence de la surface colonisable sur les cinétiques de dénitrification à l’échelle macroscopique (expériences sur matériau de surface colonisable croissante, expériences sur des fractures artificielles). Au final, les cinétiques macroscopiques seraient potentiellement influencées par la distribution des temps de séjour dans ces différents compartiments, i.e. par la macrodispersion du système entre le puits d’injection et le puits de pompage. L’un des défis pour la prédiction du fonctionnement d’un pilote in situ réside donc dans la capacité que nous avons à conceptualiser et modéliser le système fracturé. De la même manière qu’en présence du biofilm, il est fort probable qu’une dichotomie milieu à écoulement rapide vs. milieu à écoulement plus lent soit une transcription macroscopique assez fidèle de la réalité (les processus de diffusion dans la matrice étant négligeables au regard des temps de transport). Il semble que le concept attaché au modèle M3 pourrait être le plus à même de se transposer à l’hydrodynamique du site. Un modèle plus simple tel que le modèle M2 (chenaux vs. zones stagnantes) pourrait aussi être en mesure de simuler les courbes correctement.*

## 4.2 Perspectives

Les perspectives qui s’offrent à ce travail de thèse se déclinent selon 4 axes principaux :

- *Pilote expérimental de dénitrification en doublet de puits*

Il importe maintenant de monter un pilote de dénitrification grandeur nature (doublet de puits dans un premier temps) et d’y conduire des opérations d’injection de traceurs inertes et de solutions réactives (éthanol/phosphates). S’appuyant sur une méthodologie de modélisation identique à celle employée

sur colonne, i.e. le calage du transport inerte d'un soluté dans l'aquifère à partir de modèles homogénéisés 1D dans un premier temps et le calage des courbes de restitution en réactif dans un second temps, ces expérimentations permettront de juger de l'effet d'échelle sur la cinétique de dénitrification. Dans le cas d'une forte dépendance de ce paramètre au passage de l'échelle de la colonne à celle du terrain, les approches conceptuelles utilisées demanderont très probablement à être revisitées afin de préciser les mécanismes responsables de ces changements liés à l'hétérogénéité macroscopique du milieu. L'expérience *in situ* fournira de plus des données non rapportées à ce jour sur les modifications de propriétés hydrauliques d'un aquifère fracturé sous influence d'un développement bactérien. Ces données seront de première importance dans une perspective opérationnelle et nécessiteront d'être intégrées dans les modèles de transport pour passer du modèle purement calculatoire au modèle prédictif de fonctionnement d'une unité.

- *Compréhension des processus géochimiques à l'échelle du bassin versant*

Les contrastes hydrochimiques mis en évidence au droit du SEH pourraient constituer les prémices d'un volet de recherche et de caractérisation sur les interactions fluide-roche-bactéries et la dynamique des transferts d'eau zone non saturée/zone saturée en contexte hétérogène. A long terme, une étude intégrée à l'échelle du bassin versant mériterait d'être conduite. Elle demanderait dans un premier temps d'évaluer les limites du bassin d'alimentation hydrogéologique par des campagnes piézométriques. Cette première phase pourrait intervenir en parallèle du projet d'installation de capteurs piézométriques à longue distance visant à paramétrer les conditions limites dans les modèles d'écoulement. L'étude pourrait ensuite porter sur une caractérisation des propriétés des sols, du couvert végétal et de la pluviométrie au droit du bassin afin de dresser un bilan hydrologique. De nouvelles analyses hydrochimiques et isotopiques (datation notamment) à l'échelle du bassin d'infiltration et d'alimentation permettraient de préciser les points sources, les mécanismes de réaction et les temps de transfert des éléments. Ces campagnes de prélèvements gagneraient à être organisées de manière systématique en période de basses eaux et de hautes eaux. Pouvant bénéficier de l'expertise du laboratoire pour la modélisation de l'écoulement dans le système souterrain, cette partie nécessite des collaborations avec des hydrologues, pédologues, géochimistes et biologistes pour aboutir à la conception d'un modèle intégré de transfert de l'eau et d'interactions eau-roche-bactéries à l'amont du SEH et au droit du SEH. En collaboration avec M. Sebilou et T. Bariac (UMR 7618, BIOEMCO), des analyses isotopiques sont aujourd'hui en cours et devraient apporter un éclairage supplémentaire sur la dynamique des nitrates et les processus responsables de la variabilité observée (source, dilution, dénitrification).

- *Caractérisation des connexions préférentielles par injection d'eau à température contrôlée*

La caractérisation des connexions préférentielles entre puits se fait très couramment à l'aide de traceurs artificiels. L'utilisation répétitive de ce type de traceurs conduit à l'apparition d'un fond

continu de la molécule chimique utilisée. Dans le cas particulier du SEH, des contraintes techniques quant au rejet des eaux de pompage limitent de plus la possibilité de répéter les opérations de traçage. Pour ces raisons, l'utilisation de la température comme traceur devient une solution alternative intéressante. Outre la température naturelle de l'eau, il est possible d'envisager des études en doublets de puits avec un puits d'injection dans lequel est déversée une eau à température connue. L'installation de chapelets de température sur les puits du doublet et les puits alentours permettrait alors d'imager les circulations de l'eau et les connexions préférentielles entre les niveaux sollicités au puits pompé et les structures d'écoulement traversées par l'ensemble des puits équipés. L'utilisation de ce traceur possède l'avantage de ne pas polluer à long terme le site échantillonné et de pouvoir être détecté *in situ* par du matériel simple de mise en œuvre. L'incertitude à ce jour repose sur le temps nécessaire à un rééquilibrage de la température de l'eau avec les conditions qui prévalent sur le site avant injection.

- *Benchmark transport sur le SEH*

Pour rappel, le benchmark hydrodynamique (projet INSU/EC2CO/MACH-1) visant à établir la capacité prédictive de modèles d'écoulement utilisant des approches conceptuelles et numériques variées s'est achevé en 2009. Les résultats préliminaires montrent que les capacités prédictives d'un modèle conceptuellement simple (physique et/ou géométrie simplifiée), mais inversible au sens optimisation mathématique (peu de paramètres), semblent supérieures à celles de modèles plus élaborés sur le plan conceptuel, mais difficilement inversibles en raison du type et/ou de la quantité de données nécessaires au conditionnement. A ce jour, ces conclusions se limitent à une problématique purement hydrodynamique. Pour un problème de transport, les hétérogénéités du champ d'écoulement jouent un rôle beaucoup plus prépondérant dans les processus de transfert (advection-dispersion). Le principe du benchmark hydrodynamique gagnerait donc à être transposé à la prédiction du transport d'un soluté sur le SEH avec la possibilité d'intégrer de nouvelles informations acquises lors de cette thèse sur la géométrie des écoulements et sur les connexions préférentielles entre puits et entre structures d'écoulement.







## Références bibliographiques

- Abelin, H. et al., 1994. Channeling experiments in crystalline fractured rocks. *Journal of Contaminant Hydrology*, 15: 129-158.
- Akunna, J.C., Bizeau, C. and Moletta, R., 1993. Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: Glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Research*, 27(8): 1303-1312.
- Alowitz, M.J. and Scherer, M.M., 2002. Kinetics of nitrate, nitrite and Cr(IV) reduction by iron metal. *Environmental Science and Technology*, 36(3): 299-306.
- Alves, C.F., Melo, L.F. and Vieira, M.J., 2002. Influence of medium composition on the characteristics of a denitrifying biofilm formed by *Alcaligenes denitrificans* in a fluidised bed reactor. *Process Biochemistry*, 37: 837-845.
- Anderson, M.P., 2005. Heat as a Ground Water Tracer. *Ground Water*, 43(6): 951-968.
- Arnon, S., Adar, E., Ronen, Z., Yakirevich, A. and Nativ, R., 2005. Impact of microbial activity on the hydraulic properties of fractured chalk. *Journal of Contaminant Hydrology*, 76: 315-336.
- Arvidsson, P., Nilsson, K., Hakanson, H. and Mattiasson, B., 1998. Monitoring nitric oxide from immobilised denitrifying bacteria, *Pseudomonas stutzeri*, by the use of chemiluminescence. *Applied Microbiology Biotechnology*, 49: 677-681.
- Aspa, Y., Debenest, G. and Quintard, M., 20XX. Effective dispersion in channelled biofilms. *Int. Journal Environment and waste Management*, X(X): xxx-xxx.
- Audouin, O., 2007. Intégration-inversion de données géologiques et mesures hydrodynamiques in-situ pour le conditionnement d'un modèle 3D d'aquifère calcaire : Site Expérimental Hydrogéologique (SEH) de Poitiers, France. Thesis, Université de Poitiers, 201 pp.
- Audouin, O., Bodin, J., Porel, G. and Bourbiaud, B., 2008. Flowpath structure in a limestone aquifer : multi-borehole logging investigations at the Hydrogeological Experimental Site of Poitiers, France. *Hydrogeology Journal*, 16(5): 939-950.
- Baalsrud, K. and Baalsrud, K.S., 1954. Studies on *Thiobacillus denitrificans*. *Archiv für Mikrobiologie*, 20: 34-62.
- Baldensperger, J. and Garcia, J.-L., 1975. Reduction of oxidized inorganic nitrogen compounds by a new strain of *Thiobacillus denitrificans*. *Arch. Microbiology*, 101: 31-36.
- Barton, C.A., Zoback, M.D. and Moos, D., 1995. Fluid flow along potentially active faults in crystalline rocks. *Geology*, 23(8): 683-686.
- Battersby, N.S., 1990. A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment. *Chemosphere*, 21(10-11): 1243-1284.
- Baveye, P. and Valocchi, A.J., 1989. An evaluation of mathematical models of the transport of biologically reacting solutes in saturated soils and aquifers. *Water Resources Research*, 25(6): 1413-1421.

- Bear, J., 1972. Dynamics of Fluids in Porous Media. Dover Edition. American Elsevier Publishing Company, New York, 764 pp.
- Bekins, B.A., Warren, E. and Godsy, E.M., 1998. A comparison of Zero-Order, First-Order, and Monod biotransformation models. *Ground Water*, 36(2): 261-267.
- Bengtsson, G. and Bergwall, C., 1995. Heterotrophic denitrification potential as an adaptative response in groundwater bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 16: 307-318.
- Beppu, T., 1978. Regulatory mechanisms of nitrite reductase in denitrifying bacteria. In: D.A. Chem. (Editor), *Microbiology for environmental cleaning*, Tokyo.
- Bernard, S., 2005. Caractérisation hydrodynamique des réservoirs carbonatés fracturés. Application au site expérimental hydrogéologique (SEH) de l'Université de Poitiers. Thesis, Université de Poitiers, 232 pp.
- Betlach, M.C. and Tiedje, J.M., 1981. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. *Applied and Environmental Microbiology*, 42(6): 1074-1084.
- Beyenal, H., Donovan, C., Lewandowski, Z. and Harkin, G., 2004. Three-dimensionnal biofilm structure quantification. *Journal of Microbiological Methods*, 59: 395-413.
- Beyenal, H. and Lewandowski, Z., 2000. Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms. *Water Research*, 34(2): 528-538.
- Bidaux, P. and Drogue, C., 1993. Calculation of low-range flow velocities in fractured carbonate media from borehole hydrochemical logging data comparison with thermometric results. *Ground Water*, 31(1): 19-26.
- Birgersson, L., Moreno, L., Neretnieks, I., Widén, H. and Agren, T., 1993. A tracer migration experiment in a small fracture zone in granite. *Water Resources Research*, 29(12): 3867-3878.
- Bishop, P.L., Zhang, T.C. and Fu, Y.-C., 1995. Effects of biofilm structure, microbial distributions and mass transport on biodegradation processes. *Water Science and Technology*, 31(1): 143-152.
- Blaszczyc, M., 1993. Effect of medium composition on the denitrification of nitrate by *Paracoccus denitrificans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11): 3951-3953.
- Bourbiaud, B. et al., 2007. Multi-scale characterization of an heterogeneous aquifer through the integration of geological, geophysical and flow data : a case study. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*, 62(3): 347-373.
- Bourgueil, B. and Gabilly, J., 1971. Chauvigny n°590, Carte géologique à 1/50000, Orléans.
- Bourke, P.J., 1987. Channeling of flow through fractures in rock, GEOVAL-87 International Symposium. Swed. Nucl. Power Insp. (SKI), Stockholm, pp. 20-32.
- Boutaleb, N., 2007. Etude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thesis, Université de Bretagne sud, 174 pp.
- Bowman, R.A. and Focht, D.D., 1974. The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 6: 297-301.

- Braester, C. and Martinell, R., 1988. The Yvredox and Nitredox methods of *in situ* treatment of groundwater. *Water Science and Technology*, 20(3): 149-163.
- Buresh, R.J. and Moraghan, J.T., 1976. Chemical reduction of nitrate by ferrous iron. *Journal of Environmental Quality*, 5(3): 320-325.
- Cacas, M.C. et al., 1990. Modeling fracture flow with a stochastic discrete fracture network : Calibration and validation. 2.The transport Model. *Water Resources Research*, 26(3): 451-500.
- Chalupa, M., 1985. La dénitrification artificielle des eaux de nappe. In: C.N.G.E (Editor), Site'85 Nitrates dans les eaux, Paris.
- Chantereau, J., 1980. Corrosion bactérienne. *Technique et Documentation*, Paris, 262 pp.
- Chapelle, F.H., 2001. Ground-water microbiology and geochemistry. John Wiley & Sons, Inc., 477 pp.
- Chaplin, B.P., Schnobrich, M.R., Widdowson, M.A., Semmens, M.J. and Novak, P.J., 2009. Stimulating In Situ Hydrogenotrophic Denitrification with Membrane-Delivered Hydrogen under Passive and Pumped Groundwater Conditions. *Journal of Environmental Engineering*, 135(8): 666-676.
- Chatevaire, L., 2006. Porosité et perméabilité des roches réservoirs et corrélation avec les observations pétrographiques. Application à l'aquifère du Site Expérimental Hydrogéologique (SEH), Master 2<sup>ème</sup> année Géomatériaux-Eaux. Université de Poitiers, pp. 41.
- Christensson, M., Lie, E. and Welandar, T., 1994. A comparison between ethanol and methanol as carbon sources for denitrification. *Water Science and Technology*, 30(6): 83-90.
- Chun, J.A., Cooke, R.A., Eheart, J.W. and Kang, M.S., 2009. Estimation of flow and transport parameters for woodchip-based bioreactors: I.laboratory-scale bioreactor. *Biosystems Engineering*, 104: 384-395.
- Cirinesi, A.M., Rols, J.L. and Torrijos, M., 1992. Etude d'un dispositif de potabilisation des eaux de nappe nitrées par dénitrification "in situ". Institut national des sciences appliquées de Toulouse. Unité de recherche de traitement biologique des eaux, pp. 66.
- Claus, G. and Kutzner, H.J., 1985a. Autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans* in a packed bed reactor. *Applied Microbiology Biotechnology*, 22: 289-296.
- Claus, G. and Kutzner, H.J., 1985b. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Applied Microbiology Biotechnology*, 22: 283-288.
- Clement, T.P., Peyton, B.M., Skeen, R.S., Jennings, D.A. and Peterson, M.L., 1997. Microbial growth and transport in porous media under denitrification conditions : experiments and simulations. *Journal of Contaminant Hydrology*, 24: 269-285.
- Coats, K.H. and Smith, B.D., 1964. Dead-end pore volume and dispersion in porous media. *Society of petroleum engineers journal*, 4: 78-84.

- Cole, J.A., 1990. Physiology, biochemistry and genetics of nitrate. Dissimilation to ammonia. In: Springer (Editor), Denitrification in soil and sediment, 56. *Advances in Behavioral Biology*, pp. 349.
- Constantin, H., 1995. La biodénitrification d'un effluent industriel fortement chargé: études cinétiques, conception d'un réacteur à lit fluidisé, et modélisation. Thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, 227 pp.
- Crank, J., 1956. The mathematics of Diffusion. In: O.U. Press (Editor). Oxford University Press, New York and London, pp. 9-25.
- Cunningham, A.B., 1992. Influence of biofilm accumulation on porous media hydrodynamic properties. In: J.F. McCarthy and F.J. Wobber (Editors), Manipulation of groundwater colloids for environmental restoration. Lewis, pp. 371.
- Darcy, H., 1856. Les fontaines publiques de la villes de Dijon. Dalmont, Paris V., 674 pp.
- Davit, Y., Debenest, G., Gerino, M. and Quintard, M., 20XX. Imaging biofilms in porous media using X-ray computed tomography. *Journal of Microscopy*, en révision.
- Davit, Y., Debenest, G., Wood, B.D. and Quintard, M., 2009. A one-equation local non-equilibrium model for mass transport in biologically reactive porous media. *Advances in Water Resources*.
- Dawson, R.N. and Murphy, K.L., 1972. The temperature dependency of biological denitrification. *Water Research*, 6: 71-83.
- de Beer, D., Stoodley, P. and Lewandowski, Z., 1996. Liquid flow and mass transport in heterogeneous biofilms. *Water Research*, 30(11): 2761-2765.
- de Marsily, G. et al., 2005. Dealing with spatial heterogeneity. *Hydrogeology Journal*, 13: 161-183.
- De Smedt, F. and Wierenga, P.J., 1979. Mass transfer in porous media with immobile water. *Journal of Hydrology*, 41: 59-67.
- Delay, F., Kaczmarycyk, A. and Ackerer, P., 2007. Inversion of interference hydraulic pumping tests in both homogeneous and fractal dual media. *Advances in Water Resources*, 30(3): 314-334.
- Delay, F., Porel, G. and Bernard, S., 2004. Analytical 2D model to invert hydraulic pumping tests in fractured rocks with fractal behaviour. *Geophysical Research Letters*, 31(16): L16501 1-4.
- Delay, F., Porel, G. and de Marsilly, G., 1997. Predicting solute transport in heterogeneous media from results obtained in homogeneous ones : an experimental approach. *Journal of Contaminant Hydrology*, 25: 63-84.
- Delwiche, C.C., 1959. Production and utilization of nitrous oxide by *Pseudomonas denitrificans*. *Journal of Bacteriology*, 77: 55-59.
- Derlon, N., Massé, A., Escudié, R., Bernet, N. and Paul, E., 2008. Stratification in the cohesion of biofilms grown under various environmental conditions. *Water Research*, 42(8-9): 2102-2110.
- Donlan, R.M., 2002. Biofilms : microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9): 881-890.

- Drury, M., 1989. Fluid flow in crystalline crust: detecting fracture by temperature logs. In: A.E. Beck, G. Garven and L. Stegena (Editors), Hydrogeological Regimes and their subsurface thermal effects, 27. Geophysical Monograph. American Geophysical Union, Washington, pp. 129-135.
- Duff, J.H., Jackman, A.P., Triska, F.J., Sheibley, R.W. and Avanzino, R.J., 2007. Nitrate retention in riparian ground water at natural and elevated nitrate levels in North Central Minnesota. *Journal of Environmental Quality*, 36: 343-353.
- Dykaar, B.B. and Kitanidis, P.K., 1996. Macrotransport of a biologically reacting solute through porous media. *Water Resources Research*, 32(2): 307-320.
- Eberl, H.J., Picioreanu, C., Heijnen, J.J. and van Loosdrecht, M.C.M., 2000. A three-dimensional numerical study on the correlation of spatial structure, hydrodynamic conditions, and mass transfer and conversion in biofilms. *Chemical Engineering Science*, 55: 6209-6222.
- Elsworth, D. and Doe, T.W., 1986. Application of non-linear flow laws in determining rock fissure geometry from single borehole pumping tests. *Int. Journal Rock Mech. Science & Geomech. Abstr.*, 3(3): 245-254.
- Fahs, M., 2007. Modélisation du transport réactif multicomposants en milieu poreux saturé. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 207 pp.
- Fan, L.-S., Leyva-Ramos, R., Wisecarver, K.D. and Zehner, B.J., 1990. Diffusion of phenol through a biofilm grown on activated carbon particles in a draft-tube three-phase fluidized-bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 35(3): 279-286.
- Fanning, J.C., 1999. The chemical reduction of nitrate in aqueous solution. *Coordination Chemistry Reviews*, 199: 159-179.
- Fazzolari, E., Mariotti, A. and Germon, J.C., 1990. Dissimilatory ammonia production vs. denitrification in vitro and in inoculated soil samples. *Canadian Journal of Microbiology*, 36: 786-793.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Griegbe, C. and Mayer, C., 2000. Physico-chemical properties of biofilms. In: L.V. Evans (Editor), *Biofilm : recent advances in their study and control*. Harwood Academix Publishers, Amsterdam, pp. 19-34.
- Focht, D.D. and Verstraete, W., 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Advances in Microbial Ecology*, 1: 135-214.
- Foglar, L., Briski, F., Sipos, L. and Vukovic, M., 2005. High nitrate removal from synthetic wastewater with the mixed bacterial culture. *Bioresource Technology*, 96: 879-888.
- Ford, D. and Williams, P., 2007. *Karst hydrogeology and geomorphology*, Chichester, England, 562 pp.
- Frenzel, H., Kinzelbach, W. and Schäfer, W., 1996. What can we learn from tracer tests for *in situ* bioremediation in heterogeneous aquifer. In: I. Publication (Editor), *Calibration and Reliability in Groundwater Modelling*, Golden, Colorado, pp. 219-229.

- Fried, J.J. and Combarous, M., 1971. Dispersion in porous media. *Advances in Hydrosience*, 7: 169-283.
- Gabilly, J. and Cariou, E., 1997. Poitou Vendée Charentes. Guides géologiques Régionaux, Paris.
- Gamble, T.N., Betlach, M.C. and Tiedje, J.M., 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(4): 926-939.
- Garcia, J.-L., 1981. La biosynthèse des enzymes de la dénitrification chez cinq bactéries dénitrifiantes. *Cahier de l'ORSTOM, sér. Biol.*, 43: 3-6.
- Gaumet, F., Guiton, M. and Callot, J.P., 2005. Hétérogénéité sédimentaire et fracturation dans le Jurassique du Site Expérimental de Poitiers, Institut Français du Pétrole.
- Geesey, G.G. and Mitchell, A.C., 2008. Need for direct measurements of coupled microbiological and hydrological processes at different scales in porous media. *Journal of Hydrologic Engineering*, 13(1): 28-36.
- Ghiorse, W.C. and Wilson, J.T., 1988. Microbial ecology of the terrestrial subsurface. *Advances in Applied Microbiology*, 33: 107-172.
- Glass, C., Silverstein, J. and Oh, J., 1997. Inhibition of denitrification in activated sludge by nitrite. *Water Environment Research*, 69(6): 1086-1093.
- Goldscheider, N. and Drew, D., 2007. *Methods in Karst Hydrogeology*. Taylor & Francis Group, London, 264 pp.
- Golfier, F., Wood, B.D., Orgogozo, L., Quintard, M. and Buès, M., 2009. Biofilms in porous media: Development of macroscopic transport equations via volume averaging with closure for local mass equilibrium conditions. *Advances in Water Resources*, 32(3): 463-485.
- Greenan, C., Moorman, T.B., Kaspar, T.C., Parkin, T.B. and Jaynes, D.B., 2006. Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water. *Journal Environment Quality*, 35: 824-829.
- Hamon, M. and Fustec, E., 1991. Laboratory and field study of an *in situ* groundwater denitrification reactor. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 63(7): 942-949.
- Hauns, M., Jeannin, P.-Y. and Atteia, O., 2001. Dispersion, retardation and scale effect in tracer breakthrough curves in karst conduits. *Journal of Hydrology*, 241: 177-193.
- Hazen, T.C., Jiménez, L., Lopez de Victoria, G. and Fliermans, C.B., 1991. Comparison of bacteria from deep subsurface sediment and adjacent groundwater. *Microbial Ecology*, 22: 293-304.
- Herzer, J. and Kinzelbach, W., 1989. Coupling of transport and chemical processes in numerical transport models. *Geoderma*, 44: 115-127.
- Hiscock, K.M., Llyod, J.W. and Lerner, D.N., 1991. Review of natural and artificial denitrification of groundwater. *Water Research*, 25(9): 1099-1111.
- Horn, H. and Morgenroth, E., 2006. Transport of oxygen, sodium chloride, and sodium nitrate in biofilms. *Chemical Engineering Science*, 61: 1347-1356.



- Huang, Y.H. and Zhang, T.C., 2002. Kinetics of nitrate reduction by iron at near neutral pH. *Journal of Environmental Engineering*, 128(7): 604-611.
- Hunter, W.J., 2003. Accumulation of nitrite in denitrifying barriers when phosphate is limiting. *Journal of Contaminant Hydrology*, 66: 79-91.
- Hwang, C. et al., 2006. Changes in bacterial community structure correlate with initial operating conditions of a field-scale denitrifying fluidized bed reactor. *Applied Microbiology Biotechnology*, 71: 748-760.
- Iribar, A., Sánchez-Pérez, J., Lyautey, E. and Garabatian, F.d.r., 2008. Differentiated free-living and sediment-attached bacterial community structure inside and outside denitrification hotspots in the river–groundwater interface. *Hydrobiologia*, 598(1): 109-121.
- Johnston, P.B., Atkinson, T., Barker, J. and Odling, N., 2009. Constraining the uncertainty in fracture geometry using tracer tests. *Hydrogeology Journal*, 17: 527-539.
- Justin, P. and Kelly, D.P., 1978. Growth kinetics of *Thiobacillus denitrificans* in anaerobic and aerobic chemostat culture. *Journal of General Microbiology*, 107: 123-130.
- Kaczmaryk, A. and Delay, F., 2007. Interference pumping tests in a fractured limestone (Poitiers - France): Inversion of data by means of dual medium approaches. *Journal of Hydrology*, 337(1-2): 133-146.
- Kaluarachchi, J.J. and Morshed, J., 1995. Critical assessment of the operator splitting technique in solving the advection-dispersion reaction equation : 1. First-order reaction. *Advances in Water Resources*, 18(2): 89-100.
- Kass, W., 1998. Tracing technique in geohydrology. A.A.Balkema, Rotterdam Brookfield, 581 pp.
- Keys, W.S., 1990. Borehole Geophysics Applied to Ground-Water Investigations. In: USGS (Editor), *Techniques of Water-Resources Investigations of the United States Geological Survey*, book 2, pp. 150.
- Khristoforova, N.N. and Khritoforov, A.V., 2006. Fluid migration and location of fractured layers in the crystalline basement by temperature logging in the Volga Region, Russia. *Journal of Geochemical Exploration*, 89: 187-190.
- Killingstad, M.W., Widdowson, M.A. and Smith, R.L., 2002. Modeling enhanced in situ denitrification in groundwater. *Journal of Environmental Engineering*, 128(6): 491-504.
- Kim, Y.S., Nakano, K., Lee, T.J., Kanchanatawee, S. and Martsumura, M., 2002. On-site nitrate removal of groundwater by an immobilized psychrophilic denitrifier using soluble starch as a carbon source. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93(3): 303-308.
- Kinzelbach, W. and Schafer, W., 1991. Numerical modeling of natural and enhanced denitrification processes in aquifers. *Water Resources Research*, 27(6): 1123-1135.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiological Reviews*, 46(1): 43-70.
- Kölle, W., Strebel, O. and Böttcher, J., 1985. Formation of sulfate by microbial denitrification in a reducing aquifer. *Water Supply*, 3: 35-40.

- Kowalenko, C.G., 1979. The influence of sulfur anions on denitrification. *Canadian Journal of Soil Science*, 59: 221-223.
- Kreft, J.-U., Picioreanu, C., Wimpenny, J.W.T. and van Loosdrecht, M.C.M., 2001. Individual-based modelling of biofilms. *Microbiology*, 147: 2897-2912.
- Kuenen, J.G., Robertson, L.A. and Tuovinen, O.H., 1992. The genera *Thiobacillus*, *Thiomicrospira* and *Thiosphaera*. In: A. Balows, H. Trüper, M. Dworkin, H. W. and S. K.H. (Editors), *The prokaryotes*, 3. Springer-Verlag, New York, pp. 2638-2657.
- Landreau, A., Mariotti, A. and Simon, B., 1988. La dénitrification naturelle dans les eaux souterraines. *Hydrogéologie*, 1: 35-43.
- Lanini, S. and Kervévan, C., 2007. Essai de quantification de l'erreur induite par l'algorithme de résolution numérique du transport réactif, RP-54421-FR, BRGM.
- Lawrence, A.R. and Foster, S.S.D., 1986. Denitrification in a limestone aquifer in relation to the security of low-nitrate groundwater supplies. *J. Inst. Wat. Engig. Sci.*, 40: 159-172.
- Lazarova, V., Capdeville, B. and Nikolov, L., 1994. Influence of seeding conditions on nitrite accumulation in a denitrifying fluidized bed reactor. *Water Research*, 28(5): 1189-1197.
- Le Bideau, L., 1996. Mécanismes de dénitrification de la nappe de l'Oxfordien supérieur au droit du site de Beuxes (Vienne). Thesis, Poitiers, 325 pp.
- Lee, Y.W. and Dahab, M.F., 1988. Kinetics of low solids biodenitrification of water supplies. *Journal WPCF*, 60(10): 1857-1861.
- Lehman, R.M., Colwell, F.S. and Bala, G.A., 2001. Attached and unattached microbial communities in a stimulated basalt aquifer under fracture- and porous-flow conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6): 2799-2809.
- Lewandowski, Z., 2000. Structure and function of biofilms. In: L.V. Evans (Editor), *Biofilms : recent advances in their study and control*, 1. Harwood academic publishers, Amsterdam, pp. 466.
- Liu, C.-Q., Li, S.-L., lang, Y.C. and Xiao, H.-Y., 2006. Using  $^{15}\text{N}$  and  $^{18}\text{O}$  values to identify nitrates sources in karst ground water, Guiyang, southwest China. *Environmental Science and Technology*, 40: 6928-6933.
- Liu, Y. and Tay, J.-H., 2002. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research*, 36: 1653-1665.
- Lu, G., Clement, T.P., Zheng, C. and Wiedemeier, T.H., 1999. Natural attenuation of BTEX compounds: Model development and field scale application. *Ground Water*, 37(5): 707-717.
- Luk, G.K. and Au-Yeung, W.C., 2002. Experimental investigation on the chemical reduction of nitrate from groundwater. *Advances in Environmental Research*, 6: 441-453.
- Luther, I., G.W., Sundby, B., Lewis, B.L., Brendel, P.J. and Silverberg, N., 1997. Interactions of manganese with the nitrogen cycle: Alternative pathways to dinitrogen. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(19): 4043-4052.

- Maag, M., Malinovsky, M. and Nielsen, S.M., 1997. Kinetics and temperature dependence of potential denitrification in riparian soils. *Journal of Environmental Quality*, 26: 215-223.
- Maloszewski, P. and Zuber, A., 1990. On the parameter estimation from artificial tracer experiments. In: IAHS (Editor), *ModelCARE90 : Calibration and Reliability in groundwater Modelling*, The Hague, pp. 53-62.
- Mandelbaum, R.T., Shati, M.R. and Ronen, D., 1997. *In situ* microcosms in aquifer bioremediation studies. *FEMS Microbiology Ecology*, 20(3/4): 489-502.
- Marconnet, C., 2007. Influence de l'adhésion et de l'activité enzymatique du biofilm sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eaux de rivière. Thesis, Ecole Centrale de Paris, Paris, 325 pp.
- Mari, J.L., Porel, G. and Bourbiaud, B., 2009. From 3D seismic to 3D reservoir deterministic model thanks to logging data: the case study of a near surface heterogeneous aquifer. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*, 64(2): 119-331.
- Mariotti, A., 1986. La dénitrification dans les eaux souterraines, principes et méthodes de son identification: une revue, *Journal of Hydrology*, pp. 1-23.
- Mariotti, A., 1994. Dénitrification in situ dans les eaux souterraines, processus naturels ou provoqués: une revue. *Hydrogéologie*, 3: 43-68.
- Mariotti, A., Landreau, A. and Simon, B., 1988. <sup>15</sup>N isotope biogeochemistry and natural denitrification process in groundwater : Application to the chalk aquifer of northern France. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52: 1869-1878.
- Mateju, V., Cizinska, S., Krejci, J. and Janoch, T., 1992. Biological water denitrification. A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 14(3): 170-183.
- McCallum, J.E., Ryan, M.C., Mayer, B. and Rodvang, S.J., 2008. Mixing-induced groundwater denitrification beneath a manure field in southern Alberta, Canada. *Applied Geochemistry*, 23: 2146-2155.
- McCarthy, P.L., 1972. Energetics of organic matter degradation. In: R. Mitchell (Editor), *Water Pollution Microbiology*. Wiley Interscience, New York, pp. 91-118.
- Mckenney, D.J. et al., 1994. Kinetics of denitrification by *Pseudomonas fluorescens*: Oxygen effects. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(7): 901-908.
- Melo, L.F. and Bott, T.R., 1997. Biofouling in water systems. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14: 375-381.
- Mercado, A., Libhaber, M. and Soares, M.I.M., 1988. *In situ* biological groundwater denitrification : concepts and preliminary field tests. *Water Science and Technology*, 20(3): 197-209.
- Mohseni-Bandpi, A. and Elliott, D.J., 1998. Groundwater denitrification with alternative carbon sources. *Water Science and Technology*, 38(6): 237-243.

- Molénat, J., Durand, P., Gascuel-Oudou, C., Davy, P. and Gruau, G., 2002. Mechanisms of nitrate transfer from soil to stream in an agricultural watershed of French Brittany. *Water, Air, and Soil Pollution*, 133: 161-183.
- Molz, F.J., Widdowson, M.A. and Benefield, L.D., 1986. Simulation of microbial growth dynamics coupled to nutrient and oxygen transport in porous media. *Water Resources Research*, 22(8): 1207-1216.
- Monod, J., 1949. The growth of bacterial cultures. *Annual Review Microbiology*, 3: 371-394.
- Moon, H.S., Shin, D.Y., Nam, K. and Kim, J.Y., 2008. A long-term performance test on an autotrophic denitrification column for application as a permeable reactive barrier. *Chemosphere*, 73(5): 723-728.
- Moore, S.F. and Schroeder, E.D., 1970. An investigation of the effects of residence time on anaerobic bacterial denitrification. *Water Research*, 4: 685-694.
- Mourier, J.-P., Gabilly, J. and Platel, J.-P., 1986. Poitiers, Carte géologique n°589. In: BRGM (Editor), *Carte géologique de la France à 1/50000*.
- Murray, R.E., Feig, Y.S. and Tiedje, J.M., 1995. Spatial heterogeneity in the distribution of denitrifying bacteria associated with denitrification activity zones. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7): 2791-2793.
- Musy, A. and Soutter, M., 1991. *Physique du Sol. Gérer l'environnement*, 6, Lausanne, 335 pp.
- Nair, R.R., Dhamole, P.B., Lele, S.S. and D'Souza, S.F., 2007. Biological denitrification of high strength nitrate waste using preadapted denitrifying sludge. *Chemosphere*, 67: 1612-1617.
- Neumann, S.P., Guadagnini, A. and Riva, M., 2004. Type-curve estimation of statistical heterogeneity. *Water Resources Research*, 40(4).
- Nex, F., 2004. Modélisation numérique de la biodégradation des composés organo-chlorés dans les aquifères fondée sur des expérimentations in situ. Le cas des chloroéthènes. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 212 pp.
- Nommik, H., 1956. Investigations on denitrification in soil. *Acta Agriculture Scandinavica*, 6: 195-228.
- Ohashi, A. and Harada, H., 1994. Adhesion strength of biofilm developed in an attached-growth reactor. *Water Science and Technology*, 29(10-11): 281-288.
- Orgogozo, 2007. Modélisation numérique du transport actif de soluté en milieu poreux en présence d'une phase biofilm: validité de l'hypothèse de l'équilibre de masse local, 18<sup>ème</sup> congrès Français de Mécanique, Grenoble.
- Orgogozo, L., Golfier, F., Buès, M. and Quintard, M., 2010. Upscaling of transport processes in porous media with biofilms in non-equilibrium conditions. *Advances in Water Resources*, 33(5): 585-600.
- Ottley, C.J., Davison, W. and Edmunds, W.M., 1997. Chemical catalysis of nitrate reduction by iron (II). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(9): 1819-1828.

- Panno, S.V., Hackley, K.C., Hwang, H.H. and Kelly, W.R., 2001. Determination of the sources of nitrate contamination in karst springs using isotopic and chemical indicators. *Chemical Geology*, 179: 113-128.
- Pauwels, H., Kloppmann, W., Foucher, J.C., Martelat, A. and Fritsche, V., 1998. Field tracer test for denitrification in a pyrite-bearing schist aquifer. *Applied Geochemistry*, 13(6): 767-778.
- Pauwels, H. and Talbo, H., 2004. Nitrate concentration in wetlands : assessing the contribution of deeper groundwater from anions. *Water Research*, 38: 1019-1025.
- Payne, W.J., 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacteriological Reviews*, 37(4): 409-452.
- Peyton, B.M., 1996a. Effects of shear stress and substrate loading rate on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm thickness and density. *Water Research*, 30(1): 29-36.
- Peyton, B.M., 1996b. Improved biomass distribution using pulsed injections of electron donor and acceptor. *Water Research*, 30(3): 756-758.
- Peyton, B.M., Mormile, M. and Peterson, J.N., 2001. Nitrate reduction with *Halomonas campisalis* : kinetics of denitrification at pH 9 and 12,5% NaCl. *Water Research*, 35(17): 4237-4242.
- Pfannkuch, O., 1963. Contribution à l'étude des déplacements de fluides miscibles dans un milieu poreux. *Revue Institut Français du Pétrole*, XVIII(2): 215-270.
- Philipot, J.M., 1985. Technologie de mise en oeuvre de la dénitrification biologique. In: C.N.G.E (Editor), Site'85 Nitrates dans les eaux, Paris.
- Pichinoty, F., 1969. La dénitrification bactérienne. I. Utilisation des amines aromatiques comme donneuses d'électrons dans la réduction du nitrite. *Arch. Microbiology*, 69: 314-329.
- Pichinoty, F. and D'Orano, L., 1961. Recherche sur la réduction du protoxyde d'azote par *Micrococcus denitrificans*. *Ann. Inst. Pasteur*, 101: 418-426.
- Pichinoty, F. et al., 1978. Etude physiologique et taxonomique du genre *Alcaligenes*: *A. denitrificans*, *A. odorans* et *A. faecalis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 24: 743-753.
- Picioreanu, C., van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J., 1999a. Discrete-differential modelling of biofilm structure. *Water Science and Technology*, 39(7): 115-122.
- Picioreanu, C., van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J., 1999b. A theoretical study on the effect of surface roughness on mass transport and transformation in biofilms. *Biotechnology and Bioengineering*, 68(4): 355-369.
- Rabah, F.K.J. and Dahab, M.F., 2004. Biofilm and biomass characteristics in high-performance fluidized-bed biofilm reactors. *Water Research*, 38: 4262-4270.
- Rashid, M. and Kaluarachchi, J.J., 1999. A simplified numerical algorithm for oxygen- and nitrate-based biodegradation of hydrocarbons using Monod expressions. *Journal of Contaminant Hydrology*, 40: 53-77.
- Richard, Y. and Partos, J., 1985. Elimination biologique des nitrates en vue de la production d'eau potable. In: C.N.G.E (Editor), Site'85 Nitrates dans les eaux, Paris.

- Richard, Y. and Thébaud, P., 1992. Biological removal of nitrates - report on 7 years of operation and progress. *Water Supply*, 10(3): 151-160.
- Rittmann, B.E., 1993. The significance of biofilms in porous media. *Water Resources Research*, 29(7): 2195-2202.
- Riva, M., Guadagnini, A., Bodin, J. and Delay, F., 2009. Characterization of the Hydrogeological Experimental Site of Poitiers (France) by stochastic well testing analysis. *Journal of Hydrology*, 369(1-2): 154-164.
- Rivett, M.O., Buss, S.R., Morgan, P., Smith, J.W.N. and Bemment, C.D., 2008. Nitrate attenuation in groundwater : A review of biogeochemical controlling processes. *Water Research*, 42: 4215-4232.
- Robertson, W.D. and Cherry, J.A., 1995. In situ denitrification of septic-system nitrate using reactive porous media barriers: Field trials. *Ground Water*, 33: 99-111.
- Rocca, C.D., Belgiorno, V. and Meriç, S., 2007. Heterotrophic/autotrophic denitrification (HAD) of drinking water: prospective use for permeable reactive barrier. *Desalination, Ninth Environmental Science and Technology Symposium - September 1-3, 2005, Rhodes, Greece*, 210(1-3): 194-204.
- Rogalla, F., ravarini, P., de Larminat, G. and Coutelle, J., 1990. Large scale biological nitrate and ammonia removal. *J. Inst. Water Envir. Mgmt.*, 4: 319-329.
- Rohmann, U. and Sontheimer, H., 1985. *Nitrat im Grundwasser - Ursachen, Bedeutung, Lösungswege*, Frankfurt am Main, Germany.
- Sadeghi, A.M. and Kunishi, H.M., 1991. Simulation of one-dimensionnal nitrate transport through soil and concomitant nitrate diminution. *Soil Science*, 152(5): 333-339.
- Schäfer, D., Schäfer, W. and Kinzelbach, W., 1998. Simulation of reactive processes related to biodegradation in aquifers. 1. Structure of the three dimensionnal reactive transport model. *Journal of Contaminant Hydrology*, 31: 167-186.
- Schipper, L.A., Barkle, G.F. and Vojvodic-Vukovic, M., 2005. Maximum rate of nitrate removal in a denitrification wall. *Journal of Environmental Quality*, 34: 1270-1276.
- Schnobrich, M.R., Chaplin, B.P., Semmens, M.J. and Novak, P.J., 2007. Stimulating hydrogenotrophic denitrification in simulated groundwater containing high dissolved oxygen and nitrate concentrations. *Water Research*, 41(9): 1869-1876.
- Schürch, M. and Buckley, D., 2002. Integrating geophysical and hydrochemical borehole-log measurements to characterize the Chalk aquifer, Berkshire, United Kingdom. *Hydrogeology Journal*, 10: 610-627.
- Schürmann, A., Schroth, M.H., Saurer, M., Bernasconi, S.M. and Zeyer, J., 2003. Nitrate-consuming processes in a petroleum-contaminated aquifer quantified using push-pull tests combined with <sup>15</sup>N isotope and acetylene-inhibition methods. *Journal of Contaminant Hydrology*, 66(1-2): 59-77.

- Schwientek, M. et al., 2008. Evidence for denitrification regulated by pyrite oxidation in a heterogeneous porous groundwater system. *Chemical Geology*, 255: 60-67.
- Sebilo, M., Billen, G., Grably, M. and Mariotti, A., 2003. Isotopic composition of nitrate-nitrogen as a marker of riparian and benthic denitrification at the scale of the whole Seine River System. *Biogeochemistry*, 63: 35-51.
- Seifert, D. and Engesgaard, P., 2007. Use of tracer tests to investigate changes in flow and transport properties due to bioclogging of porous media. *Journal of Contaminant Hydrology*, 93: 58-71.
- Seiler, K.-P. and Vomberg, I., 2005. Denitrification in a karst aquifer with matrix porosity. In: L. Razowska-Jaworek and A. Sadurski (Editors), *Nitrates in Groundwater, Selected Papers 5*. International Association of Hydrogeologists, Balkema, Leiden, pp. 87-100.
- Seker, S., Beyenal, H. and Tanyolaç, A., 1995. The effects of biofilm thickness on biofilm density and substrate consumption rate in a differential fluidized bed biofilm reactor (DFBBR). *Journal of Biotechnology*, 41: 39-47.
- Seymour, J.D., Gage, J.P., Codd, S.L. and Gerlach, R., 2007. Magnetic resonance microscopy of biofouling induced scale dependent transport in porous media. *Advances in Water Resources*, 30: 1408-1420.
- Sharp, R.R., Cunningham, A.B., Komlos, J. and Billmeyer, J., 1999. Observation of thick biofilm accumulation and structure in porous media and corresponding hydrodynamics and mass transfer effects. *Water Science and Technology*, 39(7): 195-201.
- Sharp, R.R., Stoodley, P., Gerlach, R. and Cunningham, A., 2005. Visualization and characterization of dynamic patterns of flow, growth and activity of biofilms growing in porous media. *Water Science and Technology*, 52(7): 85-90.
- Skerman, V.B.D. and MacRae, I.C., 1957. The influence of oxygen on the reduction of nitrate by adapted cells of *Pseudomonas denitrificans*. *Canadian Journal of Microbiology*, 3: 215-230.
- Smith, R.L., 1996. Comparison of denitrification activity measurement in groundwater using cores and natural-gradient tracer tests. *Environmental Science and Technology*, 30(12): 3448-3456.
- Smith, R.L., Böhlke, J.K., Garabedian, S.P., Revesz, K.M. and Yoshinari, T., 2004. Assessing denitrification in groundwater using natural gradient tracer test with  $^{15}\text{N}$ : *In situ* measurement of a sequential multistep reaction. *Water Resources Research*, 40: 1-17.
- Smith, R.L., Howes, B.L. and Duff, J.H., 1991. Denitrification in nitrate-contaminated groundwater: Occurrence in steep vertical geochemical gradients. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55: 1815-1825.
- Smith, R.L., Miller, D.N., Brooks, M.H., Widdowson, M.A. and Killingstad, M.W., 2001. In situ stimulation of groundwater denitrification with formate to remediate nitrate contamination. *Environmental Science and Technology*, 35: 196-203.
- Soares, M.I.M., Belkin, S. and Abeliovich, A., 1988. Biological groundwater denitrification: laboratory studies. *Water Science and Technology*, 20(3): 189-195.

- Soares, M.I.M., Braester, C., Belkin, S. and Abeliovich, A., 1991. Denitrification in laboratory sand columns : carbon regime, gas accumulation and hydraulic properties. *Water Research*, 25(3): 325-332.
- Soto, O., Aspé, E. and Roeckel, M., 2007. Kinetics of cross-inhibited denitrification of a high load wastewater. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6): 1627-1634.
- Spalding, R.F., Exner, M.E., Martin, G.E. and Snow, D.D., 1993. Effects of sludge disposal on groundwater nitrate concentrations. *Journal of Hydrology*, 142(1-4): 213-228.
- Stanier, R.Y., Doudoroff, M. and Adelberg, E.A., 1963. Enrichment culture for specialized groups of bacteria. In: L. Macmillan (Editor), *General Microbiology*, pp. 753.
- Starr, R.C. and Gillham, R.W., 1993. Denitrification and organic carbon availability in two aquifers. *Ground Water*, 31(6): 934-947.
- Stoodley, P., deBeer, D. and Lewandowski, Z., 1994. Liquid flow in biofilm systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(8): 2711-2716.
- Straub, K.L., Benz, M., Schink, B. and Widdel, F., 1996. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(4): 1458-1460.
- Strong, D.T. and Fillery, I.R.P., 2002. Denitrification response to nitrate concentrations in sandy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 945-954.
- Sturman, P.J., Stewart, P.S., Cunningham, A.B., Bouwer, E.J. and Wolfram, J.H., 1995. Engineering scale-up of in situ bioremediation processes : a review. *Journal of Contaminant Hydrology*, 19: 171-203.
- Tanyolac, A. and Beyenal, H., 1998. Prediction of substrate consumption rate, average biofilm density and active thickness for a thin spherical biofilm at pseudo-steady state. *Biochemical Engineering Journal*, 2: 207-216.
- Taylor, S.W. and Jaffé, P.R., 1990. Substrate and biomass transport in a porous medium. *Water Resources Research*, 26(9): 2181-2194.
- Taylor, S.W., Milly, P.C.D. and Jaffé, P.R., 1990. Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium, 2, Permeability. *Water Resources Research*, 26: 2161-2169.
- Thullner, M., Mauclaire, L., Schroth, M.H., Kinzelbach, W. and Zeyer, J., 2002. Interaction between water flow and spatial distribution of microbial growth in a two-dimensional flow field in saturated porous media. *Journal of Contaminant Hydrology*, 58: 169-189.
- Tiedje, J.M., 1982. Denitrification. In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (Editors), *Methods of soil analysis - Chemical and microbiological properties, Part 2*. American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison Wisconsin USA, pp. 1011-1024.
- Trainer, F.W., 1968. Temperature profile in water wells as indicators of bedrocks fracture. USGS, Professional Paper, 600-B, Washington.



- Trouvé, C., 1998. Etudes des possibilités de dénitrification autotrophe par *thiobacillus denitrificans*. Thesis, Université de Poitiers, Poitiers, 197 pp.
- Trudell, M.R., Gillham, R.W. and Cherry, J.A., 1986. An in-situ study of the occurrence and rate of denitrification in a shallow unconfined sand aquifer. *Journal of Hydrology*, 83: 251-268.
- Tsang, C.F. and Neretnieks, I., 1998. Flow channeling in heterogeneous fracture rocks. *Reviews of Geophysics*, 36(2): 275-298.
- Tsang, Y.W. and Tsang, C.F., 1989. Flow channeling in a single fracture as a two-dimensional strongly heterogeneous permeable medium. *Water Resources Research*, 25(9): 2076-2080.
- Valocchi, A.J. and Malmstead, M., 1992. Accuracy of the operator splitting for advection dispersion reaction problems. *Water Resources Research*, 28(5): 1471-1476.
- van Genuchten, M.T. and Wierenga, P.J., 1976. Mass transfer studies in sorbing porous media. I. Analytical solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 40(4): 473-480.
- van Loosdrecht, M.C.M. et al., 1995. Biofilm structures. *Water Science and Technology*, 32(8): 35-43.
- Vandevivere, P. and Baveye, P., 1992. Effect of bacterial extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(5): 1690-1698.
- Vangnai, S. and Klein, D.A., 1974. A study of nitrite-dependent dissimilatory micro-organisms isolated from Oregon soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 6: 335-339.
- Vasiliadou, I.A., Pavlou, S. and Vayenas, D.V., 2006. A kinetic study of hydrogenotrophic denitrification. *Process Biochemistry*, 41(6): 1401-1408.
- Vieira, M.J., Melo, L.F. and Pinheiro, M.M., 1993. Biofilm formation : hydrodynamic effects on internal diffusion and structure. *Biofouling*, 7: 67-80.
- Villasenor, J.C., van Loosdrecht, M.C.M., Picioreanu, C. and Heijnen, J.J., 2000. Influence of different substrates on the formation of biofilm airlift suspension reactor. *Water Science and Technology*, 41(4-5): 323-330.
- Walter, A.L., Frind, E.O., Blowes, D.W., Ptacek, C.J. and Molson, J.W., 1994. Modeling of multicomponent reactive transport in groundwater. 1. Model development and evaluation. *Water Resources Research*, 30(11): 3137-3148.
- Wang, H.Q., 1987. Modélisation des transferts de masse en milieu saturé à double porosité. Application aux écoulements convergents en craie fissurée semi-confinée et multicouche. Thesis, Université Paris XI, Orsay, 273 pp.
- Wäsche, S., Horn, H. and Hempel, D., 2002. Influence of growth conditions on biofilm development and mass transfer at the bulk/biofilm interface. *Water Research*, 36: 4775-4784.
- Weber, K.A., Picardal, F.W. and Roden, E.E., 2001. Microbially catalyzed nitrate-dependent oxidation of biogenic solid-phase Fe(II) compounds. *Environmental Science and Technology*, 35.
- Whitaker, S., 1999. The method of volume averaging. Theory and applications of transport in porous media, Dordrecht.

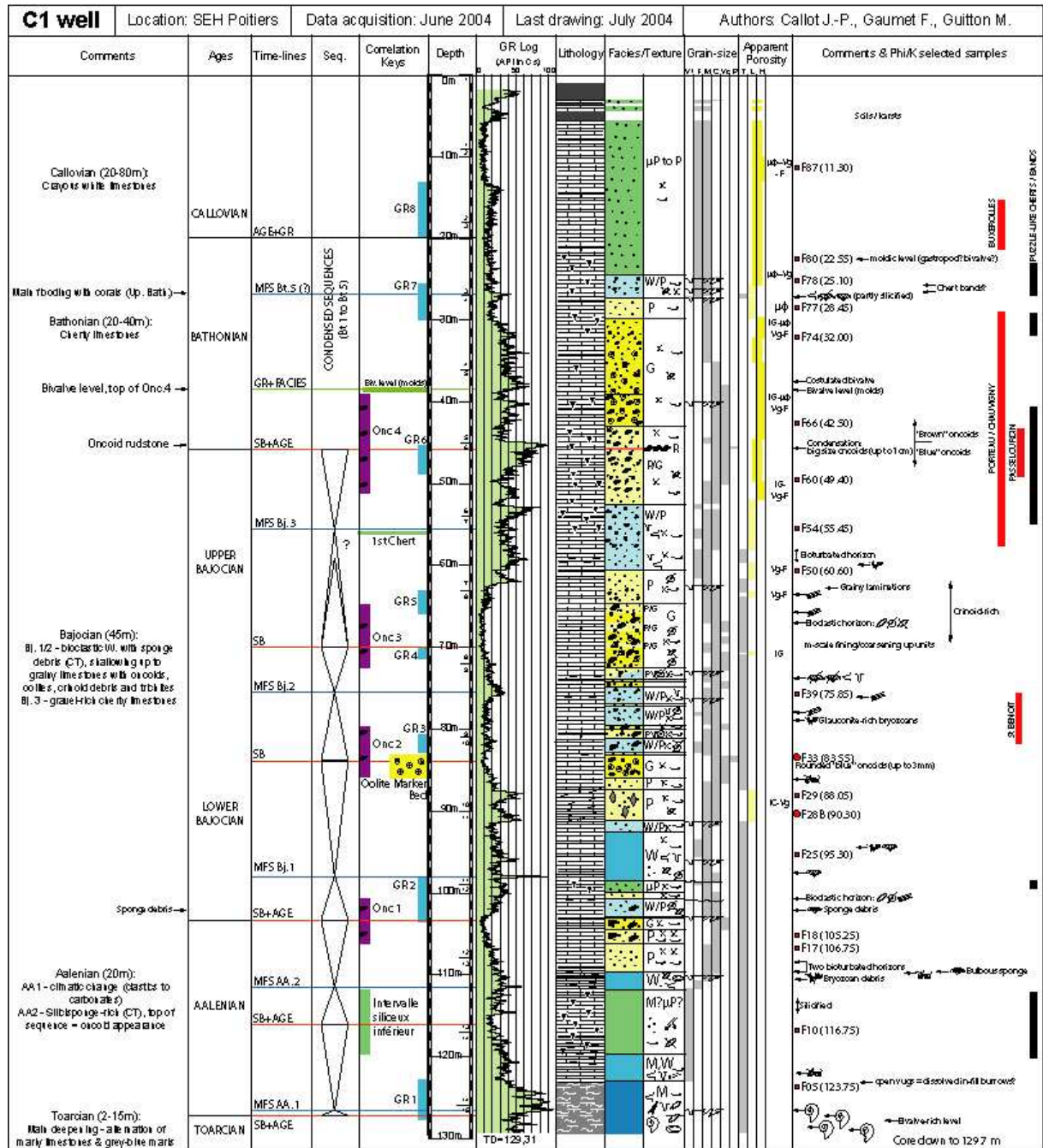
- Widdowson, M.A., Molz, F.J. and Benefield, L.D., 1988. A numerical transport model for oxygen- and nitrate-based respiration linked to substrate and nutrient availability in porous media. *Water Resources Research*, 24(9): 1553-1565.
- Wiesman, U., 1994. Biological nitrogen removal from wastewater. In: A. Fletcher (Editor), *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 51. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 113-154.
- Wood, B.D., Dawson, C.N., Szecsody, J.E. and Streile, G.P., 1994. Modeling contaminant transport and biodegradation in a layered porous media system. *Water Resources Research*, 30(6): 1833-1845.
- Wood, B.D., Quintard, M. and Whitaker, S., 2002. Calculation of effective diffusivities for biofilms and tissues. *Biotechnology and Bioengineering*, 77(5): 495-516.
- Wood, B.D. and Whitaker, S., 1998. Diffusion and reaction in biofilms. *Chemical Engineering Science*, 53(3): 397-425.
- Xue, D. et al., 2009. Present limitations and future prospects of stable isotope methods for nitrate source identification in surface- and groundwater. *Water Research*, 43(5): 1159-1170.
- Yang, G.C.C. and Lee, H.L., 2005. Chemical reduction of nitrate by nanosized iron: kinetics and pathways. *Water Research*, 39: 884-894.
- Yeomans, J.C. and Bremner, J.M., 1985. Denitrification in soil: Effects of herbicides. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(4): 447-452.
- Zhang, T.C., Bishop, P.L. and Gibbs, J.T., 1994. Effect of roughness and thickness of biofilms on external mass transfer resistance, *Critical Issues in Water and Wastewater Treatment*, National Conference in Environmental Engineering. ASCE, New York, pp. 593-600.
- Zhang, Y.-C., Slomp, C.P., Broers, H.P., Passier, H.F. and Cappellen, P.V., 2009. Denitrification coupled to pyrite oxidation and changes in groundwater quality in a shallow sandy aquifer. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73(22): 6716-6726.
- Zysset, A., Stauffer, F. and Dracos, T., 1994. Modeling of reactive groundwater transport governed by biodegradation. *Water Resources Research*, 30(8): 2423-2434.

## Annexes

<i>Annexe 1 : Faciès sédimentaires rencontrés au droit du SEH d'après Gaumet et al. (2005). Logs séquentiel temps établis sur les carottés C1 et C2. ....</i>	<i>227</i>
<i>Annexe 2 : Associated fluid temperature and velocity loggings for flow structure characterization in a fractured karstic aquifer. Publication soumise à Journal of Hydrology.....</i>	<i>231</i>
<i>Annexe 3 : Campagnes d'hydrochimie, puits analysés et résultats .....</i>	<i>261</i>
<i>Annexe 4 : Test de Mann Whitney .....</i>	<i>267</i>
<i>Annexe 5 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage passif à la fluorescéine en présence du biofilm .....</i>	<i>269</i>
<i>Annexe 6 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage réactif (TR) aux nitrates en présence du biofilm .....</i>	<i>273</i>
<i>Annexe 7 : Schéma de discrétisation des différents modèles.....</i>	<i>277</i>
<i>Annexe 8 : Algorithme de Thomas .....</i>	<i>285</i>
<i>Annexe 9 : Cinétiques d'ordre 0.....</i>	<i>287</i>











**Annexe 1 : Faciès sédimentaires rencontrés au droit du SEH d'après Gaumet et al. (2005). Logs séquentiel temps établis sur les carottés C1 et C2.**





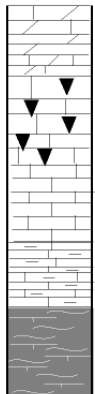
# LEGEND

## Structural Keys

	Crushed Band	<b>CB:</b> Crushed band
	Vertical/Horizontal large/small fracture (non opened, non cemented)	<b>F:</b> Fault
	Oblique fracture/Normal fault	<b>H, V:</b> Horizontal, Vertical fracture
	Sedimentary/tectonic/conjugated stylolites	<b>Ch:</b> Chert
	Vug	<b>Vg:</b> Vug
	Fractured chert	<b>St:</b> Stylolithe
	Hydraulic fracture between slaty levels	<b>Fh:</b> Hydraulic fracture
	Crushed/anastomosed fracture zone	<b>Dif:</b> Dif fracturing

## Sedimentological Keys

### Lithology



Dolomite / Dolomitized Lmst.  
 Silicified Lmst. / Cherty Lmst.  
 Limestone  
 Argillaceous Limestone  
 Marls / Marly Lmst.



























### Facies



Barrier (rimmed platform)  
 Transition (external platform to barrier)  
 Shallow external platform  
 External platform  
 Deep external platform / Deep lagoon  
 Basin

### Texture

M: Mudstone  
 W: Wackstone  
 μP: Micro-packstone  
 P: Packstone  
 G: Grainstone  
 R: Rudstone

	Ooids / oolites		Plant / wood debris
	Oncoids / Oncolithes		Crinoid debris
	Peloids / Gravels		Entroques
	Pellets		Brachiopod
	Serpulids		Trichites
	Grain-fill burrows		Bioclasts
	Thalassinoides		Endobenthic bivalve
	Planolites		Bivalve
	Undet. burrows		Oyster
	Bioturbated surface		Solitary coral
	Ravinement surface		Bryozoan
			Bulbous coral
			Silicisponge
			Belemnite (rostre)
			Ammonite







18 **Abstract**

19 Fractured karstic aquifers are well known to conceal channelled flows with sometimes very few  
20 productive water bearing bodies compared with the whole volume of the system. This work  
21 investigates the capabilities of the association of water temperature and flow logs in wells to reveal the  
22 structure of these channelled flows. It is shown that the comparison between temperature and flow log  
23 data brings more information and brakes down more uncertainty on water circulation than each  
24 technique alone. For example, temperatures indicate the origin of water (e.g., shallow versus deep)  
25 which is not viewed by flow logs. On the other hand, complex temperature profiles due to the  
26 interception by a well of several productive layers are better explained when local flow directions are  
27 provided by flow logs. Temperature and flow logs discussed in this work are performed under various  
28 hydrodynamic conditions from ambient flow to radial forced flow at the large scale. The results show  
29 up the incidence of these hydrodynamic conditions on triggering and/or modifying the connections  
30 between different water bearing bodies. In the end, the association of temperature and flow logs  
31 reveals a handy and cheap tool, well suited to grasp the complex structure of flow in fractured karstic  
32 aquifers. Knowing this structure is a key fact for the further definition of macroscopic flow and  
33 transport properties when water resources exploitation and management are envisioned.

34

35 **Introduction**

36

37 Solute transport is usually reputed much more sensitive to heterogeneity than pressure heads  
38 (Tsang and Neretnieks, 1998). This makes many authors to consider that the conception and then the  
39 validation of any numerical model of transport, especially in fractured rocks, need to rely on  
40 conditioning by in situ measures characterizing both the geometry and the hydrodynamic properties of  
41 a reservoir. Thus, it is still useful and challenging to develop handy methodologies to sample relevant  
42 data for the conditioning and the parameterization of models applied to real-life studies. Along this  
43 track, it is welcomed to discriminate data able to reveal the structure of flow and preferential  
44 connections. In fractured rocks, these features condition the permeability values at various scales and  
45 the characteristic times of transfers (Sanchez-Vila et al., 1996).

46 Hydraulic tests in wells (dealing with pressure or tracers) by using packers to insulate some  
47 layers should partially answer the question of locating preferential flows (Bourke, 1987; Cacas et al.,  
48 1990; Birgersson et al., 1993; Abelin et al., 1994). Actually, these tests are often cumbersome to set  
49 up, so that other techniques are used to mark conductive layers and then, when really needed (e.g., for  
50 the purpose of identifying local hydraulic conductivity), packers are installed. It must be also raised  
51 that packers are not really adapted to wells with rough and unstable walls, as is the case for the karstic  
52 and fractured limestone discussed in this work. As noticed by Neuman (2005), the tests with packers  
53 are now progressively amended and/or replaced by high-resolution flow logs in wells. This technique,  
54 by imaging the local water velocities in wells, helps to locate hydraulically active zones and to  
55 estimate pressure-head differences and transmissivities (Hess, 1986; Paillet and Reese, 2000; Paillet,  
56 2001; Le Borgne et al., 2006a; Audouin et al., 2008). Even though flow logs yield quantitative  
57 appraisal of fluxes and hydraulic properties of main flow paths, they do not qualify the sources feeding  
58 the different productive zones. In a fractured karstic system with flow paths of high velocity, getting  
59 information on the origin of waters may become relevant. For instance, the channeled flows may bring  
60 very rapidly water from the surface to depth and conversely. Tracing these flows may also reveal  
61 direct connections between distant wells. All this has some importance when for example it is  
62 envisioned to delimit perimeters of restricted activity for the sake of safety of water catchment areas.

63           Within this context of better understanding localized flows and their structure, the water  
64 temperature is often overlooked, though it is a data quite simple to get. Basically, it is sought and then  
65 discussed on the deformation of the local geothermal gradient. For a well free of significant localized  
66 inlets-outlets of water, the fluid temperature increases linearly with depth according to an equilibration  
67 with the geothermal gradient of host rocks. However, when a borehole intercepts local structures,  
68 hydraulically actives and generating non negligible flows, the vertical distribution of temperatures can  
69 be perturbed (Keys, 1990). With a rigorous logging, i.e. accurate measures with very short sampling  
70 times and a slow descent of the probe, recorded profiles of temperature provide reliable information on  
71 the dynamics of a reservoir. A classical application of temperature measurements is to locate feeding  
72 and draining zones along a well by detection of anomalies along the temperature profile (Trainer,  
73 1968; Drury, 1989; Barton et al., 1995; Khristoforova and Khritoforov, 2006). The interpretation of  
74 isotherms also inform on local head gradients and vertical flows in wells (Keys, 1990; Bidaux and  
75 Drogue, 1993). Some authors have thus proposed various abacus curves for estimating vertical water  
76 velocity from temperature distribution in wells (Cartwright, 1979; Taniguchi, 1993; Ge, 1998; Reiter,  
77 2001).

78           In fractured rocks, just a few studies have dealt with cross-borehole investigations by means of  
79 temperature records. These studies revealed very interesting by witnessing connections between  
80 distant locations. For example, Silliman and Robinson (1989) insulated a fractured zone intercepting a  
81 well and then injected water inside. At the same time, the fluid temperature was monitored in a well,  
82 18 m apart from the injection well. The monitored well showed an anomaly of temperature signing the  
83 connection between the fractured zone of the injected well and a layer at 82 m depth in the observed  
84 well. While studying temperature profiles in a fissured chalk aquifer, Schürch and Buckley (2002),  
85 denoted rapid connections between a pumped well and observed ones for lag distances up to 300 m.  
86 These connections were interpreted as preferential flow along a stratigraphic discontinuity.

87           The work proposed below wants to investigate the potential of temperature logging to reveal  
88 flow structures in the karstic and fractured limestone of the Hydrogeological Experimental Site (HES)  
89 of the University of Poitiers – France. Moreover, the comparison between temperature profiles and  
90 flow logs highlights the added value of temperatures able to damp uncertainties from the interpretation

91 of flow log when corrections due to borehole diameter variations are not available. The experiments  
92 are carried out under various hydrodynamic conditions, i.e., ambient flow, local forced flow (at the  
93 scale of the well), generalized forced flow (at the scale of the site) to check the influence of these  
94 conditions on vertical exchanges in wells. It is also discussed on the capability of temperature profiles  
95 to show up: 1- the origin of circulating waters, 2- the eventual connections between structures  
96 intercepted by a well; 3- the connection of a well with its close environment and with other wells. A  
97 dozen of wells at the HES have been logged for both temperature and local inflows-outflows but the  
98 results discussed in this work sum up the observations from only four wells. These wells can be  
99 considered as a good image of all the different kinds of responses recorded at the HES.

100

101 **HES presentation: geological context, hydraulic and structural settings**

102

103 The University of Poitiers has a Hydrogeological Experimental Site (HES) built nearby the  
104 Campus for the sole purpose of providing facilities to develop long-term monitoring and experiments  
105 for a better understanding of flow and transfers in fractured rocks. The HES is located within a  
106 geological area called "The Poitou Threshold", making the transition between two large Mesozoic-  
107 Cenozoic sedimentary basins: the Paris basin to the North and the Aquitaine basin to the South. The  
108 Poitou Threshold is made of a thin series of Jurassic carbonates overlapping a bump in the Hercynian  
109 basement of crystalline rocks. Two limestone aquifers of regional extent develop in the Jurassic  
110 carbonate series, from bottom to top: (i) the lower and middle-Lias aquifer (5-200m thick), and (ii) the  
111 Dogger aquifer (50-200m thick). These two aquifers are separated by a Toarcian aquitard of 5-20m  
112 thickness made of marls with low-permeability. Most of the investigations performed at the HES  
113 target the Dogger aquifer which is in this area 100m thick and confined beneath 10-25 m of Tertiary  
114 clays. About 35 wells spatially distributed as nested five-spots have been drilled over the whole  
115 thickness of the Dogger limestone. They are all open boreholes, sometimes with an important length  
116 of screened PVC casing to avoid the collapse of the bore walls. The upper part of the wells in the  
117 tertiary clays is steel cased (but not cemented) to avoid eventual excessive leaks from the surface and  
118 the clays. Figure 1 shows the distribution of the wells at the site and highlights the monitored wells

119 (M5, MP7, M20, M22) and the distant pumping well (M7) selected to illustrate the results detailed in  
120 this study.

121 The wells have been drilled in two campaigns (for the sake funds availability), each followed  
122 by a series of hydraulic interference tests to evaluate the properties of the fractured aquifer. These  
123 tests performed in 2004 and 2005 reveal a highly variable well-productivity ranging from 1 to 200  
124  $\text{m}^3\text{h}^{-1}$  (Bernard et al., 2006). As pointed out by Kaczmaryk and Delay (2007a), the hydrodynamic  
125 behavior changes between 2004 and 2005. While 2004 drawdown curves at observed wells are clearly  
126 individualized and separated in time and amplitude according to the distance from the pumped well,  
127 2005 drawdown curves are merged together in time and amplitude whatever the lag distance.  
128 Kaczmaryk and Delay (2007a) interpreted the merging of the drawdown curves as the consequence of  
129 a very rapid propagation of the pressure head depletion through preferential flow-paths. Ancient  
130 karstic channels would have been unclogged by the forced flow of the 2004 pumping campaign and by  
131 the drilling works between 2004 and 2005. At the large scale however, the aquifer still behaves as  
132 regard flow as a continuous medium (Kaczmaryk and Delay, 2007b; Riva et al., 2009).

133 Several attempts to characterize the structural heterogeneity of the aquifer were undertaken by  
134 means of hydrogeophysical techniques. The inter-comparisons between data from flowmeter testing  
135 and borehole optic imaging indicate that the main flow paths are mostly concealed within thin sub-  
136 horizontal layers riddled with karstic channels and along sub-vertical fractures. The general three-  
137 dimensional structure of these highly-permeable features can be imaged as a set of sub-horizontal  
138 karstic networks unevenly developed at 50, 85 and 115 m depth and interconnected by sub-vertical  
139 fractures and by the boreholes themselves (Audouin et al., 2008). Mari et al. (2009), achieved 3D  
140 reflection seismic surveys to obtain a block of seismic pseudo velocities. These velocities were  
141 transformed into porosity assuming that the higher the velocity, the lower the porosity. The raw block  
142 was then thresholded to get porosity cut-offs separating widely open features from a dense matrix. The  
143 bodies of a given porosity threshold were compared to hydrogeological data. The low velocity – high  
144 porosity zones superimpose onto the thin conductive layers mentioned above. They also reveal  
145 preferential connections between wells and an additional karstic network at 30 m depth, hardly visible  
146 by hydraulic testing and optic imaging of the wells because of the steel casing (Fig. 2).

147

148 **Methods and field data acquisition**

149

150 *Fluid temperature and conductivity logs*

151

152 Fluid logs were carried out in June 2007 (TEMP1) and November 2007 (TEMP2) under both  
153 ambient and forced flow conditions (Table 1). Forced flow conditions can be summed up as follows.  
154 For TEMP1 data, the forced flow is generated by a short-time pumping in the monitored wells at a  
155 flow rate of about  $11 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ . These Pumping in Monitored Wells (PMW) conditions produce a local  
156 radial convergent flow in the close vicinity of the monitored wells, say, a 1 m radius around the well.  
157 The fluid data acquisition is started half an hour after the beginning of the pumping. On the other  
158 hand, the forced flow generated for the TEMP2 set of data is the consequence of a long-time Pumping  
159 in a Distant Well M7 (PDW) at a flow rate of about  $40 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ . The consequence of such a pumping in  
160 M7 (see location in Fig. 1) is to generate a radial convergent flow at the scale of the site. The fluid  
161 data records in monitored wells are started one month after the beginning of the pumping to ensure  
162 quasi steady-state conditions. Note that the well M7 is characterized by a main inflow at 88 m depth  
163 (Audouin, 2007).

164 A multi-parameter probe measuring both temperature and electrical conductivity was dived  
165 into each monitored well at a velocity of  $2 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ , slow enough to not disturb the water column  
166 (Keys, 1990). The probe ensures temperature and conductivity readings with a precision of  $0.1^\circ\text{C}$  and  
167  $2 \text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , respectively. The specific conductance at  $25^\circ\text{C}$  is recalculated on the basis of the  
168 conductivity value measured in water at the current *in-situ* temperature. Non-productive wells M1 and  
169 M14, obviously not subjected to eventual vertical flows, were used as references to evaluate the local  
170 geothermal gradient which is of  $2.5^\circ\text{C}/100\text{m}$  (Fig. 3). The interpretation of temperature data is based  
171 on the inter-comparison of their gradient along the wells for the different hydrodynamic conditions  
172 mentioned above. Figure 4 sketches the temperature and flow log responses under two simple flow  
173 conditions in a well. In the first case, the hydraulic head difference between two conductive layers  
174 induces downward flow. A cold temperature signing the shallow inflow is measured along the

7

175 borehole down to the deep outflow. In the sequel, this anomaly will be referred to as a negative  
176 anomaly. Conversely, the second case in Figure 4 indicates upward flow from a deep inflow to a  
177 shallow outflow. Since the equilibrium temperature in depth is higher than at the surface, a constant  
178 profile of anomalous high values is measured between the two conductive layers. This anomaly is  
179 referred to as positive in the following.

180

#### 181 *Heat-pulse flowmeter logs*

182

183         Since the mid-eighties (Hess, 1986), heat-pulse flowmeters have been widely used either in  
184 ambient or in forced flow conditions to detect flowing fractures and to characterize the hydraulic  
185 properties of the main flow paths (Hess, 1986; Paillet, 1998; Le Borgne et al., 2006a; Le Borgne et al.,  
186 2006b). The basic principle consists in measuring the elapsed time for a heat pulse to travel from its  
187 source (heat grid) to thermistors located 5 cm above and below the grid. To increase the sensitivity of  
188 the tool, it is possible to use diverters of different diameters concentrating flow into the measure cell.  
189 In any case, a calibration curve has to be drawn to convert the measured vertical flow velocities into  
190 flow rates. Obviously, this curve depends on the borehole diameter and on the specifications of the  
191 tool used to record the flight times of heat pulses. The calibration is obtained by measuring stabilized  
192 (steady-state) flow velocities in the well above all water inflows and for several fixed pumped rates in  
193 the well. In general, the heat pulse flowmeter can measure flow velocities down to  $10^{-3}$  m.s<sup>-1</sup> which  
194 corresponds to a minimum of flow rate of about one to a few liters per minute.

195         The so-called “single-borehole flowmeter test” method consists usually in measuring flow,  
196 both in ambient conditions and while pumping the monitored well at a constant rate within 30 to 60  
197 l.min<sup>-1</sup> depending on the borehole diameter. Measurements are performed once the hydraulic head is  
198 stabilized so that steady-state flow conditions can be assumed (Paillet, 1998). In the present work,  
199 these single-borehole tests correspond to hydraulic conditions referred to as ambient and PMW  
200 conditions. Transient cross-borehole flowmeter tests can also be achieved by measuring at a given  
201 depth the change in time of flow as a response to pumping in a distant well. In this study it is not dealt



202 with transient responses to distant pumping. But as told earlier, PDW measurements correspond to  
203 long-term cross-borehole tests under quasi steady-state flow conditions.

204 Heat pulse flowmeter logs were achieved during two major campaigns. The first one (HPF1),  
205 between July 2003 and December 2005, was carried out under ambient and PMW hydraulic conditions  
206 at a pumping rate of  $3 - 4 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$  (Audouin et al., 2008). At that time, no diverters were used with the  
207 consequence of being unable to detect ambient flow in most wells because of the too large diameter of  
208 the boreholes (Table 1). Only the MP7 well was subject to measurable vertical flow under ambient  
209 condition. The second campaign (HPF2) was performed simultaneously to the TEMP2 fluid logs  
210 under PDW conditions (Table1). The HPF2 measures used diverters to improve sensitivity (see above)  
211 but for both campaigns (HPF1, HPF2) caliper data are lacking to rectify flow logs according to  
212 borehole diameter variations. This is not a severe drawback in the present case since flow logs are  
213 used for the purpose of comparison – discussion with temperature measurements. Here, flow logs  
214 interpretation focuses on the detection of permeable levels and on the determination of local flow  
215 directions whereas the identification of hydraulic properties of the main conductive layers is  
216 overlooked.

217

#### 218 **Fluid temperature and flow logs: a comparative analysis**

219

##### 220 *Borehole MP7*

221

222 Whatever the flow conditions (ambient or forced) and depth, the temperature profiles remain  
223 constant at  $13^\circ\text{C}$  (Figure 5). This negative anomaly witnesses a downward flow from a shallow inflow  
224 (30 – 40 m depth) to an outflow deeper than 112 m. Flowmeter data support this analysis. However,  
225 flowmeter data locate the shallow inflow around 40 m depth whereas fluid temperature data show a  
226 constant profile from 33 m down to bottom. This gap might be caused by the steel casing which  
227 prevents flow log data acquisition whereas the high thermal conductivity of steel does not screen  
228 temperature values due to flow outside the casing. Under ambient conditions, the shallow inflow has a  
229 mean specific conductance of  $700 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . When PDW is launched, the flow rate in MP7 is largely

9

230 increased while the specific conductance slightly decreases to  $690 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  and the fluid temperature  
231 does not change.

232           Considering now the PMW results, the steadiness of the profile at  $13^\circ\text{C}$  can be explained  
233 twofold. On the one hand, the pumping rate of  $11 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$  of PMW conditions for temperature  
234 monitoring might be not strong enough to counterbalance the ambient flow (as is exceptionally the  
235 case for PMW flow logs performed at  $3 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$  at this well). Thus, the fluid characteristics still remain  
236 that of the shallow inflow. On the other hand, the PMW at  $11 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$  may be assumed strong enough to  
237 induce an upward flow, as is the case for most wells of the site. This assumption means that, the 112 m  
238 level is fed with shallow water at  $13^\circ\text{C}$  percolating down to the deep level. Flow log performed under  
239 PMW conditions at  $11 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$  would be required to choose between both interpretations.

240

241 *Borehole M5*

242

243           The PDW log in Figure 6 shows a constant temperature profile at  $12.9^\circ\text{C}$ . Similarly to  
244 borehole MP7, this negative anomaly is induced by a downward flow from a shallow inflow (30 –  
245 35m) to a deep outflow (115 m). The specific conductance is constant at  $712 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Under ambient  
246 and PMW conditions, temperature logs still remain constant but the temperature value increases to  
247  $13.8^\circ\text{C}$  between 33 and 112 m depth. The specific conductance under ambient and PMW conditions is  
248 constant along the well at  $702 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Differences of temperature between the different general flow  
249 conditions sign a change in the flow direction along the well. Flow was downward with PDW whereas  
250 ambient and PMW conditions yield upward flow. It is important to note however that  $13.8^\circ\text{C}$   
251 temperature of upward flow is less than that of equilibrium for a deep inlet at 115m ( $\approx 14,8^\circ\text{C}$ ). This  
252 anomalous cold temperature associated with deep water could result from the existence in the vicinity  
253 of M5 of a fracture network with vertical pressure-head differences able to feed the 115 level with  
254 shallower water.

255           The flow logs support the flow directions determined by temperatures but they also show up  
256 more on the main flow paths structures. Actually, PMW and PDW flow logs point out a conductive  
257 layer between 70 and 80 m depth but not signed by any temperature variations. Under PMW

258 conditions, one may argue that the 70 – 80 m inflow rate revealed by the flow log is negligible  
259 compared with the 115 m one. However, under PDW conditions, the log indicates that half of the total  
260 flow rate is produced by the 70 – 80 m inlet. Therefore, the water feeding the 70 – 80 level is colder  
261 than expected from an equilibration with surrounding rocks. This level has a temperature (12.9, see  
262 above) typical of a 30 – 35 m shallow level.

263

#### 264 *Borehole M22*

265

266 According to temperature logs (Figure 7), three main conductive layers are determined at 47  
267 – 52 m, 77 – 81 m and below 110 m depth. The first one is located just beneath the steel casing and is  
268 not detected by flowmeter. The second one is marked by a sharp discontinuity in the ambient  
269 temperature profile. Flowmeter measures clarify the depth of the bottom conductive layer with a signal  
270 at 112 m. Flowmeter data from PDW show a slight outflow between 60 – 70 m.

271 Along the whole profile, both PMW and PDW show constant temperature at 14.7 °C and 14.2  
272 °C, respectively. Under PMW conditions, an upward flow along the entire borehole is supported by  
273 both equilibrated deep water temperature and flowmeter data. The lack of temperature variations at 77  
274 – 81 m and 52 m might be induced by anomalous warm water flowing at 77 – 81 m (temperature equal  
275 to that of a 110 m inflow) and a 52 m inflow rate negligible compared with the others. This  
276 assumption is consistent with the anomalous warm temperature measured at 70 m in the close  
277 borehole M2 (data not reported here) and with the flow rate proportions given by PMW flow logs.

278 Given the above assumption, the PDW temperature profile which indicates a drop of 0.5°C  
279 (14.7 → 14.2) should testify of downward flow along the whole profile. The PDW flow log refutes  
280 this assumption with evidence of upward flow all along the well. Therefore, the long-term  
281 hydrodynamic conditions of PDW (generating a convergent steady-state flow) alter the current  
282 temperature of the 110 level by mixing the original water at 14.7 °C with colder sources. A variation is  
283 also recorded for the specific conductance with an increase from 640 to 685  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  when the deep  
284 inflow is mixed.

285           If it is dealt now with the temperature profile in ambient flow conditions, the example of well  
286 M22 clearly demonstrates that sometimes, without flow log data, temperature profiles may lead to  
287 several interpretations. Here three assumptions are consistent with temperature data. First, the ambient  
288 profile might show up upward flow along the whole borehole with a major inflow at 110 m, a major  
289 outflow at 77 – 81 m and subsidiary outflow at 47 – 52m. Between the levels 77 – 81 and 47 – 52,  
290 withdraw of the warm water coming from below re-equilibrates temperatures to a smaller value. The  
291 second assumption is that the level 77 – 81 still behaves as an outflow but drains water from both  
292 levels at 110 m and 47 – 52 m. Given the constant but anomalously high temperature between 50 m  
293 and 80 m, the conductive level 47 – 52 would be fed with warm water coming from a deeper level (as  
294 is measured in the close M2 well). The third assumption is that of a downward flow along the whole  
295 borehole with inflows at 47 – 52 and 77 – 81 feeding the 110 m outflow. As for the second  
296 assumption, the shallow inflow at 47 – 52 m would not be equilibrated with surroundings rocks but  
297 supplied with warmer water coming from a deeper level.

298           As told earlier, without flow log measurements in ambient conditions (not available at this  
299 well), the temperature profile alone may yield under determination of flow directions between  
300 intercepted conductive layers.

301

#### 302 *Borehole M20*

303

304           In view of all temperature logs available (Figure 8), the major conductive layers are located at:  
305 37 – 40 m, 47 – 51 m, 55 – 59 m, 83 – 87 m and 100 – 105 m depth. Under ambient and PDW  
306 hydrodynamic conditions, all these layers behave as inflows except the deepest at 105 m which  
307 evacuates water from the well. Compared to the inflow temperatures given by the PMW log (Figure  
308 8), it seems that the general downward flow rate is dominated by the inflows above 60 m depth. The  
309 gap of 0.2°C and 25  $\mu\text{S}/\text{cm}$  observed below 86 m depth between ambient-PMW on the one hand and  
310 PDW on the other hand supposes that the rate of inflow at 83 – 87 m increases during distant pumping  
311 stress.

312 Even though the PDW flow log is in agreement with a general downward flow, some  
313 discrepancies appear about inflow/outflow determination. The flow log interpretation suggests that the  
314 83 – 87 level behaves as an outflow while temperature and conductivity logs advocate for an inflow.  
315 This divergence of interpretation is related to the structural characteristics of the borehole itself.  
316 Borehole imaging of M20 performed by (Audouin, 2007) revealed wide open karstic channels (1 to 2  
317 m aperture) intercepted by the well at 83 – 87 m and also important but not measured variations of the  
318 borehole diameter. The fluid velocity variation measured at the intersection between the well and the  
319 drains is here probably much than elsewhere due to a local increase of the open section available to  
320 flow. Since flow log measures are not corrected as regard the borehole diameter variations, the  
321 decrease of flow velocity may be erroneously interpreted as an outflow at 83 – 87 m. The borehole  
322 diameter effect on flow log measures is here sufficient to hide the inflow detected by temperature and  
323 conductivity logs.

324

## 325 **Discussion on results**

326

### 327 *Main flow paths detection and relative hydraulic head determination*

328

329 The analysis of temperature profiles at the HES confirms the existence of three main  
330 horizontal layers of preferential flow at: 50, 85 and 110 m depth. These horizontal structures had been  
331 detected already by flowmeter measurements. The new determination by means of temperature  
332 profiles is reliable provided that measures are performed under different hydrodynamic conditions  
333 (ambient flow, local forced flow, general forced flow).

334 The work by Mari et al. (2009) on seismic pseudo-velocities exhibits an additional layer of  
335 preferential flow at 30 – 35 m which was not detected by flow logs. Temperatures spot this layer  
336 (wells MP7 and M5) because the steel casing of the wells does not prohibit thermal conduction due to  
337 flow outside of the casing (between the casing and host rocks). Obviously this conduction would  
338 vanish with casings cemented to the host rocks.

339           Using temperature profiles for the identification of flow structures may suffer however from  
340 discrepancies and limitations due to the local hydrogeological context. Actually, a quite constant  
341 temperature with depth indicates vertical flow and thus, contrasts in hydraulic head values between the  
342 horizontal layers of preferential flow. One may consider that these vertical connections, even  
343 facilitated and probably biased by the bored wells, would however occur in a reservoir free of human  
344 fingerprints. These vertical flows would develop along vertical fractures (some have been identified by  
345 Audouin (2007)), but the fluid velocity along these fractures is hardly affordable, except when a well  
346 is close to the fracture. In this case, it remains however impossible to assert that the close vicinity of  
347 the well does not generate artifacts in vertical percolations.

348           All temperatures monitored at the site make lean toward the assumption of rapid vertical  
349 velocities avoiding the equilibration of the water temperature with the percolated host rocks. Two  
350 water inlets at different depths may then bear the same thermal signature. This is observed at well M5  
351 between the producing layers at 30 – 35 and 70 – 80 m depth. In this specific case, these two layers are  
352 at higher hydraulic head than the bottom layer at 115 m. Therefore, a vertical flow along the well  
353 develops from 30 – 35 m down to 115 m and screens the level 70 – 80.

354           According to ongoing and obviously unpublished works at the site dealing with transient  
355 cross-borehole flow logs, the main structures for flow (channels, conduits and fractures) would have a  
356 transmissivity on the order of  $1 \times 10^{-3}$  -  $2 \times 10^{-2}$   $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ . These high values of transmissivities associated  
357 with quite small storage capacity would make the reservoir very diffusive and thus very sensitive to  
358 slight variations of heads. For instance, head oscillations due to the variations of the barometric  
359 pressure could result in measurable fluid velocities. As a consequence, it is not sure that each data set  
360 was measured under exactly the same conditions. This is especially true for ambient and PDW  
361 assumed as pseudo steady-state conditions but for which variations could slightly modify the hydraulic  
362 head distributions. However, previous works at the HES (Bernard and Delay, 2008) dealing with the  
363 influence of barometric pressure variations and hearth tides on hydraulic head did not reveal head  
364 variations able to reverse local flows. It remains that temperature and flow logs can be slightly  
365 perturbed by barometric pressure or any other external constraint able to slightly modify the local head  
366 gradients. In other words, the same exact measurements at a well are not repeatable.

367 Analyzing a temperature profile allows to identify head variations if a hydraulic gradient  
368 exists already; otherwise it is reminded that the temperature profile is that of the geothermal gradient.  
369 A profile with even temperatures holds the signature of the water level with the highest pressure head.  
370 Because of some anomalies in the thermal signature (evoked above), the comparison between  
371 temperature profiles recorded under different hydrodynamic conditions may be insufficient to  
372 determine the direction of flow. This problem is raised by the example of the well MP7 under PMW  
373 conditions and the well M22 under ambient and PDW conditions. In addition, high transmissivity  
374 values usually yield weak head gradients easily reversed from one location to the other because of  
375 local specific features. This is why, for two wells separated by a lag distance of 100 m only, vertical  
376 flow along these wells between the same horizontal intercepted layers may show opposite directions.  
377 Thus, a vertical profile of temperature in a well or the comparison between several profiles in different  
378 wells do not inform accurately on the regional head gradient.

379 In the end, identifying the main flow structures and their relative head pressures supposes that  
380 temperature data are associated and compared with other quantitative data, more precise but often  
381 cumbersome to collect as is the case of flow logs under various natural and forced flow conditions  
382 (ambient versus barometric variations or periods of high versus low water table; pumping at the  
383 monitored well versus in distant wells;...)

384

#### 385 *Preferential connections between boreholes*

386

387 The study of preferential connections between pumped and observed wells is based on two  
388 features, i.e., the flow direction and the modification of temperatures between ambient flow and  
389 pumping in a distant well (PDW) In this study, the distant pumped well M7 intercepts just a single  
390 productive layer at 88 m depth. For wells such as MP7, M20 and M5 which show variations of their  
391 temperature profiles when PDW conditions are effective, it is obvious that the 88 m level of M7 is  
392 connected with the bottom level at 115 m of the three distant wells. On the other hand, the well M22  
393 shows flow directions drawn from temperatures which are inconsistent with the thermal signatures  
394 under pumping stress. This latter case makes the joint use of flow log data inescapable. Flow logs

395 confirm the existence of a connection between the pumped well M7 and the level 45 m intercepted by  
396 M22. Finally, within a system subject to layered flow and inter-layer exchanges, like in the HES  
397 characterized by a highly karstic system with a large number of boreholes, the variability of  
398 preferential connections cannot be accurately reported by using PDW conditions only.

399

400 *Interaction between the main conductive layers in the vicinity of boreholes*

401

402            Provided that flow structures are spotted and the relative pressure head variations evaluated,  
403 the interpretation of anomalous thermal signatures becomes of great interest for understanding the  
404 exchanges between water bearing bodies. For instance, when the well M5 shows a deep inlet at 13.8  
405 °C instead of the expected 14.8 °C, there is no doubt that the feeding water at 115 m comes from an  
406 upper body. The same comment applies to the inlet of this well at 70 – 80 m. Another relevant  
407 example is that of the well M22 under PDW conditions. Under forced flow, the water temperature at  
408 115 m decreases of 0.5 °C compared with that under ambient flow. The pumping triggers a  
409 preferential connection between the level 115 m and a shallower one (about 20 m above, for the  
410 current geothermic gradient). On the other hand, the anomalous warm water of the 47 – 52 m inlet in  
411 ambient flow signs a partial feeding by deeper water.

412            Because of the rapid vertical exchanges between layers of preferential flow and yielding  
413 anomalous thermal signatures, temperature data reveal an original and reliable way to mark  
414 preferential connections. The water temperature becomes a measure aggregating the effects of  
415 preferential circulations, not only between a couple of wells but also within the neighborhood of each  
416 well.

417

#### 418 **Conclusion**

419

420            As reported by previous works and by the present joint interpretation of temperature and flow  
421 log data, flow in the karstic aquifer at the HES is complex with productive water bearing bodies  
422 representing a small portion of the total volume of the reservoir. In this context, flow is spatially



423 structured according to productive features more or less connected between each others. In the present  
424 case, flow mainly occurs through 3 – 4 thin horizontal layers riddled with karstic drains and also along  
425 vertical fractures. The existence of a vertical component to flow cannot be overlooked and vertical  
426 connection between the main productive layers is clearly witnessed by temperature logs. The mixing  
427 of water from different origins in a well crossing several productive layers generates an anomalous  
428 temperature profile compared with that expected from the general geothermal gradient.

429         At the HES, previous studies produced reliable results when interpreting large scale hydraulic  
430 tests. All these studies assumed a continuous aquifer with obviously a quite horizontal general flow.  
431 Even though this assumption seems well suited in the case of the large-scale radial forced flow of  
432 interference testing, "natural" ambient flow conditions reveal non-negligible vertical fluxes. Two  
433 thirds of the temperature profiles recorded at the HES show anomalies (Figure 9). The same comment  
434 would also apply to profile monitored under large-scale forced flow (e.g. by pumping in well M7, see  
435 Section : "Methods and data acquisition"). In other words, because the reservoir behaves as a classical  
436 continuous medium does not mean that vertical connections between preferential flowing features do  
437 not exist. It could be argued that these vertical fluxes are weak compared with horizontal ones and do  
438 not really bias, for instance, the evaluation of water fluxes that can be withdrawn from the aquifer by a  
439 pumping well. This assertion of non-bias no longer holds for solute (contaminant) motion. Non  
440 negligible and rapid connections along the vertical direction would be able to propagate contamination  
441 over the whole thickness of the aquifer whereas it is expected a superficial contamination from  
442 horizontal flow and a pollution leak from the surface.

443         The prime quality of temperature is to sign the origin of waters (shallow versus deep to make  
444 it simple) and this signature is really useful when associated with flow log measurements:

445         1- The origin of water is not viewed by flow logs but may inform on the fact that water  
446         flowing in a well comes from a deeper - shallower level than expected in view of  
447         velocities in the well. A simple example is that (experienced in this study, see above) of  
448         monitoring downward velocities from, e.g., 50 m to bottom but with a water at 13 °C  
449         coming from a 30 m depth layer not spotted by flow logs because of the well casing. A  
450         second example (also experienced) is to monitor upward flow from a deep level but

451 moving upward cold water. The deep level is thus fed by shallow water in an area distant  
452 from the monitored well.

453 2- When temperature and flow logs are monitored under different hydrodynamic conditions,  
454 a change in the temperature profile between two hydrodynamics settings may sign a  
455 modification of connections in the vicinity of the well. For example, the same ascending  
456 flow between two productive layers becomes colder because the deeper level for a given  
457 hydrodynamic configuration is fed, away from the monitored well, by water coming from  
458 a shallower level. Again, this feature is not viewed by flow logs.

459 Incidentally, temperature can also locate a water inlet not visible by flow logs but marked by heat  
460 conduction through the casing of the well. In the same vein, for wells with non-negligible variations in  
461 the borehole diameter, flow logs may interpret water velocity variations as inlets – outlets whereas  
462 these variations are the mere consequence of the section area available to flow (for the same flow  
463 rate). Calliper measurements should cure the problem by correcting flow data from borehole diameter  
464 variations. In karstified material with rough walls of boreholes and important diameter variations,  
465 these measures are rare for the simple reason that the risk of blocking and then losing the tool in this  
466 type of wells is important. In addition, if calliper measures were available, it is likely they would not  
467 be precise, especially where the well intercepts widely open karstic drains. In these conditions,  
468 temperature profiles may help to validate or invalidate assumptions stemming from the interpretation  
469 of water velocities in the well.

470 All the above arguments do not mean however that temperature logs are free from drawbacks.  
471 Actually, when flow in the well becomes complex because several inlets-outlets are intercepted, some  
472 of these levels may have the same thermal signature. The temperature profile may fulfil the flow  
473 settings of several different assumptions which can neither be validated nor discarded without flow log  
474 data. An example is for instance given by the well M22 under ambient general flow conditions (see  
475 section: "Fluid temperature and flow logs: a comparative analysis"). With the sole observation of  
476 temperature profiles, the occurrence of under determinations of the flow settings in a well is obviously  
477 increased by the number of productive levels intercepted by the well.

478           In the end, it can be advised to monitor both water temperature and water velocities in a well.  
479   First, this avoids, or more exactly reduces, the imprecision due to interpretation of temperature  
480   measurements alone. Second, temperature is a true added-value to flow logs. This added-value is also  
481   a good value for money since temperature monitoring is not expensive, relatively rapid and free from  
482   cumbersome calibrations which often hamper other techniques.

483           For the moment, it is hard to grasp whether or not the coupling of temperature and flow log  
484   may improve identifications of macroscopic hydrodynamic parameters in the context of complex  
485   structured flow. Further works are required to get the answer. It remains that coupled temperature and  
486   flow logs deserve to be performed more widely than they are now. Information on flow structure,  
487   often hardly affordable, probably draws our attention on eventual artifacts stemming from routine  
488   application of classical groundwater investigation techniques.

489

#### 490   **Acknowledgments**

491   The financial supports of this study by the Poitou-Charentes Water Research Program (CPER #1) and  
492   by the French National Observatory System (NOS) H+ are duly acknowledged.

493 **References**

494

495 Abelin, H. et al., 1994. Channeling experiments in crystalline fractured rocks. *Journal of Contaminant*  
496 *Hydrology*, 15: 129-158.

497 Audouin, O., 2007. Intégration-inversion de données géologiques et mesures hydrodynamiques in-situ  
498 pour le conditionnement d'un modèle 3D d'aquifère calcaire : Site Expérimental  
499 Hydrogéologique (SEH) de Poitiers, France. Thesis, Université de Poitiers, 201 pp.

500 Audouin, O., Bodin, J., Porel, G. and Bourbiaud, B., 2008. Flowpath structure in a limestone aquifer :  
501 multi-borehole logging investigations at the Hydrogeological Experimental Site of Poitiers,  
502 France. *Hydrogeology Journal*, 16(5): 939-950.

503 Barton, C.A., Zoback, M.D. and Moos, D., 1995. Fluid flow along potentially active faults in  
504 crystalline rocks. *Geology*, 23(8): 683-686.

505 Bernard, S. and Delay, F., 2008. Determination of porosity and storage capacity of a calcareous  
506 aquifer by correlation and spectral analyses of time series. *Hydrogeology Journal*, 16(7): 1299-  
507 1309.

508 Bernard, S., Delay, F. and Porel, G., 2006. A new method of data inversion for the identification of  
509 fractal characteristics and homogenization scale from hydraulic pumping tests in fractured  
510 aquifers. *Journal of Hydrology*, 328(3-4): 647-658.

511 Bidaux, P. and Drogue, C., 1993. Calculation of low-range flow velocities in fractured carbonate  
512 media from borehole hydrochemical logging data comparison with thermometric results.  
513 *Ground Water*, 31(1): 19-26.

514 Birgersson, L., Moreno, L., Neretnieks, I., Widén, H. and Agren, T., 1993. A tracer migration  
515 experiment in a small fracture zone in granite. *Water Resources Research*, 29(12): 3867-3878.

516 Bourke, P.J., 1987. Channeling of flow through fractures in rock, GEOVAL-87 International  
517 Symposium. Swed. Nucl. Power Insp. (SKI), Stockholm, pp. 20-32.

518 Cacas, M.C. et al., 1990. Modeling fracture flow with a stochastic discrete fracture network :  
519 Calibration and validation. 2. The transport Model. *Water Resources Research*, 26(3): 451-500.

- 520 Cartwright, K., 1979. Measurement of Fluid Velocity Using Temperature Profiles: Experimental  
521 Verification. In: W. Back and D.A. Stephenson (Editors), *Contemporary Hydrogeology*, 12.  
522 Development in Water Science. Elsevier, pp. 185-194.
- 523 Drury, M., 1989. Fluid flow in crystalline crust: detecting fracture by temperature logs. In: A.E. Beck,  
524 G. Garven and L. Stegena (Editors), *Hydrogeological Regimes and their subsurface thermal*  
525 *effects*, 27. Geophysical Monograph. American Geophysical Union, Washington, pp. 129-135.
- 526 Ge, S., 1998. Estimation of groundwater velocity in localized fracture zones from well temperature  
527 profiles. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 84: 93-101.
- 528 Hess, A.E., 1986. Identifying hydraulically conductive fractures with a slow velocity borehole  
529 flowmeter. *Canadian Geotechnical Journal*, 23: 69-78.
- 530 Kaczmaryk, A. and Delay, F., 2007a. Improving dual-porosity-medium approaches to account for  
531 karstic flow in a fractured limestone: Application to the automatic inversion of hydraulic  
532 interference tests (Hydrogeological Experimental Site, HES - Poitiers - France). *Journal of*  
533 *Hydrology*, 347(3-4): 391-403.
- 534 Kaczmaryk, A. and Delay, F., 2007b. Interference pumping tests in a fractured limestone (Poitiers -  
535 France): Inversion of data by means of dual medium approaches. *Journal of Hydrology*, 337(1-  
536 2): 133-146.
- 537 Keys, W.S., 1990. Borehole Geophysics Applied to Ground-Water Investigations. In: USGS (Editor),  
538 *Techniques of Water-Resources Investigations of the United States Geological Survey*, book 2,  
539 pp. 150.
- 540 Khristoforova, N.N. and Khritoforov, A.V., 2006. Fluid migration and location of fractured layers in  
541 the crystalline basement by temperature logging in the Volga Region, Russia. *Journal of*  
542 *Geochemical Exploration*, 89: 187-190.
- 543 Le Borgne, T., Bour, O., Paillet, F.L. and Caudal, J.-P., 2006a. Assessment of preferential flow path  
544 connectivity and hydraulic properties at single-borehole and cross-borehole scales in a fractured  
545 aquifer. *Journal of Hydrology*, 328: 347-359.
- 546 Le Borgne, T., Paillet, F.L., Bour, O. and Caudal, J.-P., 2006b. Cross-borehole flowmeter tests for  
547 transient heads in heterogeneous aquifers. *Ground Water*, 44(3): 444-452.

548 Mari, J.L., Porel, G. and Bourbiaud, B., 2009. From 3D seismic to 3D reservoir deterministic model  
549 thanks to logging data: the case study of a near surface heterogeneous aquifer. *Oil & Gas*  
550 *Science and Technology - Rev. IFP*, 64(2): 119-331.

551 Neuman, S.P., 2005. Trends, prospects and challenges in quantifying flow and transport through  
552 fractured rocks. *Hydrogeology Journal*, 13: 124-147.

553 Paillet, F.L., 1998. Flow modelling and permeability estimation using borehole flow logs in  
554 heterogeneous fractured formations. *Water Resources Research*, 34(5): 997-1010.

555 Paillet, F.L., 2001. Borehole geophysical applications in karst hydrogeology. U.S Geological Survey  
556 Karst Interest Group Proceedings, Water Resources Investigations, Report 01-4011: 116-123.

557 Paillet, F.L. and Reese, R.S., 2000. Integrating borehole logs and aquifer tests in aquifer  
558 characterization. *Ground Water*, 38(5): 713-725.

559 Reiter, M., 2001. Using precision temperature logs to estimate horizontal and vertical groundwater  
560 flow components. *Water Resources Research*, 37(3): 663-674.

561 Riva, M., Guadagnini, A., Bodin, J. and Delay, F., 2009. Characterization of the Hydrogeological  
562 Experimental Site of Poitiers (France) by stochastic well testing analysis. *Journal of Hydrology*.

563 Sanchez-Vila, X., Carrera, J. and Girardi, J.P., 1996. Scale effects in transmissivity. *Journal of*  
564 *Hydrology*, 183(1-2): 1-22.

565 Schürch, M. and Buckley, D., 2002. Integrating geophysical and hydrochemical borehole-log  
566 measurements to characterize the Chalk aquifer, Berkshire, United Kingdom. *Hydrogeology*  
567 *Journal*, 10: 610-627.

568 Silliman, S. and Robinson, R., 1989. Identifying fracture interconnections between boreholes using  
569 natural temperature profiling: I. Conceptual Basis. *Ground Water*, 27(3): 393-402.

570 Taniguchi, M., 1993. Evaluation of vertical groundwater flux and thermal properties of aquifers based  
571 on transient temperature-depth profiles. *Water Resources Research*, 29(7): 2021-2026.

572 Trainer, F.W., 1968. Temperature profile in water wells as indicators of bedrocks fracture. USGS,  
573 Professional Paper, 600-B, Washington.

574 Tsang, C.F. and Neretnieks, I., 1998. Flow channeling in heterogeneous fractures rocks. *Reviews of*  
575 *Geophysics*, 36(2): 275-298.

576 **Figure captions**

577 Figure 1. Wells set up in nested five-spots at the experimental site in Poitiers. Empty circle = the  
578 selected monitored wells discussed in this work

579

580 Figure 2. 3-D porosity blocks calculated from seismic pseudo-velocities. The red arrows indicate the  
581 North direction. Top left: raw porosity block (no threshold). Top right: compact rocks and  
582 shales (porosity < 10%). Down left: porous bodies (porosity  $\geq$  10%). Down right: karstic  
583 bodies (porosity  $\geq$  30%).

584

585 Figure 3. Local geothermal gradient measured in non productive wells M1 and M14.

586

587 Figure 4. Simple examples of temperature profiles and flow logs for descending or ascending flow  
588 between two conductive layers intercepted by a well.

589

590 Figure 5. Fluid temperature, specific conductance and flow logs in borehole MP7 under different  
591 hydrodynamic conditions. During HPF1 campaign, PMW pumping rate was not strong  
592 enough to inverse ambient downward flow; flow log data are not shown.

593

594 Figure 6. Fluid temperature, specific conductance and flow logs in borehole M5 under different  
595 hydrodynamic conditions. Ambient flow log is not reported, i.e. lack of vertical measurable  
596 flow.

597

598 Figure 7. Fluid temperature and flow logs in borehole M22 under different hydrodynamic conditions.  
599 Ambient flow log is not reported, i.e. lack of vertical measurable flow.

600

601 Figure 8. Fluid temperature and flow logs in borehole M20 under different hydrodynamic conditions.

602

603 Figure 9. Location of wells with anomalous temperature profiles under ambient flow conditions and  
604 signing non-negligible vertical flow components. Circles: temperature profiles following the  
605 geothermal gradient; filled black circles: anomalous temperature profiles, filled grey circles:  
606 no temperature data available.

607

608

609 **Table captions**

610 Table 1. Hydrodynamic conditions of loggings. (1) = TEMP1, (2) = TEMP2, (3) = HPF1, (4) = HPF2.

611

612

613

614



Figure 1  
Click here to download high resolution image

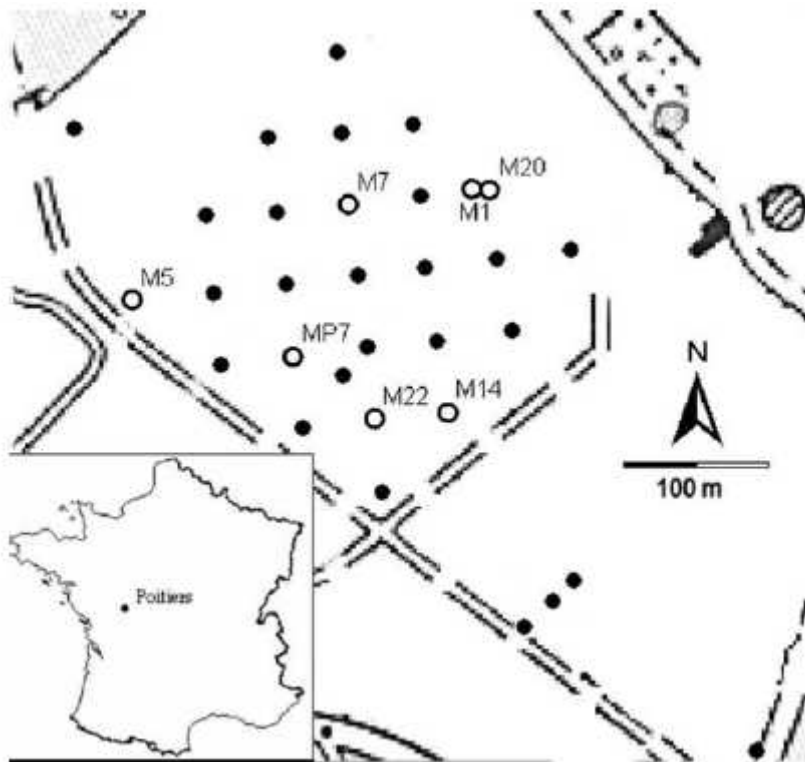


Figure 2

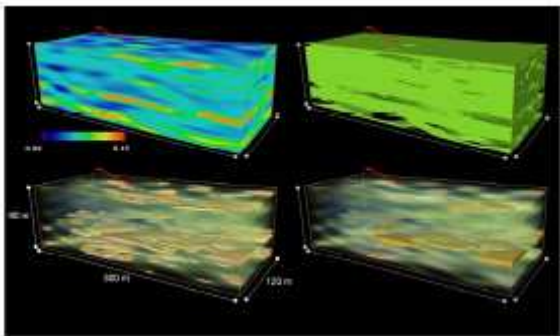


Figure 3 Temperature (°C)

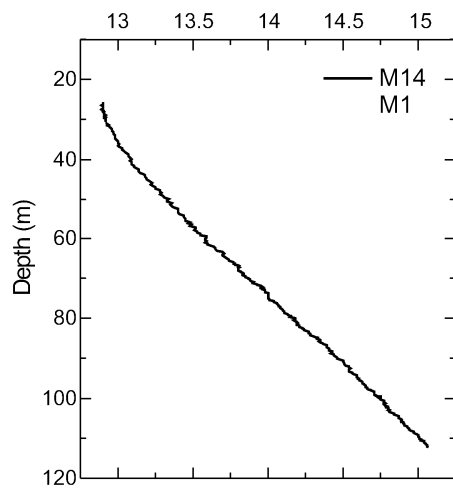


Figure 4

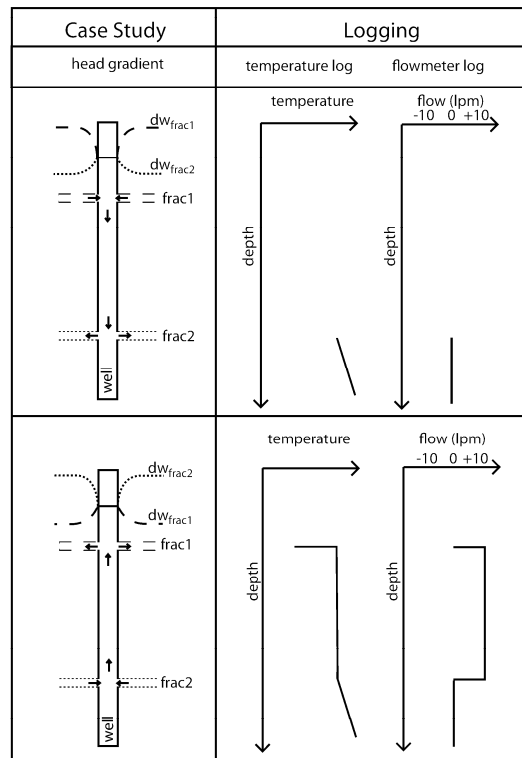


Figure 5

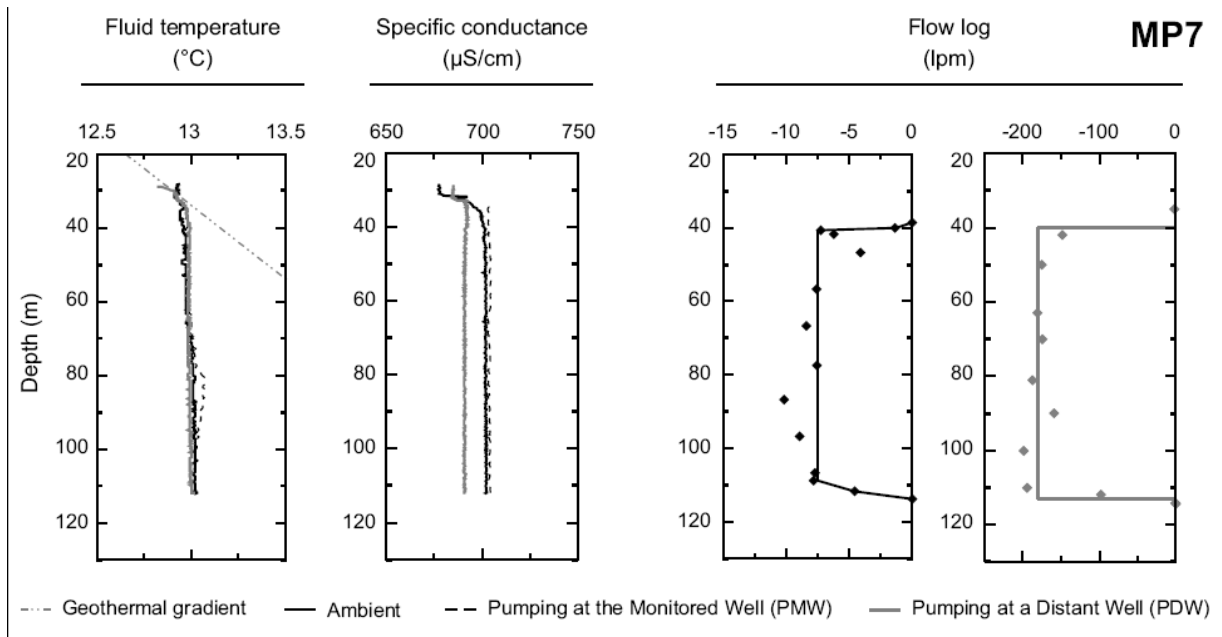


Figure 6.

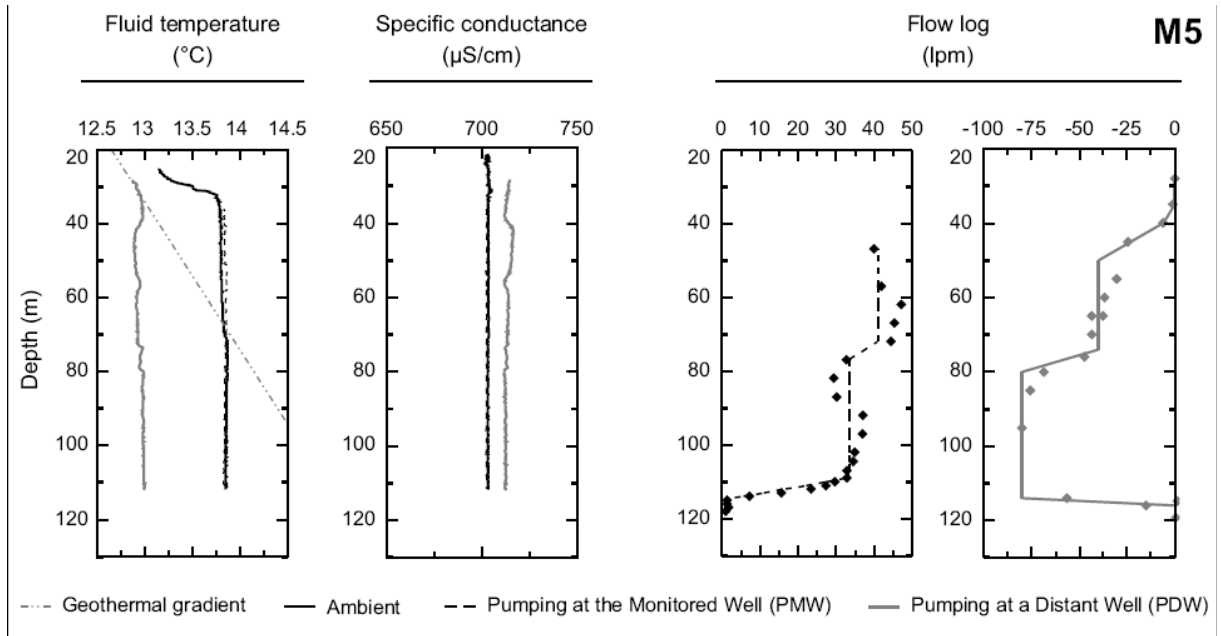


Figure 7

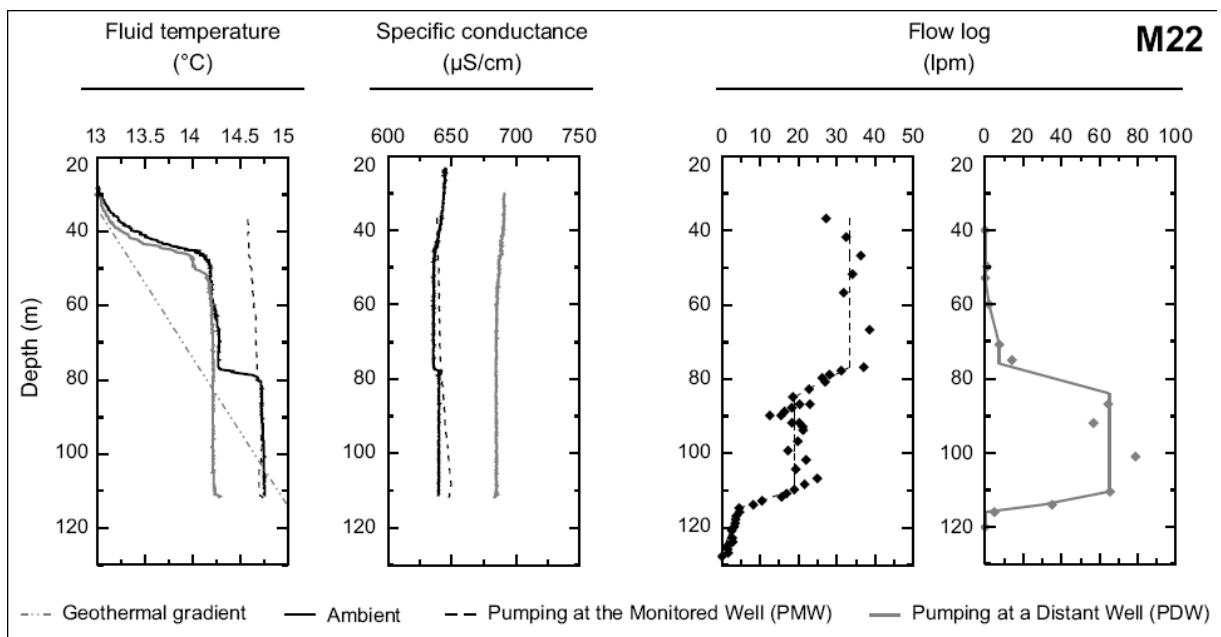


Figure 8

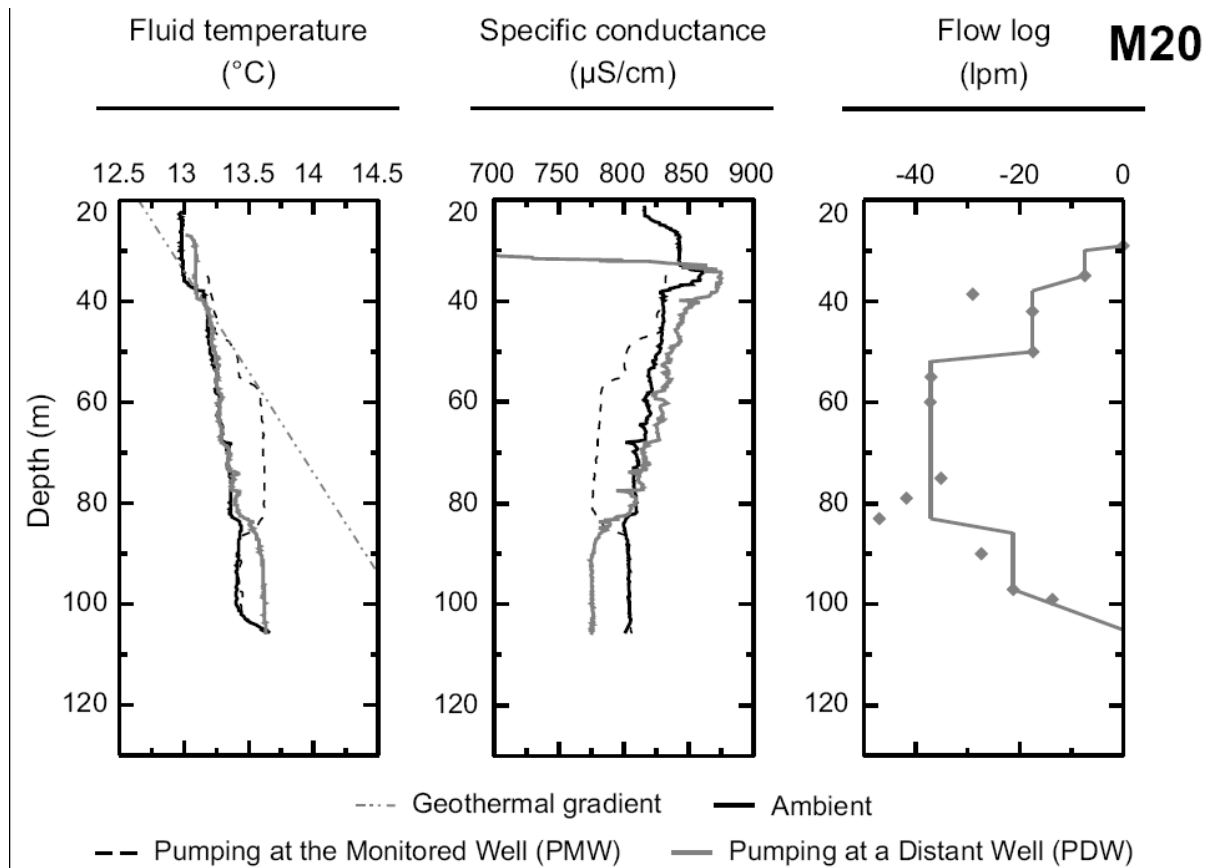


Figure 9

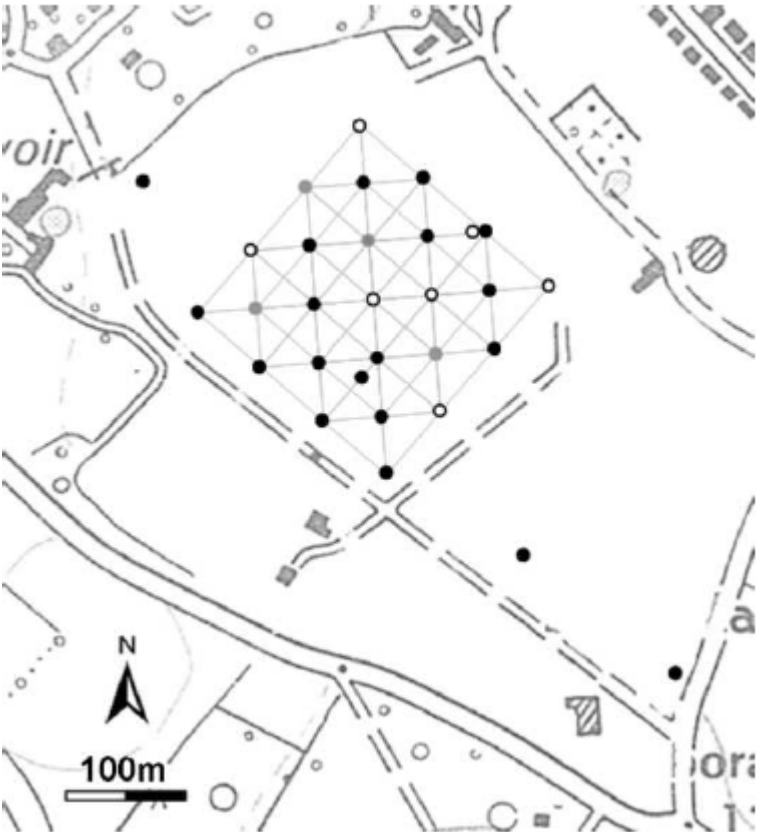


Table 1

	Well	Casing		Hydrodynamic conditions		
		Steel	Screened PVC	Ambient (A)	Pumping at the Monitored Well (PMW)	Pumping at a Distant Well (PDW)
Fluid temperature and conductivity log	MP7	0-40m	0-128m	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(2)</sup>
	M5	0-33m	0-131m	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(2)</sup>
	M22	0-50m	0-135m	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(2)</sup>
	M20	0-32m	0-126m	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(2)</sup>
Flow log	MP7	0-40m	0-128m	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(4)</sup>
	M5	0-33m	0-131m	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(4)</sup>
	M22	0-50m	0-135m	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(3)</sup>	+ <sup>(4)</sup>
	M20	0-32m	0-126m	-	-	+ <sup>(4)</sup>

***Annexe 3 : Campagnes d'hydrochimie, puits analysés et résultats***

	Condition hydrodynamique	Point de prélèvement	$\sigma$ $\mu\text{S/cm}$	COD $\text{mg/L}$	$\text{Ca}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Mg}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Na}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{K}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{HCO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{NO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{Cl}^-$ $\text{mg/L}$	$\text{SO}_4^{2-}$ $\text{mg/L}$
M1												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	776	0,8	130	6	25	1,6	371	49	40	17
P2008	Ambiant	65 m	-	-	130	11	20	1,4	375	30,6	31,7	22,9
M2												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	601	0,3	125	7	13	1	336	11	17	14
P2008	Ambiant	66 m	-	-	105	8,5	12	1,1	330	8,8	18,5	14,5
P2008	P_12 m <sup>3</sup> /h	105 m	-	-	105	8,5	12	1	329	9,7	18,5	16,1
M3												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	729	0,7	125	7	21	1,3	373	35	32	17
P2008	Ambiant	107 m	-	-	125	8	17	1,3	367	28,6	26,4	16
M4												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	723	0,6	130	7	20	1,4	379	31	29	15
M5												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	643	0,7	115	5	16	1	355	15	20	13
P2008	Ambiant	45 m	-	-	120	5,5	15	1	363	14,5	20,5	13,1
P2008	Ambiant	105 m	-	-	120	5,5	15	1	364	14,2	20,4	12,9
M6												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	715	0,5	125	6	22	1,2	349	38	33	19
P2008	P_12 m <sup>3</sup> /h	89 m	-	-	125	7	18	1,2	361	29	27,9	17,2
M8												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	735	0,5	120	6	28	0,8	350	52	34	15
M10												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	761	0,6	135	6	25	1,8	398	35	30	18



	Condition hydrodynamique	Point de prélèvement	$\sigma$ $\mu\text{S/cm}$	COD $\text{mg/L}$	$\text{Ca}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Mg}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Na}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{K}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{HCO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{NO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{Cl}^-$ $\text{mg/L}$	$\text{SO}_4^{2-}$ $\text{mg/L}$
M11												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	733	0,6	125	6	23	1,1	357	36	35	20
M13												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	610	0,4	115	9,5	14	0,9	350	11	16	14
M14												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	734	0,7	130	5	22	1,7	382	35	29	15
M15												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	699	0,4	125	9,5	19	1,1	375	34	23	13
M16												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	640	0,3	115	5	15	1	356	15	20	13
M17												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	679	0,5	125	8	16	1	369	31	21	9
M19												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	567	0,3	96	9	12	0,9	321	7	15	14
M20												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	710	1	125	7	19	1,4	383	31	25	13
P2008	Ambiant	51 m	-	-	135	6	20	1,9	383	37,6	33,2	15
M21												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	594	0,3	100	9	13	1,1	332	10	17	14
M22												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	589	0,3	100	9	12	1,1	331	9	16	14
P2008	Ambiant	64 m	-	-	105	9	12	1,1	335	10,6	18,6	15,9
P2008	Ambiant	81 m	-	-	105	8,5	12	1,1	336	10,6	18,6	15,7

	Condition hydrodynamique	Point de prélèvement	$\sigma$ $\mu\text{S/cm}$	COD $\text{mg/L}$	$\text{Ca}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Mg}^{2+}$ $\text{mg/L}$	$\text{Na}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{K}^+$ $\text{mg/L}$	$\text{HCO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{NO}_3^-$ $\text{mg/L}$	$\text{Cl}^-$ $\text{mg/L}$	$\text{SO}_4^{2-}$ $\text{mg/L}$
M22												
P2008	P_12 m <sup>3</sup> /h	105 m	-	-	110	8,5	12	1,2	336	10,6	18,4	16
M24												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	589	0,8	110	4	12	0,6	341	1	16	16
MP4												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	605	0,3	105	8	14	1,1	336	13	19	15
MP5												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	599	0,3	105	8,5	13	1,1	334	11	18	14
MP6												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	598	0,6	100	8,5	13	1	333	10	17	14
P2008	Ambiant	32 m	-	-	98	7,5	12	2,5	294	10,4	17,1	25,4
P2008	P_12 m <sup>3</sup> /h	77 m	-	-	105	8,5	13	1,1	330	11,3	19,2	16
MP7												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	644	0,3	120	4,5	16	0,9	357	16	20	12
P2008	Ambiant	55 m	-	-	120	4,5	15	1	360	14,3	20,8	11,6
P1												
P2007	P_12 m <sup>3</sup> /h	Sortie	563	0,4	96	9,5	13	0,9	319	1	15	20
P2008	Ambiant	47 m	-	-	97	10	12	0,9	321	0	16,5	21,8
IM1												
P2007	P_3 m <sup>3</sup> /h	Sortie	951	0,9	7,2	17	160	7,3	73/14**	0	215	24

Tableau A3\_1 : Résultats des campagnes hydrochimiques P2007 et P2008. Selon les campagnes, le prélèvement est effectué en sortie de pompe ou au sein du forage pour un écoulement naturel (Ambiant) ou lors un pompage à 12 ou 3 m<sup>3</sup>/h (P\_12 m<sup>3</sup>/h, P\_3 m<sup>3</sup>/h). Les concentrations en nitrite, ammonium et phosphate sont inférieures au seuil de détection (0,05 mg/L). \*\* Pour le puits IM1 (aquifère infra-toarcien), les bicarbonates et les carbonates sont indiqués dans la même case ( $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ ).

		2-hydroxy- atrazine µg/L	2-hydroxy- simazine µg/L	Atrazine µg/L	Déséthyl- atrazine µg/L	Déséthyl- simazine µg/L	Simazine µg/L	Isopro- turon µg/L	Glyphosate µg/L	AmPA µg/L
M1	65 m	0,03	<0,02	<0,02	0,16	0,02	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
M3	107 m	0,04	0,03	0,03	0,08	<0,02	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
M5	45 m	<0,02	<0,02	<0,02	0,06	0,03	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
M20	51 m	<0,02	<0,02	0,04	0,14	0,03	0,02	<0,02	<0,05	<0,05
M22	100 m	<0,02	<0,02	<0,02	0,05	0,02	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
MP7	55 m	<0,02	<0,02	<0,02	0,05	0,03	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
M2	66 m	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05
P1	47 m	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05

Tableau A3\_2. Pesticides analysés lors de la campagne P2009. Les prélèvements sont effectués dans des conditions d'écoulement ambiant.



## Annexe 4 : Test de Mann Whitney

Le test de Mann Whitney est un test de comparaison de moyennes. Ce test est non paramétrique, i.e. il ne nécessite pas d'estimation de la moyenne et de la variance. Il peut en conséquence s'appliquer à de petits échantillons dont la loi de la variable  $X$  est inconnue et qui plus est non normale. En fait, il n'utilise même pas les valeurs de  $x_i$  recueillies dans les échantillons mais seulement leur rang dans la liste ordonnée de toutes les valeurs. Ce test s'applique à des échantillons indépendants, c'est-à-dire qu'une valeur ne peut pas se trouver dans les deux échantillons à la fois.

On dispose des mesures des valeurs de  $X$  dans deux échantillons indépendants  $E_1$  et  $E_2$ , de tailles respectives  $n_1$  et  $n_2$ . On souhaite comparer les deux moyennes expérimentales, c'est-à-dire tester l'hypothèse nulle ( $H_0$ ) : «  $\mu_1 = \mu_2$  ».

On commence par trier les valeurs obtenues dans la réunion des deux échantillons par ordre croissant ; Pour chaque valeur  $x_i$  issue de  $E_1$  on compte le nombre de valeurs issues de  $E_2$  situées après lui dans la liste ordonnée (celles qui sont égales à ne comptent que pour  $\frac{1}{2}$ ). On note  $u_1$  la somme des nombre ainsi associés aux différentes valeurs issues de  $E_1$ . On fait de même en échangeant les rôles des deux échantillons, ce qui donne la somme  $u_2$ . Soit  $u$  la plus petite des valeurs des deux sommes obtenues :

$$U = \min(u_1 ; u_2).$$

On note  $U$  la variable aléatoire associée.

Pour  $n_1$  et  $n_2$  quelconques, on lit dans les tables du test de Mann Whitney le nombre  $m_\alpha$  tel que, sous  $H_0$ ,  $P(U \leq m_\alpha) = \alpha$ . On rejette ( $H_0$ ) au risque d'erreur  $\alpha$  si  $u \leq m_\alpha$ . Autrement on accepte  $H_0$ .

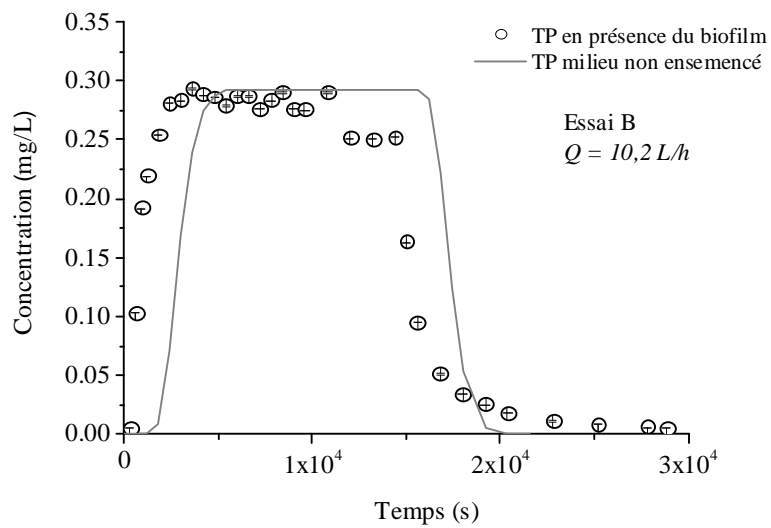
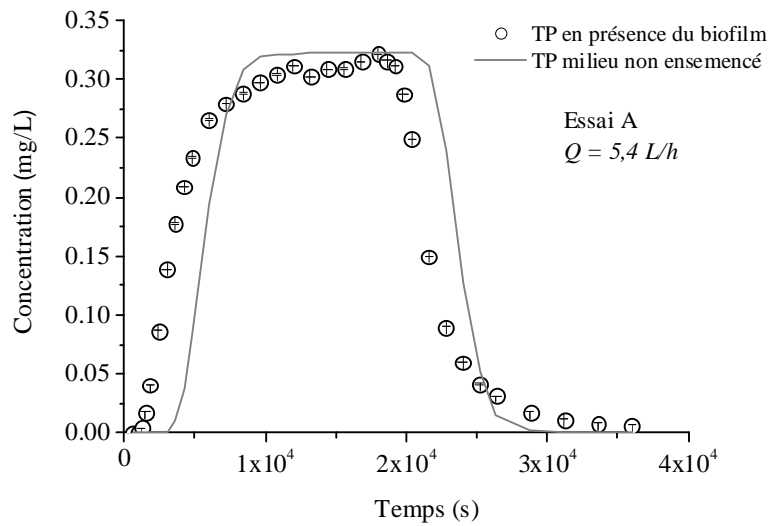
La sensibilité  $\alpha$  utilisée pour les tests est de 0,05.

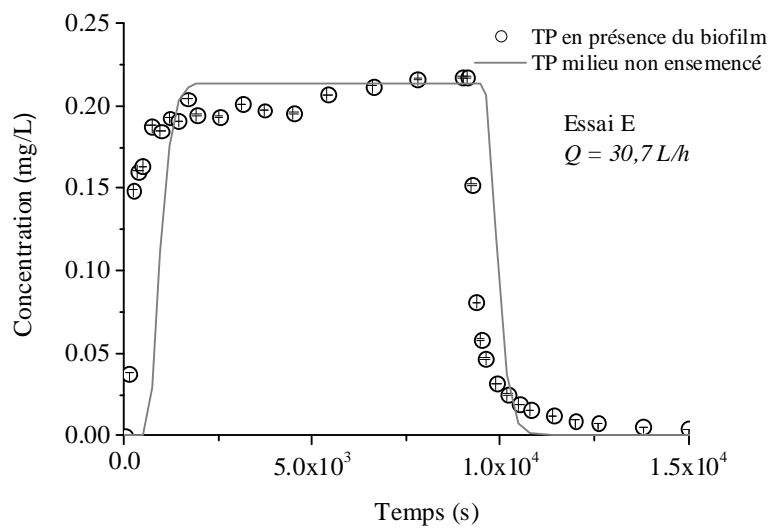
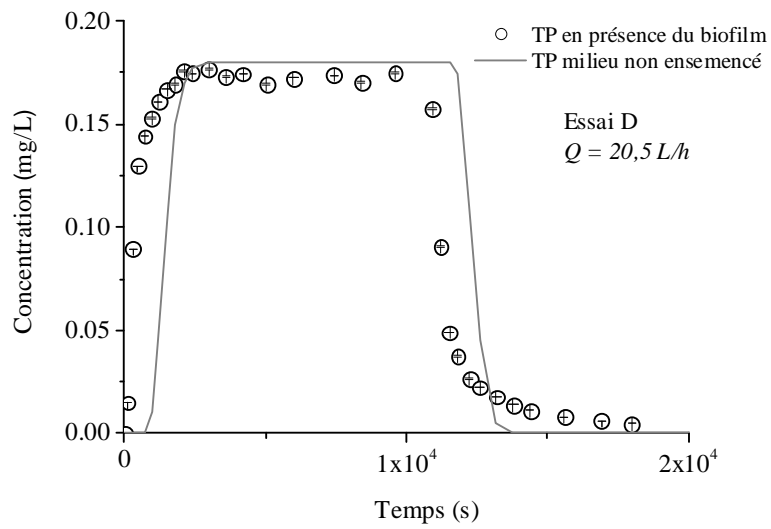
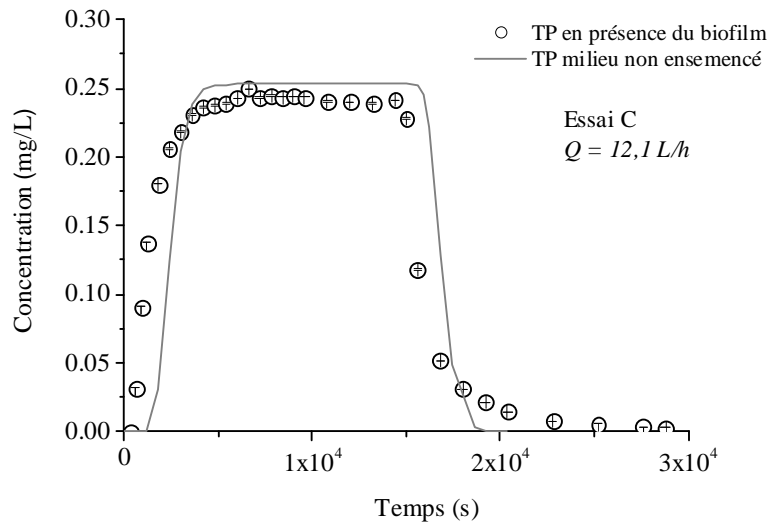
La table donne la valeur  $m_\alpha$  telle que  $P(U \leq m_\alpha) = \alpha$  pour deux échantillons d'effectifs  $n_1$  et  $n_2$  avec  $n_1 \leq n_2$ .

$n_2$ $n_1$	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
2	-	-	-	-	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2
3	-	0	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8
4	0	1	2	3	4	4	5	6	7	8	9	10	11	11	12	13	14
5		2	3	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	17	18	19	20
6			5	6	8	10	11	13	14	16	17	19	21	22	24	25	27
7				8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34
8					13	15	17	19	22	24	26	29	31	34	36	38	41
9						17	20	23	26	28	31	34	37	39	42	45	48
10							23	26	29	33	36	39	42	45	48	52	55
11								30	33	37	40	44	47	51	55	58	62
12									37	41	45	49	53	57	61	65	69
13										45	50	54	59	63	67	72	76
14											55	59	64	69	74	78	83
15												64	70	75	80	85	90
16													75	81	86	92	98
17														87	93	99	105
18															99	106	112
19																113	119
20																	127

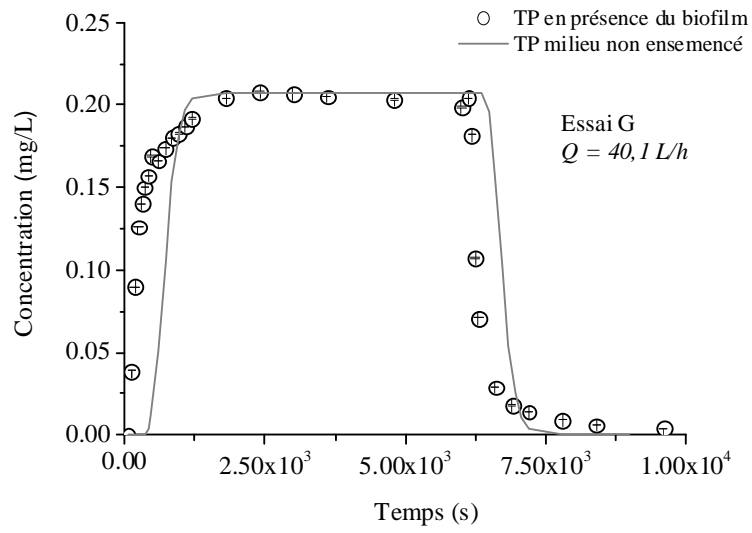
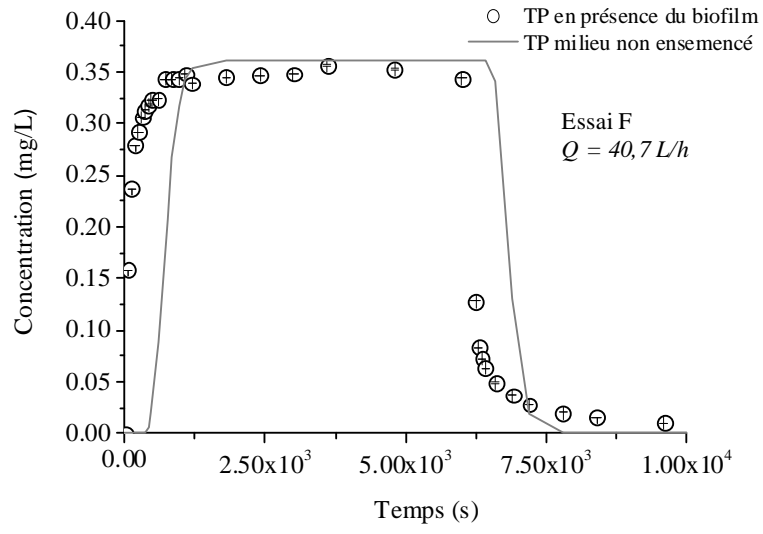


**Annexe 5 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage passif à la fluorescéine en présence du biofilm**



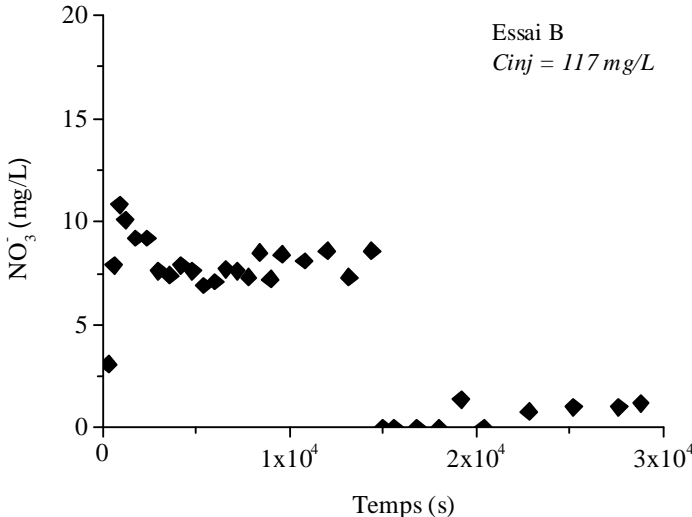
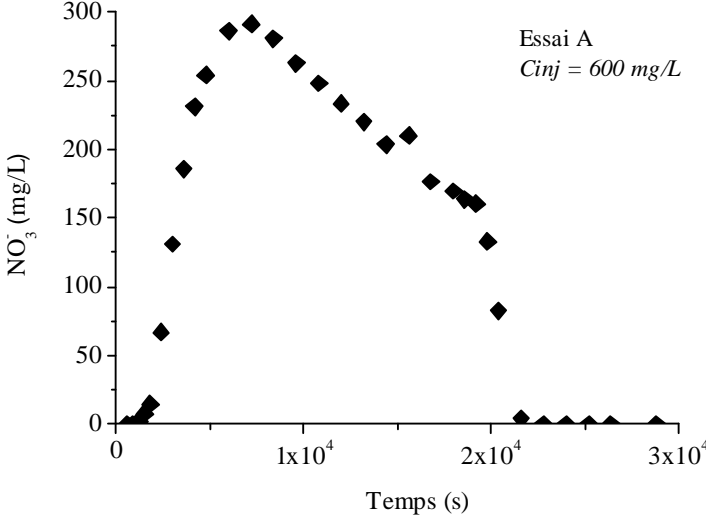


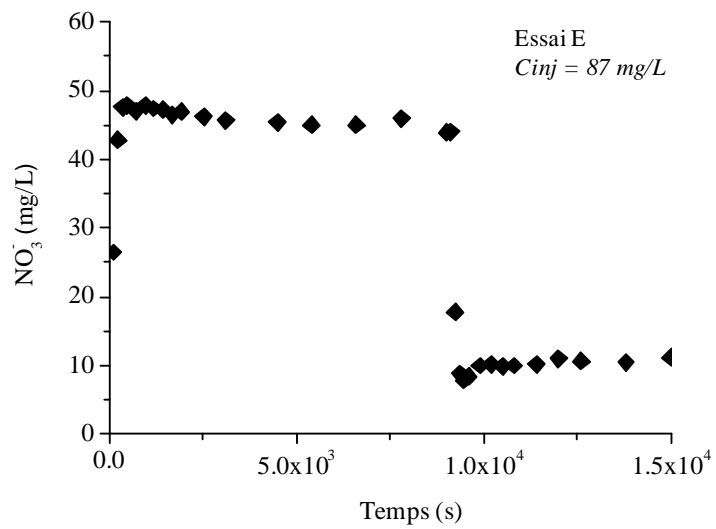
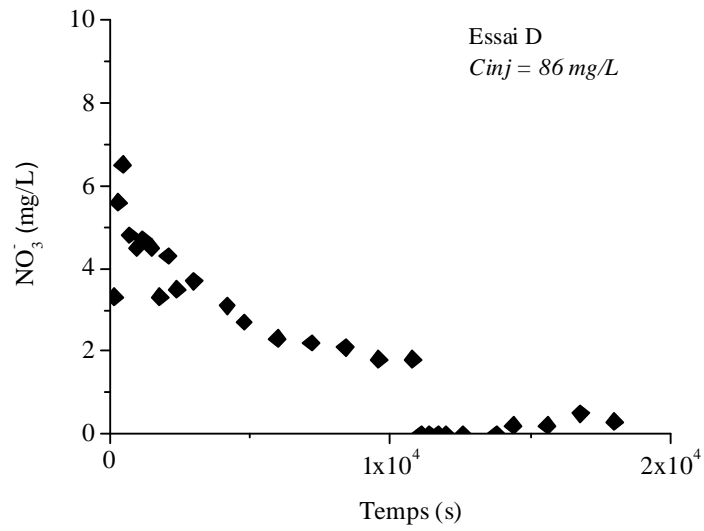
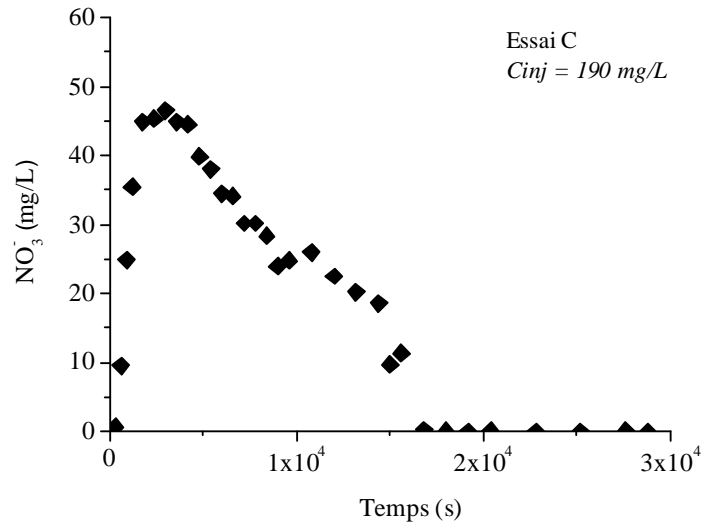


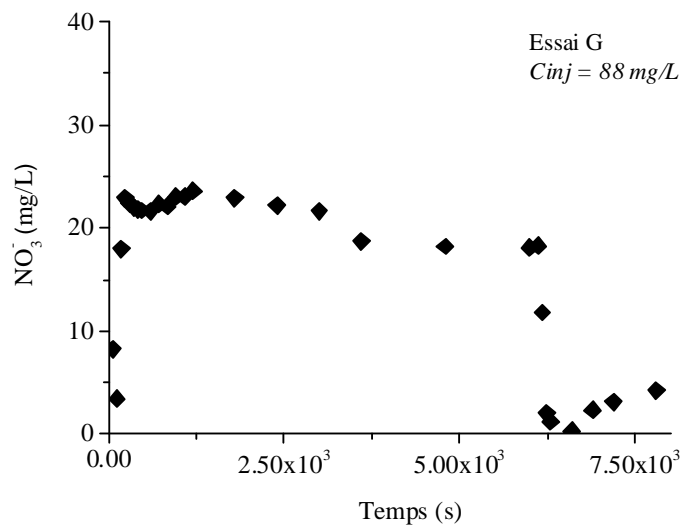
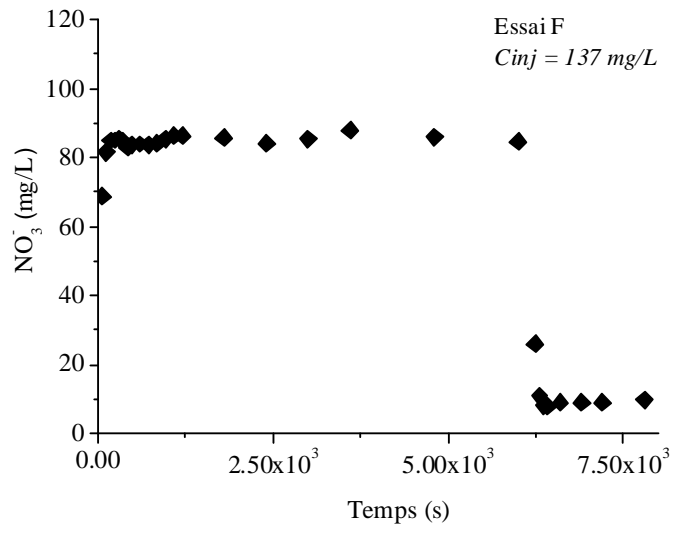




**Annexe 6 : Courbes de restitution obtenues à différents débits pour un traçage réactif (TR) aux nitrates en présence du biofilm**









## **Annexe 7 : Schéma de discrétisation des différents modèles**

Pour chaque modèle, la résolution numérique du problème est orchestrée en plusieurs étapes. Dans un premier temps, les concentrations résultant du transport convecto-dispersif dans les phases mobiles sont calculées. Dans le cas des modèles doubles continus M2 et M3, ces concentrations intermédiaires sont ensuite utilisées dans la résolution de l'échange entre les deux milieux et le calcul de la nouvelle concentration dans le biofilm. Les milieux biofilm et poreux sont ensuite rééquilibrés par le calcul de la nouvelle concentration dans le poreux. Finalement, pour les trois modèles, on applique la réaction de dégradation.

### **Modèle M1 : Transport réactif simple milieu**

Le transport 1D d'un soluté réactif non conservatif est décrit par l'équation de convection-dispersion réaction:

$$\theta_1 \frac{\partial C}{\partial t} = \theta_1 D_1 \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - \theta_1 u_1 \frac{\partial C}{\partial x} + R_1 \theta_1$$

C : concentration [M.L<sup>-3</sup>]

$\theta_1$  : porosité apparente obtenue par le modèle M1 [-]

$D_1$  : dispersion obtenue par le modèle M1 [M<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>]

$u_1$  : vitesse obtenue par le modèle M1 [L.T<sup>-1</sup>]

$R_1$  : terme réactif

### **1- Résolution du transport**

Avec un schéma de discrétisation explicite amont pour l'advection et implicite centré pour la dispersion, l'équation du transport devient :

$$\frac{C_i^{n+1} - C_i^n}{\Delta t} = D_1 \frac{C_{i+1}^{n+1} - 2C_i^{n+1} + C_{i-1}^{n+1}}{\Delta x^2} - u_1 \frac{C_i^n - C_{i-1}^n}{\Delta x}$$

i : indice spatial

n : indice temporel

Après développement, on obtient:

$$C_{i-1}^{n+1} \left( \frac{D_1}{\Delta x^2} \right) + C_i^{n+1} \left( \frac{-2D_1}{\Delta x^2} - \frac{1}{\Delta t} \right) + C_{i+1}^{n+1} \left( \frac{D_1}{\Delta x^2} \right) = C_{i-1}^n \left( -\frac{u_1}{\Delta x} \right) + C_i^n \left( \frac{u_1}{\Delta x} - \frac{1}{\Delta t} \right)$$

Ce système linéaire d'équations peut s'écrire sous la forme matricielle  $\underline{A} \cdot \underline{X} = \underline{V}$  avec  $\underline{A}$  une matrice tridiagonale contenant les coefficients,  $\underline{X}$  le vecteur des concentrations au temps n+1 et  $\underline{V}$  le vecteur regroupant les termes connus que sont les concentrations au temps n. Ainsi formulé, le transport peut être résolu en utilisant l'algorithme de Thomas (annexe 8).

## 2- Résolution de la réaction de dénitrification

Après avoir calculé les concentrations intermédiaires au temps n+1 résultant du transport advectif-dispersif (notées  $C_i^{n+1*}$ ), on résout la réaction de dénitrification qui est représentée soit par une cinétique d'ordre 1 soit par une cinétique d'ordre 0.

*Cinétique d'ordre 1 :*

$$R = \frac{\partial C}{\partial t} = -\lambda C$$

$\lambda$  : la cinétique d'ordre 1 [ $T^{-1}$ ]

Cette équation possède une solution analytique :  $C_i^{n+1} = C_i^{n+1*} \exp(-\lambda \Delta t)$

*Cinétique d'ordre 0 :*

$$R = \frac{\partial C}{\partial t} = -\beta$$

$\beta$  : la cinétique d'ordre 0 [ $M.L^{-3}.T^{-1}$ ]

La solution analytique de cette cinétique s'écrit :  $C_i^{n+1} = C_i^{n+1*} - \beta \Delta t$

### **Modèle M2 : Transport réactif double milieu mobile-immobile**

Le transport réactif avec transfert de masse entre le biofilm (immobile) et le poreux (mobile) est décrit par les relations suivantes :



$$\theta_p \frac{\partial C_p}{\partial t} + \theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t} = D_2 \theta_p \frac{\partial^2 C_p}{\partial x^2} - u_2 \theta_f \frac{\partial C_p}{\partial x} + R_2 \theta_b$$

$$\theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t} = \gamma_2 (C_p - C_b)$$

$C_{Np}$ ,  $C_{Nb}$  : concentrations respectives en nitrates dans le poreux et le biofilm [ $M.L^{-3}$ ]

$\theta_p$  : porosité allouée au milieu poreux [-]

$\theta_b$  : porosité allouée au milieu biofilm [-]

$D_2$  : dispersion dans le poreux obtenue par le modèle M2 [ $M^2.T^{-1}$ ] avec  $D_2 = u_2 \alpha_2$

$u_2$  : vitesse du soluté dans le poreux obtenue par le modèle M2 [ $L.T^{-1}$ ]

$R_2$  : le terme réactif s'appliquant aux concentrations  $C_{Nb}$

$\gamma_2$  : le coefficient de transfert de masse interphase [ $T^{-1}$ ]

$\gamma_2$  : le coefficient de transfert de masse interphase [ $T^{-1}$ ]

## 1- Résolution du transport dans la phase mobile du milieu poreux

En utilisant le même schéma de discrétisation que pour le modèle M1, on obtient :

$$C_{pi-1}^{n+1} \left( \frac{D_2}{\Delta x^2} \right) + C_{pi}^{n+1} \left( \frac{-2D_2}{\Delta x^2} - \frac{1}{\Delta t} \right) + C_{pi+1}^{n+1} \left( \frac{D_2}{\Delta x^2} \right) = C_{pi-1}^n \left( -\frac{u_2}{\Delta x} \right) + C_{pi}^n \left( \frac{u_2}{\Delta x} - \frac{1}{\Delta t} \right)$$

Le système linéaire d'équations est écrit sous forme matricielle et les concentrations intermédiaires dans la phase poreux au temps n+1 sont calculées via l'algorithme de Thomas.

## 2- Résolution de l'échange interphase poreux/biofilm

On calcule maintenant la concentration dans la phase immobile dans le biofilm résultant de l'échange cinétique entre les deux milieux :

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = \frac{\gamma_2}{\theta_b} (C_p - C_b)$$

Après discrétisation, on a :

$$\frac{C_{bi}^{n+1} - C_{bi}^n}{\Delta t} = \frac{\gamma_2}{\theta_b} (C_{pi}^{n+1*} - C_{bi}^n)$$

Finalement, la concentration dans le biofilm s'écrit :

$$C_{bi}^{n+1} = \frac{\gamma_2}{\theta_b} \Delta t C_{pi}^{n+1*} + \left(1 - \frac{\gamma_2}{\theta_b} \Delta t\right) C_{bi}^n$$

La concentration dans le poreux est alors rééquilibrée avec celle du biofilm :

$$\theta_p \frac{\partial C_p}{\partial t} + \theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t} = 0 \Leftrightarrow \frac{\partial C_p}{\partial t} = -\frac{\theta_b}{\theta_p} \frac{\partial C_b}{\partial t}$$

$$\frac{C_{pi}^{n+1} - C_{pi}^{n+1*}}{\Delta t} = -\frac{\theta_b}{\theta_p} \frac{C_{bi}^{n+1} - C_{bi}^n}{\Delta t}$$

On obtient :

$$C_{pi}^{n+1} = C_{pi}^{n+1*} - \frac{\theta_b}{\theta_p} C_{bi}^{n+1} + \frac{\theta_b}{\theta_p} C_{bi}^n$$

### 3- Résolution de la réaction de dénitrification dans le biofilm

On calcule enfin les concentrations dans la phase immobile résultant de la réaction de dénitrification. Ce calcul est similaire à celui présenté pour le modèle M1. Dans ce cas, la réaction s'applique aux concentrations  $C_{bi}^{n+1}$ .

#### Modèle M3 : Transport réactif avec deux phases mobiles

Ce modèle est décrit par deux équations de transport (avec un terme réactif dans le biofilm) auxquelles s'ajoute le transfert de masse interphase suivant une hypothèse d'équilibre local (LEA) ou d'échange cinétique (NEA) :

$$\begin{cases} \theta_p \frac{\partial C_p}{\partial t} = \theta_p D_{3p} \frac{\partial^2 C_p}{\partial x^2} - \theta_p u_{3p} \frac{\partial C_p}{\partial x} + F_{p \rightarrow b} \\ \theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t} = \theta_b D_{3b} \frac{\partial^2 C_b}{\partial x^2} - \theta_b u_{3b} \frac{\partial C_b}{\partial x} - F_{p \rightarrow b} + R_3 \theta_b \\ F_{p \rightarrow b} = \theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t} = -\theta_p \frac{\partial C_p}{\partial t} = \gamma_3 (C_p - C_b) \\ \text{ou} \\ C_b = C_p \end{cases}$$

$C_{Np}$ ,  $C_{Nb}$  : concentrations respectives en nitrates dans le milieu poreux et le milieu biofilm [M.L<sup>-3</sup>]

$\theta_p$  : porosité allouée au milieu poreux [-]

$\theta_b$  : porosité allouée au milieu biofilm [-]

$D_{3p}$  : dispersion dans le milieu poreux obtenue par le modèle M3 [M<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>] avec  $D_{3p} = u_{3p}\alpha_{3p}$

$u_{3p}$  : vitesse du soluté dans le milieu poreux obtenue par le modèle M3 [L.T<sup>-1</sup>]

$D_{3b}$  : dispersion dans le milieu biofilm obtenue par le modèle M3 [M<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>]

$u_{3b}$  : vitesse du soluté dans le milieu biofilm obtenue par le modèle M3 [L.T<sup>-1</sup>] avec  $D_{3b} = u_{3b}\alpha_{3b}$

$R_3$  : le terme réactif concernant les concentrations  $C_{Nb}$

$\gamma_3$  : le coefficient de transfert de masse [T<sup>-1</sup>]

## 1- Résolution du transport dans chaque phase

La discrétisation des équations de transport conduit au système suivant :

$$\begin{aligned} C_{p_{i-1}}^{n+1} \left( \frac{D_{3p}}{\Delta x^2} \right) + C_{p_i}^{n+1} \left( \frac{-2D_{3p}}{\Delta x^2} - \frac{1}{\Delta t} \right) + C_{p_{i+1}}^{n+1} \left( \frac{D_{3p}}{\Delta x^2} \right) &= C_{p_{i-1}}^n \left( -\frac{u_{3p}}{\Delta x} \right) + C_{p_i}^n \left( \frac{u_{3p}}{\Delta x} - \frac{1}{\Delta t} \right) \\ C_{b_{i-1}}^{n+1} \left( \frac{D_{3b}}{\Delta x^2} \right) + C_{b_i}^{n+1} \left( \frac{-2D_{3b}}{\Delta x^2} - \frac{1}{\Delta t} \right) + C_{b_{i+1}}^{n+1} \left( \frac{D_{3b}}{\Delta x^2} \right) &= C_{b_{i-1}}^n \left( -\frac{u_{3b}}{\Delta x} \right) + C_{b_i}^n \left( \frac{u_{3b}}{\Delta x} - \frac{1}{\Delta t} \right) \end{aligned}$$

Comme pour les modèles M1 et M2, ces équations sont mises sous forme matricielle et résolues par l'algorithme de Thomas. Elles fournissent les concentrations intermédiaires dans le biofilm et le poreux avant transfert de masse entre les deux milieux.

## 2- Résolution de l'échange interphase

Dans ce modèle, deux possibilités d'échange entre phases sont proposées et induisent le calcul de la nouvelle concentration dans le biofilm.

*Echange cinétique NEA*

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = \frac{\gamma_3}{\theta_b} (C_p - C_b)$$

$$\frac{C_{bi}^{n+1} - C_{bi}^{n+1*}}{\Delta t} = \frac{\gamma_3}{\theta_b} (C_{pi}^{n+1*} - C_{bi}^{n+1*})$$

La concentration dans le biofilm se calcule selon :

$$C_{bi}^{n+1} = \frac{\gamma_3}{\theta_b} \Delta t C_{pi}^{n+1*} + \left(1 - \frac{\gamma_3}{\theta_b} \Delta t\right) C_{bi}^{n+1*}$$

La concentration dans le poreux est rééquilibrée avec le biofilm :

$$\frac{\partial C_p}{\partial t} = -\frac{\theta_b}{\theta_p} \frac{\partial C_b}{\partial t}$$

$$\frac{C_{pi}^{n+1} - C_{pi}^{n+1*}}{\Delta t} = -\frac{\theta_b}{\theta_p} \frac{C_{bi}^{n+1} - C_{bi}^{n+1*}}{\Delta t}$$

On obtient :

$$C_{pi}^{n+1} = C_{pi}^{n+1*} - \frac{\theta_b}{\theta_p} C_{bi}^{n+1} + \frac{\theta_b}{\theta_p} C_{bi}^{n+1*}$$

*Equilibre local LEA*

$$C_b = C_p$$

Dans ce cas, on rééquilibre directement les concentrations dans les deux phases après la résolution du transport :

$$\theta_p \frac{\partial C_p}{\partial t} = -\theta_b \frac{\partial C_b}{\partial t}$$

$$\theta_p \frac{C_{p_i}^{n+1} - C_{p_i}^{n+1*}}{\Delta t} = -\theta_b \frac{C_{b_i}^{n+1} - C_{b_i}^{n+1*}}{\Delta t} \Leftrightarrow \theta_p C_{p_i}^{n+1} + \theta_b C_{b_i}^{n+1} = \theta_p C_{p_i}^{n+1*} + \theta_b C_{b_i}^{n+1*}$$

L'équilibre local induit  $C_{p_i}^{n+1} = C_{b_i}^{n+1}$ , ce qui permet d'écrire :

$$C_{p_i}^{n+1} = C_{b_i}^{n+1} = \frac{\theta_p C_{p_i}^{n+1*} + \theta_b C_{b_i}^{n+1*}}{\theta_p + \theta_b}$$

### 3- Résolution de la réaction de dénitrification dans le biofilm

Les concentrations dans le biofilm après dénitrification sont calculées comme présenté pour le modèle

M1. La réaction s'applique sur les concentrations  $C_{b_i}^{n+1}$ .



## Annexe 8 : Algorithme de Thomas

La méthode de l'algorithme de Thomas permet de résoudre des systèmes linéaires de la forme  $\underline{\underline{\mathbf{A}}}\cdot\underline{\underline{\mathbf{X}}} = \underline{\underline{\mathbf{V}}}$  avec  $\underline{\underline{\mathbf{A}}}$  matrice tridiagonale.

$$k \rightarrow \begin{pmatrix} \ddots & \ddots & & & 0 \\ & \ddots & \ddots & & \\ & & b^k & a^k & c^k \\ & & & \ddots & \ddots \\ 0 & & & & \ddots \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ x^k \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ v^k \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} \quad k:1 \rightarrow n$$

Le système est réécrit sous la forme suivante avec une matrice  $\underline{\underline{\mathbf{A}}}$  modifiée (1 sur la diagonale et  $\lambda^k$  sur la diagonale supérieure) et un vecteur  $\underline{\underline{\mathbf{V}}}$  modifié ( $\beta^k$ ).

$$k \rightarrow \begin{pmatrix} \ddots & \ddots & & & 0 \\ & \ddots & \ddots & & \\ & & 1 & \lambda^k & \\ & & & \ddots & \ddots \\ 0 & & & & \ddots \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ x^k \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ \beta^k \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix}$$

La  $k^{\text{ième}}$  équation de ce système triangulaire s'écrit  $x^k + \lambda^k x^{k+1} = \beta^k$ . La résolution de ce système par récursion est triviale. En partant de l'égalité :  $x^n = \beta^n$ , on peut ensuite résoudre :  $x^{n-1} = \beta^{n-1} - \lambda^{n-1} x^n$ , et plus généralement pour  $i : n-2 \rightarrow 1$   $x^i = \beta^i - \lambda^i x^{i+1}$ .

Il faut cependant établir l'équivalence entre ces deux systèmes pour chaque équation indexée  $k$ .

$$b^k x^{k-1} + a^k x^k + c^k x^{k+1} = v^k \Leftrightarrow x^k + \lambda^k x^{k+1} = \beta^k$$

La  $(k-1)^{\text{ième}}$  équation du système triangulaire s'écrit  $x^{k-1} = \beta^{k-1} - \lambda^{k-1} x^k$ . En remplaçant  $x^{k-1}$  dans l'équation de gauche de l'équivalence, on obtient :

$$(a^k - b^k \lambda^{k-1}) x^k + c^k x^{k+1} = v^k - b^k \beta^{k-1} \Leftrightarrow x^k + \lambda^k x^{k+1} = \beta^k$$

L'équivalence entre deux équations  $ax + by = c \Leftrightarrow dx + ey = f$  est obtenue pour les conditions :  $b/a = e/d$  et  $c/a = f/d$ . Appliquées au système précédent, on obtient :

$$\lambda^k = \frac{c^k}{a^k - b^k \lambda^{k-1}} \quad \beta^k = \frac{v^k - b^k \beta^{k-1}}{a^k - b^k \lambda^{k-1}}$$

Ces coefficients sont calculés de façon récursive car  $\lambda^k$  dépend de  $\lambda^{k-1}$  et  $\beta^k$  dépend de  $\beta^{k-1}$  et  $\lambda^{k-1}$ . Les valeurs de  $\lambda^1$  et de  $\beta^1$  sont obtenues par résolution de l'équivalence pour  $k = 1$  ( $b^k x^{k-1} = 0$ ) :

$$\lambda^1 = c^1/a^1 \quad \beta^1 = v^1/a^1$$





### **Annexe 9 : Cinétiques d'ordre 0**

Le tableau A9\_1 contient les cinétiques d'ordre 0 calées à l'aide des différents modèles sur les courbes de restitution des traçages réactifs TR.

	A	B	C	D	E	F	G
M1	0,12	0,14	0,13	0,29	0,12	0,27	0,24
M3_LEA_0,7	0,3	0,39	0,28	0,59	0,19	0,32	0,44
M3_LEA_0,9	0,31	0,39	0,28	0,55	0,19	0,32	0,43
M3_NEA_0,7	0,33	0,44	0,41	0,77	0,3	0,42	0,63

*Tableau A9\_1 : Cinétique d'ordre 0 obtenue pour le calage des courbes TR*

## Résumé

Pour pré-identifier le fonctionnement d'un pilote de dénitrification au sein d'un aquifère karstifié, des investigations hydrodynamiques, hydrochimiques et biologiques ont été menées sur le Site Expérimental Hydrogéologique (SEH) de Poitiers. La caractérisation de la géométrie des écoulements par mesures de température conclut, en ambiant et en pompage, à l'existence de connexions préférentielles entre les plans karstiques. Malgré ces écoulements complexes, la connectivité entre les puits est élevée avec une restitution de soluté pouvant atteindre 90 %. La présence de bactéries dénitrifiantes hétérotrophes autochtones est vérifiée. Sans stimulation exogène, ces bactéries sont inactives au droit du SEH. Les contrastes de concentrations en nitrates s'expliqueraient alors par des processus de dilution entre masses d'eaux, l'écoulement divergent régional et les activités anthropiques dans la zone de recharge de la nappe. La stimulation des bactéries dénitrifiantes sur un pilote *ex situ* implanté sur le SEH permet de proposer des modèles homogénéisés de transport intégrant les effets de dénitrification en présence d'un biofilm. L'implantation du biofilm dans le milieu génère un système hétérogène à porosités multiples caractérisé par une forte variabilité des vitesses d'écoulement. Le modèle double continuum écoulement rapide vs. écoulement lent testé pour expliquer cette hétérogénéité semble le plus à même d'être transposé à l'hydrodynamique du SEH. Sur le pilote *ex situ*, la cinétique d'ordre 1 mimant la dénitrification est indépendante des conditions hydrodynamiques. Il importe maintenant de conduire l'expérience à l'échelle d'un doublet de puits pour valider ces résultats.

Mots clés : hydrogéologie, calcaire, hydrochimie, écoulement, traçage, hétérogène, modélisation, transport réactif, cinétique

## Abstract

Hydrodynamic, hydrochemical and biological investigations were held over the Hydrogeological Experimental Site (HES) in Poitiers for the purpose of pre-identifying how a denitrification pilot plant may work in a karstified aquifer. The characterization of flow settings and geometry by water temperature loggings shows for both ambient and forced flow conditions that there exist some preferential connections between karstified layers. Even with complex flow geometry, the connectivity between wells is high; to the point mass tracer restitutions between wells may reach 90%. The existence of denizen heterotrophic denitrifying bacteria is proved. Without external stimulations, the bacterial consortium is however inactive. Thus, contrasts in nitrate concentrations would be explained by various dilution rates between waters of different origins. Stimulation of denitrifying bacteria was performed in an ex-situ lab-experiment. Transport experiments in columns allow proposing different homogenized models for both transport and denitrification by a biofilm phase. The development of biofilm in a porous medium generates local heterogeneity with multiple porosities, thus yielding contrasted fluid velocities. A double continuum (rapid versus slow) seems to be a relevant assumption for interpreting column tracer tests and could be tractable for applications at the site scale. Grounded on data from ex-situ experiments, the calibrated first-order kinetics mimicking the denitrification process is independent from experimental hydrodynamic settings. To validate all these results, it urges now going farther and to proceed with a transport experiment between a doublet of wells of the HES.

Key words: hydrogeology, limestone, hydrochemistry, flow, tracer test, heterogeneous, reactive transport, model, kinetic