# ► CETRAHE, NOTE TECHNIQUE N° 1 : Capacité des détecteurs au charbon actif (fluocapteurs) à fixer les traceurs fluorescents

Octobre 2016

# Rédaction: Nevila JOZJA, Renata ZOCATELLI, Christian DÉFARGE

▶ CETRAHE : CEllule R&D d'Expertise et de TRAnsfert en TRAçages Appliqués à Hydrogéologie et à l'Environnement, Université d'Orléans – Polytech, 8 rue Léonard de Vinci, 45072 Orléans cedex 2, France – www.univ-orleans.fr/cetrahe

▶ 06/10/2016

**Résumé**: La méthode de suivi des restitutions de traceurs fluorescents par détecteurs au charbon actif (fluocapteurs) est utile comme solution d'appoint, ou de secours quand l'implantation de préleveurs ou de fluorimètres n'est pas possible, ou encore pour favoriser l'accumulation et donc la concentration des traceurs sur de très longues périodes. Pour toutes les autres applications, son emploi fait courir le risque de ne pas détecter les traceurs présents (notamment ceux dont l'adsorption sur le charbon n'est pas systématique), ou au contraire de créer des « faux positifs » par fixation de matières organiques fluorescentes naturelles ou d'origine anthropique présentes dans les eaux (lesquelles peuvent également masquer la fixation du traceur quand ce « bruit de fond » de fluorescence est trop élevé ; sans compter que des charbons de mauvaise qualité peuvent aussi contenir à l'origine des produits gênant la mesure). Malgré les mises en garde de nombreux auteurs à ce sujet, l'emploi privilégié de fluocapteurs au charbon actif a pourtant tendance à se répandre, sur la foi de données bibliographiques contradictoires plaidant pour une large utilisation de cette technique.

La fixation sur un charbon actif courant de qualité contrôlée de 4 traceurs fluorescents parmi les plus largement utilisés en France (éosine, naphtionate de sodium, sulforhodamine B, uranine) a été testée au laboratoire sur des durées allant jusqu'à 2 semaines, aux concentrations généralement retrouvées dans les eaux aux points de restitution (entre 5 et 30 µg/L). Ces essais montrent une absence d'adsorption détectable du naphtionate de sodium comme de la sulforhodamine B, confirmant les expériences pratiques et les mises en garde de la littérature sur les faibles capacités de fixation des charbons pour les traceurs émettant dans le bleu (comme le naphtionate de sodium) et les sulforhodamines. L'emploi de fluocapteurs dans les opérations de traçage menées avec ces deux types de traceurs est donc à proscrire. Il peut être envisagé pour l'uranine ou l'éosine, avec toutefois les précautions d'utilisation mentionnées plus haut.

Le format NOTE TECHNIQUE de CETRAHE a pour but de transmettre de la manière la plus efficace, c'est-à-dire la plus rapide, la plus concise, la plus claire et en français, à destination des préconisateurs et des praticiens du traçage hydrogéologique, des informations scientifiques, techniques et principalement pratiques issues d'expérimentations au laboratoire, visant à améliorer la qualité des opérations de traçage, de la conception des cahiers des charges jusqu'à l'interprétation des résultats, en passant par la mise en œuvre concrète sur le terrain, pour la meilleure gestion de la ressource en eau.

CETRAHE,
NOTE
TECHNIQUE N°
1: Capacité des
détecteurs au
charbon actif
(fluocapteurs) à
fixer les traceurs
fluorescents

Octobre 2016

#### I. Introduction

L'idée d'utiliser le charbon actif pour détecter les traceurs fluorescents a été proposée pour la première fois en 1957 par Dunn (White, 2007). Le principe en est la capacité de fixation sélective du traceur sur des grains de charbon dont la surface spécifique a été augmentée suite à un traitement chimique (Käs, 1998). L'idée a été reprise et popularisée en France par Lallemand & Paloc (1964, 1967), qui l'ont appliquée à suivre et détecter la fluorescéine lors d'expériences de traçages, en l'absence de tout autre moyen analytique : un sachet de charbon actif en grain (fluocapteur) est immergé dans l'eau pendant une période déterminée; le traceur adsorbé est ensuite extrait au laboratoire dans une solution alcoolique. A l'époque, l'éluat obtenu était analysé visuellement; aujourd'hui, il peut être analysé par spectrofluorimétrie.

La méthode au charbon actif n'a jamais prétendu fournir des informations quantitatives sur les traçages, et cela reste le cas aujourd'hui malgré les améliorations apportées depuis : son but reste de vérifier si le traceur injecté est présent ou pas au point de suivi (Atkinson & Smart, 1979 ; Smart & Simpson, 2001). Si les fluocapteurs continuent à être utilisés, c'est surtout en raison de la simplicité de leur mise en œuvre et de leur faible coût. Parfois, ils peuvent être la seule option de suivi possible là où

l'installation de préleveurs ou de fluorimètres n'est pas possible (Smart & Simpson, 2001). Certains auteurs mettent en avant l'avantage qu'elle aurait sur le suivi par prélèvements d'échantillons d'eau dans le cas où elle permet la concentration du traceur sur le charbon par rapport à la phase liquide (Field et al., 1995; Smart & Simpson, 2001; Aley 2002), notamment sur de très longues périodes (White et al., 2015). Une utilisation abusive de cette méthode de suivi des traçages semble toutefois se répandre, qui a justifié l'étude présentée dans cette note, réalisée à l'incitation de donneurs d'ordre, de responsables d'associations d'hydrogéologues et de professionnels de bureaux d'études, s'inquiétaient de ces dérives.

En effet, même si la littérature scientifique sur le sujet est peu abondante, de nombreux auteurs incitent à la prudence dans l'utilisation de la méthode des fluocapteurs (Smart & Simpson, 2001; Plata Bedmar & Araguás Araguás, 2002; Schudel et al., 2002; Jozja, 2008; Dörfliger et al., 2010; Meus & DeBie, 2010). Les composés fluorescents présents dans le milieu (matières organiques fluorescentes naturelles ou d'origine anthropique), qui peuvent également s'adsorber sur le charbon, augmentent alors considérablement le bruit de fond dans l'éluat, devenant source d'incertitudes. Des pics de réponses dans les longueurs d'ondes caractéristiques des traceurs peuvent apparaître, donnant des « faux positifs », et donc des erreurs radicales d'interprétations. A l'inverse, un bruit de fond élevé peut aussi masquer un éventuel signal du traceur; dans ce cas, l'absence de signal ne veut donc pas dire pour autant absence de restitution. Certains charbons de mauvaise qualité peuvent également contenir des composants qui vont interférer avec la mesure.

Par ailleurs, Dunn (1957) puis Lallemand & Paloc (1964, 1967) avaient préconisé l'utilisation des fluocapteurs pour suivre l'uranine (fluorescéine sodique) seul traceur communément utilisé à l'époque. À partir des essais préliminaires de Wittwen et al., sur les sulforhodamines B et G en 1971 (Meus & Ek, 1999), l'utilisation des fluocapteurs a eu tendance à s'élargir à l'ensemble des traceurs fluorescents. Certains auteurs, en particulier Aley, dont les guides sur le traçage (Aley, 2002, pour la plus récente édition) sont des références fréquemment citées par les praticiens aux Etats-Unis, ou Field et al. (1995, dont Aley est co-auteur) préconisent une utilisation des fluocapteurs pour une large gamme de traceurs fluorescents, non seulement l'uranine et l'éosine, mais également les rhodamines, la pyranine ou l'acide amino G; d'après Field et al. (1995), parmi les traceurs courants, seuls les stilbènes comme le tinopal ne s'adsorbent pas sur le charbon actif. Mais par ailleurs, Aley (2002) admet que tous les traceurs peuvent ne pas être retrouvés dans les fluocapteurs quand leurs concentrations dans l'eau sont faibles; ce serait particulièrement vrai pour l'éosine et la sulforhodamine B, parmi les traceurs qu'il évoque (les autres étant l'uranine et la pyranine; on laisse ici de côté le cas de la rhodamine WT, dont l'utilisation est maintenant déconseillée en France).

L'expérience acquise à CETRAHE et par d'autres praticiens (e. g. Ph. Meus, communication personnelle) indique toutefois que dans les conditions courantes de mise en œuvre des traçages, certains traceurs fluorescents comme les traceurs émettant dans le bleu (e. g. acide amino G, naphtionate de sodium) ou les sulforhodamines pouvaient ne pas être adsorbés sur les fluocapteurs, même à des concentrations importantes dans les eaux. L'étude présentée ici avait donc pour but de fournir des éléments concrets et chiffrés sur ces phénomènes pour 4 des traceurs fluorescents le plus utilisés (uranine, éosine, sulforhodamine B et naphtionate de sodium), dans des gammes de concentrations et pour des temps de contact avec charbon correspondant aux conditions généralement rencontrées aux points surveillance des opérations de traçage dans les eaux naturelles.

## 2. Protocole expérimental

Les traceurs fluorescents ont été achetés sous forme de poudre dans le commerce (société Fluotechnik). Uranine, éosine et sulforhodamine B sont des traceurs de type xanthénique dont les longueurs d'onde caractéristiques d'excitation (Ex) et d'émission (Em) dans l'eau sont respectivement : Ex = 485 nm, Em = 515 nm; Ex = 508 nm, Em =537 nm et Ex = 562 nm, Em = 585 nm (Käss 1998). Le naphtionate de sodium (Ex = 322 nm, Em = 420 nm) est le traceur émettant dans le bleu le plus puissant de point de vue rendement de fluorescence. Les solutions ont été préparées avec de l'eau déminéralisée (système Distiplus® de Servilab, fournissant une eau de conductivité < I μS/cm à 25 °C à partir d'eau du robinet elle-même produite à l'Usine du Val de l'Orléanaise des eaux par un traitement combinant charbon actif en grain puis en poudre), ceci afin d'éviter toute interférence de composés dissous avec l'adsorption des traceurs, leur extraction du charbon, ou les mesures spectrofluorimétriques.

Le charbon actif en grain utilisé a également été acheté dans le commerce (*Prolabo*, charbon végétal activé en grains 22 631.293, densité 2 g/cm³). Sa qualité a été contrôlée avant les essais en lui faisant

subir le même traitement d'extraction appliqué ensuite à celui mis en contact avec les traceurs, et en vérifiant l'absence dans l'éluat de tout composé fluorescent ayant les mêmes caractéristiques spectrales que les traceurs étudiés. Il est à noter que comme tout charbon actif, même de bonne qualité, il relargue toutefois une petite quantité de composés organiques dont les longueurs d'onde sont proches de celles du naphtionate de sodium (Jozja, 2008; Dörfliger et al., 2010). La toile plastique en polyéthylène servant à fabriquer les fluocapteurs (Fig. 1) a également été contrôlée de ce point de vue; elle ne relargue aucun composé fluorescent.

Les expériences se sont déroulées de la manière suivante: pour chacun des 4 traceurs, 10 g de charbon actif placés dans un sac de toile en polyéthylène (Fig. I) ont été mis en contact avec un volume de 300 mL à chaque fois de 3 solutions de concentrations 5 µg/L, 10 µg/L et 30 µg/L; 5 durées de contact entre le charbon et les solutions de traceurs ont été testées : 4 h, 24 h, 75 h, I semaine et 2 semaines. Toutes les expériences se sont déroulées à l'obscurité et à température ambiante. Après chaque essai, la procédure suivante de désorption a été appliquée aux poudres de charbon (adaptée de Käss, 1998) : après séchage à l'étuve (105 °C) pendant 24 h, 2 g de charbon sont soumis à une extraction dans 10 mL de solution de potasse alcoolique (KOH à 10 % dans l'éthanol). Un échantillon témoin a été préparé avec de l'eau déminéralisée pour chaque temps de contact.

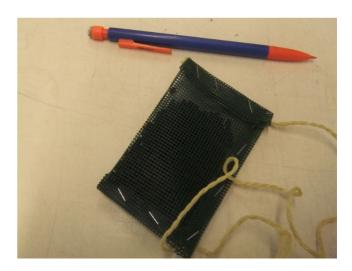


Figure 1. Type de fluocapteur utilisé pour les essais (10 g de charbon actif en grain dans un sac en polyéthylène).

Les éluats, après un temps de décantation de 18 h, ont été ensuite analysés en spectrofluorimétrie (Hitachi F-2500) par analyse spectrale, vitesse 1500 nm/min, fenêtre d'excitation et d'émission 2,5 nm, voltage 700 V. Le laps de temps de 18 h est celui utilisé de manière courante à CETRAHE, à la suite de tests préliminaires qui ont montré que les particules en suspension créent une gêne à la mesure jusqu'à environ 6 h de décantation, et que l'intensité de fluorescence mesurée reste stable jusqu'à 28 h, pour décroître ensuite.

L'analyse spectrale permet de détecter le traceur concerné à ses longueurs d'ondes caractéristiques par réalisation d'un spectre d'excitation et d'un spectre d'émission. Aucun essai de quantification des traceurs présents dans les éluats, et donc de leur taux de fixation sur le charbon, n'a été mené en raison du caractère strictement qualitatif de la méthode au charbon actif (voir Introduction).

#### 3. Résultats

#### **Uranine**

Le charbon actif adsorbe l'uranine même pour la concentration la plus faible de 5  $\mu g/L$  et dès 4 h de contact entre le charbon et la solution de traceur. La Figure 2 ci-dessous témoigne de la présence d'uranine par celle de ses pics caractéristiques à des longueurs d'onde proches de 485 nm en excitation et à 515 nm en émission (le décalage par rapport à ces valeurs caractérisant l'uranine dans l'eau venant de la matrice de potasse alcoolique). Les grands pics relativement droits apparaissant sur les spectres sont produits par la fixation au préalable des longueurs d'onde d'émission et d'excitation, respectivement, de l'uranine.

On constate par ailleurs ensuite une augmentation progressive de l'intensité du pic d'uranine, et donc de la quantité de traceur fixé sur le charbon, en fonction du temps de contact, de 4 h, à 24 h, 75 h et I semaine. En revanche, au-delà d'une semaine, l'intensité des pics commence à diminuer ; pour un temps de contact de 2 semaines, l'intensité est inférieure à celle mesurée pour un temps de contact de 75 h.

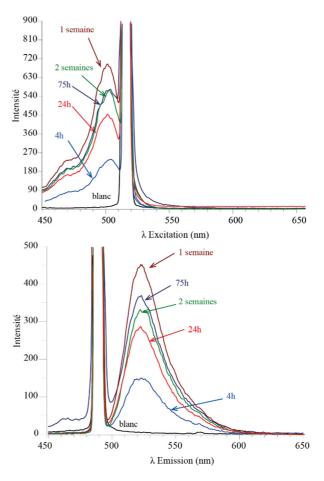


Figure 2. Spectres d'excitation et d'émission des éluats pour les solutions d'uranine à 5 µg /L.

Le même type d'évolution a été constaté pour les 2 autres concentrations testées,  $10~\mu g/L$  et  $30~\mu g/L$  (voir la Figure 3 ci-dessous pour les résultats obtenus avec la concentration la plus forte en uranine,  $30~\mu g/L$ ). Smart & Simpson (2001) font également état d'essais où la concentration d'uranine dans les éluats de charbon actif décroît après I semaine d'exposition dans le milieu naturel, qui serait la durée au bout de laquelle un état d'équilibre serait atteint.

.....

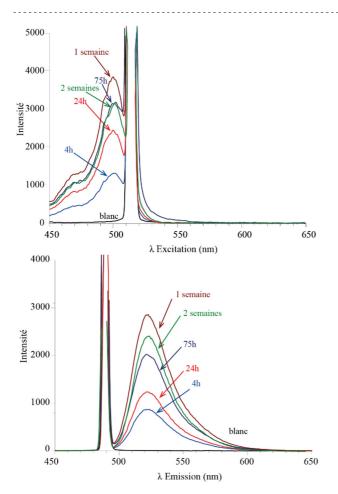


Figure 3. Spectres d'excitation et d'émission des éluats pour les solutions d'uranine à 30 μg/L.

## **Eosine**

Comme on peut le voir sur la Figure 4 ci-dessous, l'éosine (Ex = 508 nm, Em = 537 nm) montre le même type de comportement que l'uranine vis-à-vis du charbon actif : fixation dès la concentration la plus faible, 5 µg/L, et dès 4 h de mise en contact, augmentation de l'adsorption avec le temps jusqu'à un maximum au bout de I semaine ; l'intensité de fluorescence de l'éluat récupéré au bout de 2 semaines de mise en contact avec le charbon est même inférieure à celle mesurée au bout de 24 h seulement, contre 75 h pour l'uranine (Fig. 2). La même évolution a été observée pour les concentrations à 10 et 30 µg/L d'éosine.

Les moindres intensités de fluorescence des éluats issus des essais avec l'éosine (maximum < 70 ; Fig. 4), comparées aux essais avec l'uranine (maximum > 650 ; Fig. 2) pour la même concentration de départ (5  $\mu$ g/L) n'est aucunement une indication que l'uranine serait mieux adsorbée sur le charbon que l'éosine ; les intensités dépendent en premier lieu

des rendements de fluorescence propres à chaque molécule.

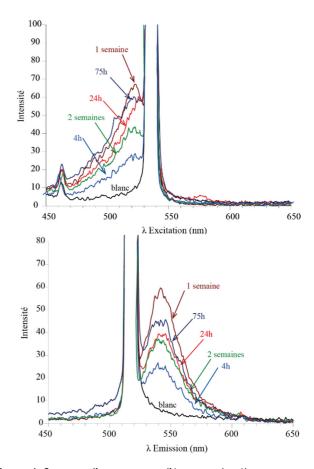


Figure 4. Spectres d'excitation et d'émission des éluats pour les solutions d'éosine à 5 µg/L.

# Sulforhodamine B

Contrairement aux deux traceurs précédents, la sulforhodamine B n'a pas du tout été fixée sur le charbon lors de notre étude, même pour la plus forte concentration (30  $\mu$ g/L), et quel que soit le temps de contact jusqu'à 2 semaines inclus. La Figure 5 le montre sur l'exemple des spectres d'excitation et d'émission des éluats issus des essais avec la solution la plus concentrée : aucun pic caractéristique de la sulforhodamine B (Ex = 562 nm, Em = 585 nm) n'est présent et les spectres ont la même allure que l'échantillon blanc d'eau déminéralisée.

La limite de détection pour la sulforhodamine B sur notre appareil est de 0,05 µg/L pour une eau naturelle peu chargée en matière organique fluorescente. Même si la matrice est ici différente, la très faible intensité du bruit de fond de fluorescence de tous les échantillons, blanc inclus (Fig. 5), indique que le seuil de détection dans ces conditions n'est

vraisemblablement pas très différent.

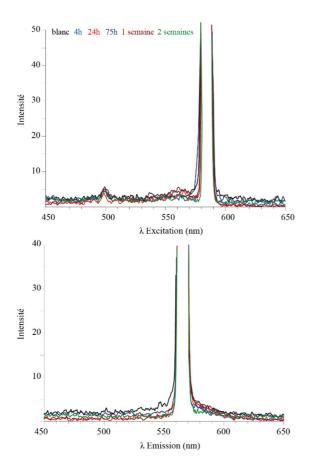


Figure 5. Spectres d'excitation et d'émission des éluats pour les solutions de sulforhodamine B à 30 µg/L.

## Naphtionate de sodium

Ce traceur montre le même comportement que la sulforhodamine B, en n'étant fixé sur le charbon à aucune concentration et pour aucun temps de contact, les spectres des échantillons ne se différenciant en rien du blanc d'eau déminéralisée testé en parallèle (Fig. 6). La limite de détection pour le naphtionate de sodium sur notre appareil est de  $0,025~\mu g/L$  pour une eau naturelle peu chargée en matière organique fluorescente.

Le bombement de tous les spectres, y compris celui du blanc, aux longueurs d'onde du naphtionate de sodium (Ex = 322 nm, Em = 420 nm; Fig. 6) est dû aux composés organiques relargués par le charbon

lors du traitement d'extraction (comparer avec les pics dus à l'uranine et l'éosine dans les Figures 2 à 4). Les pics supplémentaires apparaissant entre ces bombements et les pics d'émission et d'excitation du naphtionate de sodium sont simplement dus à la diffusion Raman dans la matrice.

Au bout de 2 semaines de contact, la quantité de ces composés relargués par le charbon modifie l'allure des spectres de telle manière qu'elle interdit toute comparaison avec les autres échantillons ou des spectres standards de naphtionate de sodium (raison pour laquelle ils n'ont pas été portés dans la Figure 6).

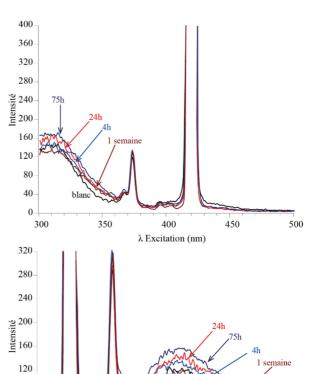


Figure 6. Spectres d'excitation et d'émission des éluats pour les solutions de naphtionate de sodium à 30  $\mu$ g/L.

400

λ Emission (nm)

450

350

80

40

0

300

#### 4. Conclusions

Les essais présentés ici confirment les mises en garde de la littérature et l'expérience des praticiens quant à l'utilisation systématique de capteurs au charbon actif pour le suivi des opérations de traçage avec des traceurs fluorescents. Elles y apportent les précisions supplémentaires suivantes :

Les traçages à la sulforhodamine B ou au naphtionate de sodium ne peuvent pas être suivis par cette méthode, le charbon actif ayant montré une incapacité à les fixer dans les conditions du laboratoire à des concentrations dans l'eau de 5 à 30 µg/L et sur des durées de 2 semaines. Cette mise en garde peut vraisemblablement être étendue aux autres traceurs du groupe des rhodamines comme la sulforhodamine G, ainsi qu'aux autres traceurs émettant en bleu comme l'acide amino G, très proche du naphtionate de sodium (Käss, 1998). Par ailleurs, l'utilisation de charbon actif pour ceux du groupe des stilbènes comme le tinopal est déconseillée même par les auteurs les plus favorables à cette méthode (Field et al., 1995).

Parmi les traceurs courants, un suivi par fluocapteur ne peut être envisagé que pour les traceurs comme l'uranine ou l'éosine, avec toutefois un certain nombre de précautions. Les essais présentés ici ont confirmé que l'accumulation de ces produits sur le charbon ne dépasse pas un délai moyen de l semaine, ce qui est en accord avec l'expérience des praticiens (voir Smart & Simpson, 2001). En ce qui concerne l'éosine, Aley (2002) indique par ailleurs qu'elle est avec la sulforhodamine B l'un des traceurs qu'on peut le plus fréquemment ne pas retrouver dans les fluocapteurs quand leurs concentrations dans l'eau sont faibles (par comparaison avec l'uranine ou la pyranine étudiées en parallèle).

Enfin, les résultats présentés ici ont été obtenus au laboratoire en éliminant tous les facteurs d'interférence avec cette méthode présents dans le milieu naturel, notamment les composés organiques fluorescents présents dans les eaux qui sont également fixés par le charbon actif. Comme on l'a rappelé plus haut, ces composés peuvent produire un bruit de fond de fluorescence masquant la présence d'uranine, d'éosine ou de tout autre traceur quand ces derniers sont en faible concentration dans les eaux, ou au contraire un signal dans des longueurs d'ondes proches de ces traceurs et créer ainsi des faux positifs. Pour tout suivi par détecteur au charbon actif, l'installation d'un fluocapteur témoin avant le passage du traceur est donc un préalable indispensable pour évaluer

l'impact de ces composés sur le signal de fluorescence qui sera ensuite émis par l'éluat extrait du fluocapteur susceptible d'avoir fixé du traceur.

Remerciements: Philippe Meus (European Water Tracing Services) pour les discussions préalables et la relecture du texte de cette note, Paul-Henri Mondain (Calligée) pour les discussions et les suggestions, Pierre Marchet (Agence de l'eau Adour-Garonne), Laurent Cadilhac (Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse) et Thierry Gaillard (Coordination nationale des hydrogéologues agréés) pour les discussions et les encouragements à diffuser ces résultats.

#### Références

Aley T.J. 2002. Groundwater Tracing Handbook. Ozark Underground Laboratory, Protem (Missouri), 35 p.

Atkinson T.C. Smart P.L. 1979. Traceurs artificiels en hydrogéologie. *Bulletin du BRGM*, 2<sup>ème</sup> série, Section III, n° 3, p 365-380.

Dörfliger N. Crochet P. Guérin R. Jozja N. Marsaud B. Mondain P.H. Muet P. Plagnes V. 2010. Guide méthodologique : Les outils de l'hydrogéologie karstique pour la caractérisation de la structure et du fonctionnement des systèmes karstiques et l'évaluation de leur ressource. BRGM-ONEMA, Orléans, 210 p.

Dunn J.R. 1957. Stream tracing. Bulletin of the Mid.-Appalachian Region of the National Speleological Society 2, p. 7.

Field M.S. Wilhelm R.G. Quinlan J.F. Aley T.J. 1995. An assessment of the potential adverse properties of fluorescent tracer dyes used for groundwater tracing. *Environnemental Monitoring and Assessment* 38, p 75 -96.

Jozja N. 2008. Importance de la composante analytique dans la fiabilité de l'interprétation d'un traçage. Actes de la Journée technique du Comité Français de l'Association Internationale des Hydrogéologues, « Hydrogéologie et karst au travers des travaux de Michel Lepiller », Orléans, 16-17 mai 2008, p. 207-218.

Käss W. 1998. Tracing Technique in Geohydrology. CRC Press, Cleveland (Ohio), 582 p.

Lallemand A. Paloc H. 1964. Possibilités offertes par la méthode de détection au charbon actif pour les expériences de coloration à la fluorescéine. *Spelunca* Mémoire 4, p 27-40.

Lallemand A. Paloc H. 1967. L'intérêt de la « méthode au charbon actif » dans les traçages à la fluorescéine en hydrogéologie. Quelques exemples. Mémoires des Réunions de l'Association Internationale d'Hydrogéologie VII, Hanovre, 1965, p 220-226.

Meus P. Ek C. 1999. Tracing technique as a contribution to karstology: past experiences, new directions. *Proceedings First Nerja Cave Geology*Symposium, Malaga, http://hdl.handle.net/2268/37432

Meus P. DeBie P. 2010. Reconsidération de la méthode au charbon actif dans les essais de traçage. Livret des Journées 2010 de Spéléologie Scientifique, 11-12 décembre, Han-sur-Lesse (Belgique).

Plata Bedmar A. Araguás Araguás L. 2002. Detection and prevention of leaks from dams. Balkema, Rotterdam, 419 p.

Schudel B. Biaggi D. Dervey T. Kozel R. Müller I. Ross J.H. Schindler U. 2002. *Utilisation des traceurs artificiels en hydrogéologie. Guide pratique*. Rapport Office Fédéral des Eaux et de la Géologie, Série Géologie 3, Berne, 77 p.

Smart C. Simpson B. 2002. Detection of fluorescent compounds in the environment using granular activated charcoal detectors. *Environmental Geology* 42, p. 538-545.

White W.B. 2007. A brief history of karst hydrogeology: contributions of the NSS. *Journal of Cave and Karst Studies* 69, p. 13-26.

White K.A. Aley T.J. Cobb M.K. Weikel E.O. Beeman S.L. 2015. Tracer studies conducted nearly two decades apart elucidate groundwater movement through a karst aquifer in the Frederick Valley of Maryland. In Doctor D.H. Land L. Brad Stephenson J. (eds.), Sinkholes and the Engineering and Environmental Impacts of Karst. Proceedings of the 14<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference, 5-9 octobre 2015, Rochester (Minnesota), p. 101-111.

Wittwen R. Waser H. Mathey B. 1971. Essai de fixation de la sulforhodamine B et de la sulforhodamine G extra sur charbon actif. Actes du 4ème Congrès national suisse de Spéléologie, Neuchâtel, septembre 1970. Stalactite supplément 6, p. 79-83.