



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

Evaluation du Risque de Contaminations microbiologiques et métalliques des Eaux du Barrage de Beni Haroun

Présenté et soutenu par :

Le : 17/06/2015

*DEKHINI HAWA

*AMIOUR ASMA

Jury d'évaluation :

Président du jury : KITOUNI RACHID (MA-A- UFM Constantine).

Rapporteur : BOUANIMBA NOUR (MC-B- UFM Constantine).

Examineurs : HAROUNI SOUFIANE (MA-A- UFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

Au personne qui m'est toujours aidé et encouragé, qui était toujours à côté, et qui m'est accompagnait durant mon chemin d'études supérieures, mon marie Boudah Sofiane.

A celui que j'aime beaucoup mon petit garçon Souleimene.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à mon frère Hamza et mes sœurs: Iméne, Aïda et Hana, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

A toute ma famille, A mon binôme Hawa et mes amis: Amira, Madjda, Sabrina, Houria et Hanane.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce mémoire soit possible, je vous dis merci.

Amiour asma.

Dédicace

Grâce à dieu tout puissant, je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire plus particulièrement :

A la mémoire de mon défunt très cher père...

A Ma très chère mère qui m'est encouragée durant toute la période de mes études; elle reste toujours la bougie qui éclaire ma vie, que Dieu me le garde.

A Mon mari Houamel Djamel : Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et tout mon respect et fidèle.

A Mes très chers frères : Khair-Eddine et Yasser qui je ne cesse de remercier pour leur encouragement, par un mot, il m'ont donné la force de continuer

A Toute ma famille

A mon meilleur chères amie Asma, Houria, Hanene, Kenza & Bouchra qui je l'aime beaucoup et que je lui souhaite une bonne chance dans ses vie et ses études

A tous ceux qui me sont chers et à ceux qui ont contribué à ma formation je dit merci.

DEKHINI HAWA

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr Bouanimba Nour (MC-B- UFM Constantine). On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait Mr Kitouni Rachid (MA-A- UFM Constantine) en étant président du jury et Mr Harouni Soufiane (MA-A- UFM Constantine) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Notre remerciement s'adresse également à tout nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenu de près ou de loin principalement à tous l'effectif du laboratoire de microbiologie département de microbiologie faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et le Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement (LSTE) (Université Frères Mentouri).

Liste des tableaux.

Tableau I.1 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.

Tableau II.2: les différentes méthodes de recherche des microorganismes.

Tableau III. 1 : Résultats d'analyse microbiologique.

Tableau III.2 : résultat de dénombrement des germes totaux.

Tableau III.3 : Les températures moyennes mensuelles (septembre 2003 – janvier 2008)
(HABILA S, 2008).

Tableau III.4: Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.

Tableau III.5: Relation entre la minéralisation et la conductivité électrique (RODIER J, 1984).

Tableau III.6: Qualité de l'eau en fonction de la conductivité électrique (NALCO, 1983).

Tableau III.7 : Classement des eaux suivant leur dureté.

Liste des figures.

Figure I.1 : La répartition des métaux dans le corps humain (Kakkar *et al.*, 2005).

Figure I.2. Les plantes terrestres utilisées pour l'élimination des polluants.

Figure I.3. Les plantes aquatiques utilisées pour l'élimination des polluants.

Figure I .4: La plante papyrus.

Figure I .5 : La plante Tamarix.

Figure I .6 : les plantes Typha Latifolia et Phragmites Australis.

Figure II. 1 : localisation du barrage de beni haroun.

Figure II.2. Le four pasteur.

Figure II.3. L'autoclave.

Figure II.4 : le paillasse de la manipulation des germes totaux.

Figure II. 5 : le paillasse de la manipulation des coliformes.

Figure II.6 : le paillasse de la manipulation des clostridium sulfito-réductrices.

Figure II.7 : Appareillage de pH-mètre.

Figure II.8: Appareillage de Conductimètre.

Figure II.9: Image d'un appareillage de la spectroscopie d'absorption Atomique à flamme utilisé.

Figure II.10 : Courbes d'étalonnages des ETM à doser (Ca, Fe, Na, Mg et Zn).

Figure III.1: (A) Solution mère et (B) Solution diluée.

Figure III.2 : Résultat des *Clostridium sulfito-réductrices*.

Figure III.3: Valeurs moyennes des métaux lourds étudiés \pm écarts types mesurées dans les sites retenus.

Liste des abréviations.

PCCl₂ : Potentiel de consommation en chlore.

PFTHM : Potentiel de formation des composés trihalométhanes.

PFTOX : Potentiel de formation des composés organohalogénés.

THM : Composés trihalométhanes.

TOX : Composés organohalogénés totaux.

AHA : l'acide haloacétiqess.

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques.

ETM : élément trace métallique.

PH : potentiel hydrogène.

UV : ultra violet.

DCO : Demande chimique en oxygène .

DBO5 : Demande biochimique en oxygène.

CE : Conductivité électrique.

LSTE : Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement.

Fe : fer.

Ca : calcium.

Na : sodium.

Zn : zinc.

Mg : magnésium.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

T° : température.

KCl : Chlorure de potassium.

BCPL: bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol

TH: dureté totale.

INTRODUCTION.....1

Chapitre I : recherche bibliographique.

Introduction.....3

Partie I : Généralités sur la microbiologie des eaux et les éléments traces métalliques.

I. la microbiologie des eaux.....5

I.1. les bactéries pathogènes et toxiques.....5

I.1.1. Escherichia coli.....5

I.2. les bactéries indicatrices de pollution.....6

I.2.1. Coliformes fécaux6

I.2.2. Streptocoques fécaux.....6

II. les éléments traces métalliques.....6

II.1. Des éléments traces essentiels.....7

II.2. Les éléments traces non essentiels.....7

III. Sources de pollution par les ETM8

III.1. Sources naturelles.....8

III.2. Sources anthropiques.....8

IV. Spéciation et biodisponibilité des ETM en milieu aqueux.....9

V. Effets des ETM sur la sante humaine..... 10

VI. Effets des ETM sur la vie aquatique.....11

VII. Techniques de dépollution.....12

Partie II : Techniques de dépollution des eaux

I. Introduction.....14

II. Bioremediation..... 14

1. La biodégradation14

2. La bioimmobilisation.....14

3. La biolixiviation.....14

4. La bioslurry (traitement en bioréacteur).....	15
5. La biorestauration.....	15
6. La bioaugmentation.....	15
7. La biostimulation.....	15
III. Phytoremediation.....	15
1. La phytoextraction.....	16
2. La pyto-stabilisation.....	16
3. La phytodégradation /Phytotransformation.....	17
4. La phytovolatilisation /Phytostimulation.....	17
IV.les plantes les plus utilisées dans la phytoremediation.....	17
IV.1. Les plantes terrestres.....	17
IV.2. Les plantes aquatiques.....	20
V. Recherche antérieures sur l'utilisation des plantes dans le traitement des eaux usées.....	22

Chapitre II : matériels et méthodes

I. La zone d'étude.....	24
I.1. Présentation du barrage de Beni Haroun.....	24
I.2. Echantillonnage.....	24
II. Matériels et méthodes pour l'étude microbiologiques des eaux.....	24
II.1. Dilution.....	25
II.2. Stérilisation.....	25
II.2.1. Sensibilité des microorganismes.....	25
II.2.2. Les différents procédés de stérilisation.....	25
A. La chaleur sèche (Four Pasteur).....	26
B. Chaleur humide (AUTOCLAVE).....	26
III. Méthode de recherche de microorganismes dans l'eau.....	27
III.1. Les germes totaux.....	28
A. Définition.....	28
B. Principe.....	28
C. Appareillage et verrerie.....	28
D. Milieu de culture et diluant.....	28

Table des matières

E. Mode opératoire	29
1) Ensemencement.....	29
2) Incubation.....	30
3) Dénombrement des germes totaux.....	30
III.2. Les coliformes.....	30
III.2.1. Définition.....	30
III.2.2. Principe.....	31
III.2.3. Appareillage et verrerie.....	31
III.2.4. Milieu de culture et diluant.....	31
III.2.5. Mode opératoire	31
III.2.5.1. Ensemencement et incubation des milieux présomptifs.....	31
1) Ensemencement.....	32
2) Incubation.....	32
3) Lecture.....	32
III.2.5.2. Ensemencement et incubation des milieux confirmatifs.....	32
1) Ensemencement.....	32
2) Incubation.....	32
3) Lecture.....	32
III.3. Les Streptocoques fécaux.....	33
III.3.1. Définition.....	33
III.3.2. Principe.....	33
III.3.3. Appareillage et verrerie.....	33
III.3.4. Milieu de culture et diluant.....	34
III.3.5. Mode opératoire.....	34
III.3.5.1. Ensemencement et incubation des milieux présomptifs.....	34
1) Ensemencement.....	34
2) Incubation.....	35
3) Lecture.....	35
III.3.5.2. Ensemencement et incubation des milieux confirmatifs.....	35
1) Ensemencement.....	35
2) Incubation.....	35
3) Lecture.....	35
III.4. Clostridium Sulfito réducteurs.....	35
III.4.1. Définition.....	35

III.4.2. Principe.....	36
III.4.3. Appareillage et verrerie.....	36
III.4.4. Milieu de culture, réactifs et diluant.....	36
III.3.5. Mode opératoire.....	37
A. Destruction des formes végétatives.....	37
B. Préparation du milieu de culture.....	37
1) Ensemencement.....	37
2) Incubation.....	37
3) Lecture.....	37
II. Matériels et méthodes pour l'analyse physico-chimique.....	38
II.1. Mesure physico-chimique.....	38
II.1.1. pH-mètre.....	38
II.1.2. Conductivité électrique (CE).....	38
II.1.3. Détermination des éléments traces métalliques.....	39
II.1.3.1. Absorption atomique.....	39
A. Principe.....	39
B. La loi d'absorption en absorption atomique.....	40
II.1.3.2. Dosage des éléments traces métalliques.....	41

Chapitre III: Résultats et discussions

Partie I : Analyses microbiologiques de l'eau du barrage de Beni Haroun

Introduction	43
I. Les Germes totaux	45
II. Les Coliformes totaux.....	46
III. <i>Escherichia coli</i>	46
IV. Les <i>Streptocoques</i>	47
V. Les <i>Streptocoques fécaux</i>	47
VI. <i>Clostridium Sulfito réducteur</i>	47

Partie II : Analyses physico-chimiques de l'eau du barrage de Beni Haroun

I. Paramètres physicochimiques.....	49
-------------------------------------	----

Table des matières

I.1. La Température.....	49
I.2. Potentiel hydrogène (pH).....	51
I.3. Conductivité électrique (CE).....	51
I.4. Détermination de la dureté totale.....	52
I.4.1. Calcium (Ca ²⁺).....	53
I.4.2. Magnésium (Mg ²⁺).....	53
I.4.3. Dureté totale.....	54
I.5. Salinité (Na).....	54
II. Les métaux lourds.....	55
II.1. Fer (Fe).....	56
II.2. Zinc (Zn).....	57
CONCLUSION	58

Le problème des eaux contaminées est aujourd'hui très préoccupant pour les pays émergents. Les polluants organiques et minéraux ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. De plus ils sont continuellement rajoutés dans les eaux par diverses activités : en agriculture par l'application de boues d'épuration ou dans l'industrie métallurgique. L'accumulation des polluants organiques et minéraux dans l'eau peut se répercuter sur la santé des êtres humains et des animaux. A l'échelle microscopique, les polluants organiques et minéraux ont aussi des effets néfastes sur les populations bactériennes, ce qui n'est pas sans conséquence sur le fonctionnement de l'écosystème.

Le barrage de Beni Haroun est une réalisation stratégique majeure dans le programme de développement du secteur des ressources en eau. Il est conçu selon une nouvelle technique de réalisation des barrages. Il est doté d'une station de pompage considérée comme l'une des plus importantes au monde.

Les eaux du barrage de Beni Haroun, sont destinées à l'alimentation en eau potable de quatre millions d'habitants, répartis sur les wilayas de Constantine, Mila, Batna, Oum El Bouaghi et Khenchela; ainsi qu'à l'irrigation de plus de 400.000 hectares de terre agricole.

Dans le cadre d'une étude de l'ensemble des barrages dans les pays du Maghreb en 2009, effectuée par l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture (UNESCO), l'eau du barrage de Beni Haroun est apparue comme la plus polluée parmi celles qui ont été testées. Il a été décelé des teneurs importantes en éléments minéraux, tels que l'ammoniaque, les nitrates, les phosphates et des métaux lourds, caractéristiques d'une pollution d'origine anthropique (eaux usées urbaines et industrielles, pratiques agricoles) et d'une dégradation évidente de la qualité de cette eau qui est, néanmoins, utilisée après traitement comme eau de boisson.

Dans toutes les stations de traitement algériennes (y compris le barrage de Beni Haroun) la chloration est la méthode utilisée pour traiter l'eau, le chlore est efficace en tant que désinfectant et peut garantir la qualité microbiologique des eaux distribuées, cependant les gestionnaires doivent aussi prendre en considération les risques a long terme liés a la formation des composés organohalogénés totaux (TOX) volatils et non volatils, il apparait que

les eaux sont le siège d'un grand nombre de réactions qui peuvent mener à la formation de sous-produits de la chloration suspects d'être mutagènes et cancérigènes.

Cette étude est relative à l'évaluation et au suivi de la qualité physico-chimique (le pH, la conductivité, la dureté, la salinité (Sodium) et les métaux lourds (Zinc et Fer)) et de la contamination microbiologique (*Germes totaux*, *Coliformes*, *Escherichia coli*, *Streptocoques*, *Streptocoques fécaux* et *Clostridium sulfito réducteur*) des eaux de barrage de Beni Haroun.

Le manuscrit s'articule autour de trois chapitres :

Le premier chapitre, est divisé en deux parties : La première est consacrée à la présentation du comportement des contaminants métalliques et bactériennes dans l'écosystème aquatique essentiellement les eaux. La deuxième partie est un ensemble de généralités sur deux techniques d'élimination des métaux (bioremédiation et la phytoremédiation) et les études antérieures qui ont utilisé la phytoremédiation (plante) pour éliminer plusieurs métaux des eaux.

Le deuxième chapitre concerne les méthodes et les techniques expérimentales adoptées dans cette étude, notamment la préparation des solutions, l'appareillage utilisé et les protocoles expérimentaux.

Le troisième chapitre est divisé en deux parties: dans la première partie nous présentons les résultats des analyses microbiologiques des eaux de barrage Beni Haroun ; et la deuxième partie concerne les résultats des analyses physico chimique tels que : pH, température, dureté, salinité et la recherche de quelques métaux lourds (zinc et fer).

INTRODUCTION

La dégradation de l'état de l'eau de consommation, a différents impacts directs ou indirects sur la santé des populations humaines en contact avec les eaux usées. Des altérations multiples peuvent affecter la qualité de l'eau consommé, elles sont classées en fonction de leur origine qui peut être de nature : Physique; Chimique et Biologique.

Ce qui caractérise la pollution biologique des eaux usées par rapport aux autres types des eaux, c'est que cette pollution renferme un très grand risque sanitaire pour les populations humaines et animales, représentant ainsi un grand danger sur les écosystèmes terrestres, et perturbant les modes de vie dans notre planète.

Le suivi des concentrations en métaux lourds est particulièrement important, vu leur toxicité et leur capacité de bioaccumulation le long des chaînes alimentaires. Contrairement aux polluants organiques, les métaux ne peuvent pas être dégradés biologiquement ou chimiquement.

Les métaux lourds se dissolvent très bien dans une eau acide. Dans des eaux neutres ou basiques, ils précipitent et s'accumulent principalement dans la phase solide. L'analyse de ces solides permet ainsi d'obtenir une vue de l'ensemble des déversements en métaux lourds qui ont eu lieu. Généralement, ils caractérisent certains types de pollution. La présence de cuivre et de nickel, est un signe des rejets provenant d'industries de traitement de surface des métaux. Le chrome dénonce la présence d'une tannerie. Le plomb est lié à des pollutions diffuses (apports dus aux transports routiers et à l'existence de sites industriels). Le zinc est évacué par des industries qui pratiquent la galvanisation ou la préparation d'alliages, tels que le laiton et le bronze. Il est également libéré lors du contact entre les eaux de ruissellement et les matériaux galvanisés (ex. toitures métalliques). Le cadmium peut notamment être rejeté par des usines de galvanoplastie et des industries chimiques de textiles et de teintures.

Connue sous le nom de la phytoremédiation, l'utilisation des plantes pour l'extraction des produits toxiques à partir du sol (plus particulièrement les métaux lourds) est passée depuis une dizaine d'années de la phase conceptuelle à la phase commerciale. Des recherches ont montré que certaines plantes peuvent accumuler des métaux lourds dans leurs parties

aériennes avec des teneurs de 1,5% de la matière sèche. Elles également absorber et dégrader les produits pétroliers et les composés chlorés. Les faibles coûts associés à la technologie de phytoremédiation, ainsi que la possibilité de recyclage de certains métaux expliquent l'intérêt grandissant pour son développement.

Dans ce chapitre nous allons présenter des généralités sur la microbiologie des eaux et les effets négatifs des métaux lourds sur la santé humaine et animale, et ses risques sur l'agriculture, et donner quelques résultats publiés par plusieurs auteurs qui ont utilisé les plantes pour éliminer différents métaux (phytoremédiation).

Partie I : Généralités sur la microbiologie des eaux et les éléments traces métalliques
--

I. la microbiologie des eaux

La pollution biologique des eaux est une pollution essentiellement microbienne, c'est à dire engendrée par des microorganismes de taille très petite en général.

Les microorganismes polluants des ressources en eau, sont à l'origine de maladies prenant en général l'appellation d'infections d'origine hydrique. Les organismes microbiens responsables de ces infections prennent quant à eux le nom d'agents pathogènes.

Ainsi, Les maladies d'origine hydrique sont des infections, qui sont dues à un agent infectieux : Bactérie, Virus ou Parasite. Les plus anciennement connues sont la fièvre typhoïde, la dysenterie bacillaire, la dysenterie amibienne, le choléra.

On distingue dans le groupe des bactéries à transmission hydrique, deux types : les bactéries pathogènes et toxiques d'une part comme Salmonella, Escherichia coli...etc., et les bactéries indicatrices de pollution fécale d'autre part.

I.1. les bactéries pathogènes et toxiques

I.1.1. Escherichia coli:

Hôte commun de l'intestin de l'Homme et des Animaux, il est recherché souvent comme germe indicateur de la contamination fécale, dans l'eau et les aliments. Cependant, il existe à l'intérieur de cette espèce quelques pathotypes responsables d'infections intestinales. Ces pathotypes sont responsables de Gastro-entérites, Diarrhées, Intoxications alimentaires, d'autres souches peuvent être la cause de méningites néo-natales ou encore d'infections du tractus urinaire.

I.2. les bactéries indicatrices de pollution

Cette classe de bactéries comprend des genres et espèces dont la présence dans les eaux ne constitue pas en elle même un risque sur la santé des populations, mais indique l'importance de la pollution biologique des eaux.

I.2.1. Coliformes fécaux :

On divise en général, les coliformes en deux types :

- **Coliformes d'origine fécale:** comprennent les espèces des genres *Citrobacter*, *Levinea*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*...etc. rencontrées dans les matières fécales humaines ou animales, les eaux usées et les eaux de surface polluées.
- **Coliformes non fécaux:** correspondent à de nouvelles espèces : *Serratia fonticola*, *Buttiauxella agrestis*, *Enterobacter intermedium*, *Klebsiella terrigena*...etc. qui proviennent uniquement des eaux d'alimentations et des sols incultes.

I.2.2. Streptocoques fécaux

Ce sont les espèces appartenant au groupe D (possédant les propriétés qui leurs permettent de se multiplier dans des conditions hostiles de croissance) qui sont recherchées comme test de contamination fécale. Exemples : Entérocoques avium, *Entérocooccus faecalis*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus equinus* ...etc.

II. les éléments traces métalliques

Un métal est un élément chimique issu le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité.

On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels caractérisés par une masse volumique élevée, supérieur à 5g par cm³.

Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ». La classification en métaux lourds est souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement « lourds » (ex : le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas des métaux mais des métalloïdes (ex : l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation « Eléments en traces Métalliques » (ETM) ou par extension « éléments traces » (MIQUEL, 2001), on distingue ainsi :

II.1. Des éléments traces essentiels

Ils sont indispensables au déroulement des processus biologiques mais à de très faibles quantités, deviennent toxiques à fortes concentrations. C'est le cas du fer(Fe), cuivre(Cu), zinc(Zn), cobalt(Co), manganèse(Mn), chrome(Cr), molybdène(Mo), sélénium(Se), nickel(Ni), Vanadium(V), Titane(Ti), Arsenic (As).

II.2. Les éléments traces non essentiels

Ils n'ont aucun rôle biologique connu ; Ces derniers sont nommés toxiques tels que le plomb(Pb), le cadmium(Cd), le mercure(Hg) et l'antimoine(Sb) (Chiffolleau *et al.*, 2001).

Les éléments traces sont des micropolluants de nature à entraîner des nuisances, même quand ils sont rejetés en quantités très faibles. Leurs toxicités se développent par bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire. Il est quasiment impossible de détecter la présence d'ETM dans l'eau, tant leur concentration y est faible ; c'est pourquoi ces éléments sont recherchés dans les sédiments et les organismes.

III. Sources de pollution par les ETM

III.1. Sources naturelles

Les métaux lourds sont présents dans l'eau, l'air et les sols. Comme tous les minerais, ils sont présents dans les roches. Ces réserves naturelles ne constituent pas en elles-mêmes un danger mais l'exploitation des gisements, l'érosion, les incendies de forêts, les prélèvements d'eau ou les éruptions volcaniques, vont répandre des traces de ces éléments dans l'environnement. Ils peuvent alors devenir toxiques s'ils se retrouvent en quantités suffisantes dans les organismes vivants.

III.2. Sources anthropiques

Outres ces phénomènes naturels, l'activité humaine, même si elle ne crée pas de métaux lourds, participe à leur diffusion dans l'environnement :

- Les effluents d'extractions minières.
- Les effluents industriels.
- Les effluents domestiques et ruissellement orageux urbain.
- Lessivage des métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides.
- Apports de métaux provenant de zones rurales, par exemple les métaux contenus dans les pesticides.
- Sources atmosphériques, par exemple combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émissions industrielles.
- Activités pétrochimiques.

Le tableau I.1 présente quelques exemples de sources industrielles et agricoles d'où peuvent provenir les métaux présents dans l'environnement.

Tableau I.1 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Biney *et al.*, 1991)

Métaux	Utilisations
Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni,	Batteries et autres appareils électriques
Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe	Pigments et peintures
Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu	Alliages et soudures
As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn	Biocides (pesticides, herbicides, conservateurs)
Ni, Hg, Pb, Cu, Sn	Agents de catalyse
As, Sn, Mn	Verre
Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn	Engrais
Cd, Pb	Matières plastiques
Sn, Hg	Produits dentaires et cosmétiques
Cr, Fe, Al	Textiles
Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn	Raffineries
Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Pb, Cd	Carburants

IV. Spéciation et biodisponibilité des ETM en milieu aqueux

La spéciation et la biodisponibilité des métaux sont deux notions intéressantes à connaître pour la compréhension du processus de bioaccumulation, en effet l'eau contient en solution des combinaisons de tous les éléments chimiques (ions majeurs, matière organique, particules en suspension, etc.) qui sont en continuelle interactions, de ce fait le métal se trouve sous des formes physico-chimiques très diverses. L'ensemble des réactions de complication entre l'élément chimique et la totalité des ligands présents dans le milieu correspond au processus de spéciation. La spéciation du métal contrôle sa toxicité et son assimilation par les organismes et affecte sa biodisponibilité (Jansen *et al.*, 2002 cités par Casas, 2005).

L'absorption du contaminant par les organismes marins à partir de l'eau ou de la nourriture ingérée dépend de la forme chimique du métal, toutefois cette fraction qui est absorbée ne représente qu'une partie seulement du total présent dans le milieu, par conséquent elle est appelée fraction biodisponible, on définit donc la biodisponibilité comme étant la capacité à être intégrée au vivant, et elle varie selon les formes chimiques pour un même métal et dépend aussi des caractéristiques chimiques de l'eau dans laquelle ils sont déversés tel que la température, le pH (Campbell et Stokes, 1985 cités par Casas, 2005), la salinité (Blust *et al.*, 1992 cités par Casas, 2005), etc.

V. Effets des ETM sur la sante humaine

La toxicité d'un métal peut être influencée par un certain nombre de facteurs. La figure I.1 illustre la répartition des métaux dans le corps humain. Parmi ces facteurs, on a ceux qui sont liés au contaminant (ou facteurs extrinsèques) tel que la nature du métal, spéciation chimique, organotropisme, biodisponibilité, etc., ces métaux peuvent agir en se liant à divers ligands contenant des groupements thiols ce qui peut conduire au blocage des groupes fonctionnels des molécules importantes tel que les enzymes, les polynucléotides, ils peuvent entraîner en outre la substitution des métaux essentiels.

A ces facteurs, s'ajoutent des facteurs intrinsèques liés à l'âge, le sexe, l'état nutritionnel, les conditions d'expositions et la variabilité génétique, etc. (Kakkar *et al.*, 2005).

L'ensemble de ces facteurs peut influencés sur la charge corporelle d'un métal, sa distribution tissulaire et ses effets nocifs.

La toxicité des métaux varie aussi selon la dose et la durée d'exposition. Une exposition de courte durée à des concentrations élevées cause des syndromes aigus, alors que l'exposition de longues durées à de faibles concentrations provoque des troubles chroniques. La gastroentérite, la pneumonie et l'insuffisance rénale et hépatique sont les troubles les plus fréquemment observés en cas d'exposition de longue durée à un certain nombre de métaux (cadmium, cuivre, plomb, zinc). L'exposition à des métaux pourrait également causer le cancer.

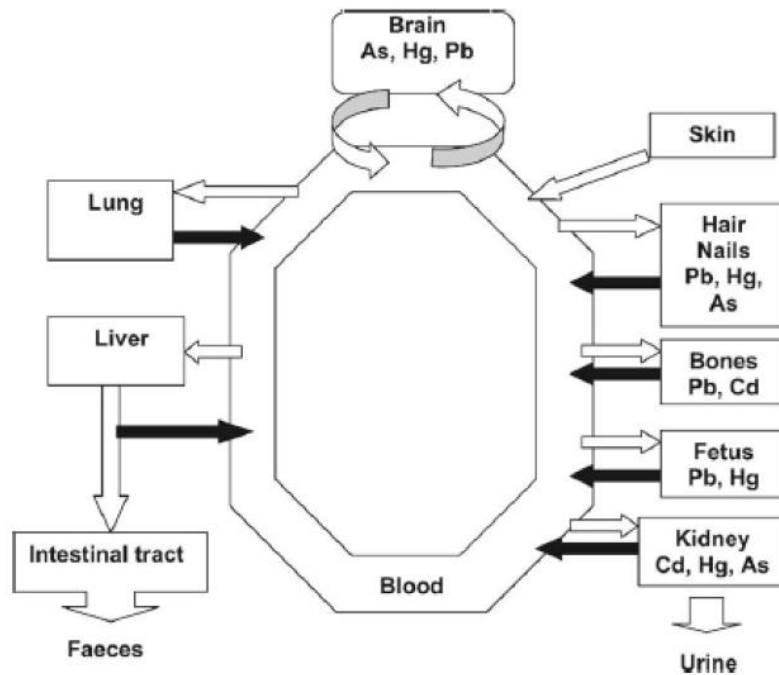


Figure I.1 : La répartition des métaux dans le corps humain (Kakkar *et al.*, 2005).
 (Brain : cerveau ; Bones : os ; Liver : foie ; Skin : peau ; Kidney : rein ; Intestinal tract : tractus intestinal ; Hair : cheveux Lung : poumon Faeces : fèces ; Nails : ongles ; blood : sang Urine : urine).

VI. Effets des ETM sur la vie aquatique

Quelques métaux lourds, comme Zn, Cu, Mn et Fe sont indispensables à la croissance et au bien-être des organismes vivants, y compris de l'homme. Mais des effets toxiques peuvent survenir lorsque ces organismes sont exposés à des niveaux de concentrations supérieurs à ceux qu'ils requièrent normalement. D'autres éléments, comme Pb et Cd, ne sont pas indispensables aux activités métaboliques et manifestent des propriétés toxiques.

La contamination de l'environnement aquatique par des métaux peut avoir des effets toxiques aigus ou chroniques, sur la vie aquatique.

Les métaux peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique. Pour certains éléments, comme l'arsenic et le cuivre, la forme inorganique est la plus toxique. Pour d'autres, comme Hg et Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des

malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés (Biney *et al.*, 1991).

VII. Techniques de dépollution

La chloration en laboratoire des eaux de barrage a permis de tester leur réactivité vis-à-vis du chlore qui est utilisé dans toutes les stations de traitement algériennes (y compris le barrage de Beni Haroun). La chloration des eaux les plus chargées en matières organiques a abouti à des potentiels de réactivité importants vis-à-vis du chlore. Tous ces potentiels (Potentiel de consommation en chlore ($PCCl_2$), Potentiel de formation des composés trihalométhanes (PFTHM) ou Potentiel de formation des composés organohalogénés (PFTOX)) semblent corrélables à la qualité physico-chimique des eaux testées. Les demandes en chlore pourraient être conditionnées par la nature et la quantité de matières organiques, mais aussi par la composition minérale de ces eaux (due à l'azote ammoniacal, aux bromures, aux métaux, aux chlorures et aux sulfates) ainsi que par la turbidité d'origine organique dans les régions à végétation plus dense. A travers les résultats concernant la détermination des Composés trihalométhanes (THM) et de l'ensemble des Composés organohalogénés totaux (TOX) volatils et non volatils, il apparaît que les eaux sont le siège d'un grand nombre de réactions qui peuvent mener à la formation de sous-produits de la chloration suspects d'être mutagènes et cancérigènes. Les schémas de réaction du chlore avec les diverses substances contenues dans ces eaux de surface semblent complexes et peuvent difficilement être prévisibles au vue de la progression de la dégradation de leur qualité et de l'insuffisance de leur protection vis-à-vis des pollutions dues aux activités humaines.

Le chlore est efficace en tant que désinfectant et peut garantir la qualité microbiologique des eaux distribuées, cependant les gestionnaires doivent aussi prendre en considération les risques à long terme liés à la formation des Composés organohalogénés totaux (TOX).

Le chlore présente comme désinfectant des inconvénients, qui sont :

- peu stable au chaud ;
- perte d'efficacité au stockage dès quelques mois ;
- faible durée de protection en raison de la volatilité du chlore

- Sensible aux matières organiques (peu pratique pour désinfecter des milieux ou eaux riches en matières organiques) ;
- Le chlore peut réagir avec les composés organiques naturels pour produire des sous-produits toxiques, dont le trihalométhane (THM) et l'acide haloacétique (AHA) qui sont cancérigènes et doivent donc être surveillés dans les réseaux d'eau potable.
- corrosion sur nombreux métaux, dont l'inox si le pH du milieu est inférieur à huit ;
- corrosion aggravée si l'eau de préparation contient des chlorures ;
- risques d'accident grave en cas de mélange avec un acide ;
- phénomènes de chlororésistance/chlorosensibilité ;
- peut tacher ou décolorer le tissu et dégrader, corroder, ronger ou dissoudre certaines matières ;
- À la différence des virus et bactéries végétatives, certaines bactéries (formant des endospores ou biofilms), certains champignons et de protozoaires y sont plus résistants, naturellement, et/ou par mutations sélectionnées par un contact fréquent avec l'hypochlorite ;
- activité inhibée par la présence d'ions de métaux lourds, d'un biofilm, de matières organiques dissoutes, en suspension ou sur les parois, à basse température, à pH faible, ou en présence d'un rayonnement UV.
- problèmes d'odeur ou de goût chloré dans l'eau (ou dans l'air dans le cas des piscines).

Ces dernières années, le développement des techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable comme la Bioremédiation et la Phytoremédiation.

Partie II : Techniques de dépollution des eaux

I. Introduction

Dans cette étude, on a discuté sur deux méthodes non polluantes et économiques et capables d'être réalisées au niveau des barrages algériens (y compris le barrage de Beni Haroun) pour éliminer des polluants organiques (pesticides, hydrocarbures, etc.) et minéraux (anions et cations majeurs, phosphates, nitrates, métaux lourds, etc.). Ces méthodes ont l'avantage qui réside dans leur mise en œuvre qui ne nécessite pas une excavation des terres, à des exceptions près. Elles sont classées en deux grandes catégories : les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés des végétaux (plantes, arbustes, arbres).

II. Bioremediation

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart des temps microscopiques (bactéries, microalgues, champignons), à dégrader les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique.

Dans la catégorie de la bioremediation, il existe encore une multitude de techniques, dont on cite :

1. **La biodégradation** : Par des micro-organismes comme les bactéries, les champignons ou les algues.
2. **La bioimmobilisation** : Spécifiquement applicable dans le cas de pollutions de sols par du chrome hexavalent ou d'autres métaux dont leur état de valence doit être diminué afin de les rendre « inactifs » du point de vue de leur toxicité dans les sols.
3. **La biolixiviation** : C'est la lixiviation favorisée par la voie biologique (généralement bactérienne). Elle correspond à une méthodologie de solubilisation des métaux lourds grâce à des bactéries acidophiles fonctionnant en présence ou en l'absence d'oxygène. Deux facteurs sont importants pour la biolixiviation : la température qui doit être comprise

entre 25 et 35 °C ; la taille des particules qui doivent être très proches de celle des bactéries. Cette méthode est également utilisée à des fins de purification de certains minéraux comme le quartz.

4. **La bioslurry (traitement en bioréacteur)** : Hydrocarbures, phénols, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), pétrole, pentachlorophénol, composés organiques halogénés volatils ou semi volatils.
5. **La biorestauration** : Ajout de nutriments (azote/phosphore) pour stimuler la croissance des microorganismes indigènes et favoriser la dégradation des polluants (pollution organique (hydrocarbures pétroliers, HAP), métaux lourds)
6. **La bioaugmentation** : Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Cette technologie est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures : Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d'une grande capacité de digestion de ces hydrocarbures.
7. **La biostimulation** : Consiste à utiliser le pouvoir de biodégradation des microorganismes endogènes et à le stimuler.

III. Phytoremediation

De nombreuses plantes sont capables de fixer dans leurs cellules les métaux lourds, radionucléides, composés organiques polluants et autres produits indésirables; certaines plantes produisent des enzymes qui dégradent ces polluants en des produits moins toxiques ou non-toxiques. La phytoremédiation est un ensemble de technologies utilisant les plantes pour réduire, dégrader ou immobiliser des composés organiques (naturels ou de synthèses) polluants du sol, de l'eau ou de l'air provenant d'activités humaines. Cette technique permet également de traiter des pollutions inorganiques (ETM, radionucléotides).

- **Sol** : Cette technique est utilisée pour décontaminer biologiquement les sols pollués par des métaux et métalloïdes, pesticides, solvants, explosifs, pétrole brut et ses dérivés, radionucléides et contaminants divers.
- **Eaux usées et effluents liquides** : La phytoremédiation sert également à la décontamination d'eaux chargées en matière organique ou en contaminants divers (métaux, hydrocarbures, pesticides). On considère alors les traitements sur sol en place (l'effluent est épandu) ou directement en milieu humide.
- **Air** : Il peut s'agir aussi de dépolluer l'air intérieur ou de recycler l'eau grâce aux plantes (d'après les recherches de Bill Wolverton pour la NASA dans les années 1980-90). Cet axe de recherche se développe de manière importante depuis quelques années. Le programme Phyt'air est un projet français qui réalise une étude de faisabilité pour la constitution d'un système simple de bioépuration de l'air intérieur.

Dans la catégorie Phytoremédiation on trouve également une diversité de techniques, en l'occurrence :

1. **La phytoextraction** : La phytoextraction continue commence à être appliquée pour la dépollution des métaux lourds (Zinc, Cadmium, Nickel) et des métalloïdes (Sélénium, Arsenic). Utilisation de plantes qui absorbent et concentrent dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges) les polluants contenus dans le sol (souvent des élément-trace métallique : ETM). On utilise souvent des plantes accumulatrices et/ou hyperaccumulatrices qui sont capables de tolérer et d'accumuler les ETM. Il est possible d'améliorer cette extraction par l'ajout de chélateurs au sol. Le plus souvent les plantes sont récoltées et incinérées ; les cendres sont stockées (en CET) ou valorisées pour récupérer les métaux accumulés (on parle alors de phytomining)
2. **La pyto-stabilisation** : est le recours à des plantes vasculaires pour réduire la mobilité et diffusion des polluants contenus dans un sol dans l'environnement : que ce soit sous forme de poussières, d'ions ou particules lessivés par l'eau, ou transportés par la faune (bioturbation), ces trois modes de transports de polluants étant généralement les premières

causes de recontamination de l'environnement sur et autour des sites pollués. La phytostabilisation ne traite donc pas véritablement la pollution ; elle est seulement fixée.

3. **La phytodégradation /Phytotransformation** : certaines plantes produisent des enzymes (déhalogénase, oxygénase...) qui catalysent la dégradation des substances absorbées ou adsorbées ; celles-ci sont transformées en substances moins toxiques ou non-toxiques par la métabolisation des contaminants dans les tissus des plantes ou par les organismes de la rhizosphère maintenue par la plante (on parle alors de rhizodégradation : dégradation par la rhizosphère).
4. **La phytovolatilisation /Phytostimulation** : les plantes absorbent l'eau de la lithosphère contenant des contaminants organiques et autres produits toxiques, transforment ceux-ci en éléments volatiles, et les relâchent dans l'atmosphère via leurs feuilles. Elles peuvent aussi dans certains cas transformer des contaminants organiques en éléments volatiles avant de les transférer dans l'atmosphère - toujours via les feuilles. La phytovolatilisation n'est pas toujours satisfaisante, car si elle décontamine les sols elle libère parfois des substances toxiques dans l'atmosphère. Dans d'autres cas plus satisfaisants, les polluants sont dégradés en composants moins - ou non-toxiques avant d'être libérés.

IV. Les plantes les plus utilisées dans la phytoremediation

L'Algérie, de part son climat méditerranéen et ses caractéristiques géomorphologiques, bénéficie de conditions favorables pour le développement d'une flore riche et variée comprenant un important potentiel en plantes souvent endémiques. Ce caractère orographique original lui confère des conditions pédoclimatiques qui se reflètent sur sa végétation très diversifiée.

Dans cette étude nous avons vérifié plusieurs plantes, les plantes sont particulièrement dispersé en Algérie (comme: *Ficus carica*, *Olea europaea* et *Nerium oleander* etc.) et des plantes aquatiques tel que : *Phragmite* (*Phragmite des joncs*, *phragmite australis* et *Iris des marais*), *Typha* et *Carex*. Pour réunir des informations qualitatives et quantitatives sur ces plantes nous pouvant profiter des résultats des études menées dans les laboratoires de chimie organique dans les universités algériennes. Et nous pouvant procéder à une amélioration des effets dépolluants de ces plantes par des modifications génétiques.

Les figures suivant contiennent les plantes les plus efficaces pour l'élimination des polluants par la phytoremediation

IV.1. Les plantes terrestres



Ficus carica



Olea europaea



Oleander
Nerium oleander L.



Tamarix smyrnensis



Helianthus annuus



Tobacco
Nicotiana tabacum L.



Azalea
Rhododendron spp.



Tomato
Lycopersicon spp.



Lantana
Lantana camara L.



Asparagus
Asparagus officinalis



Century plant
Agave spp.



Ginkgo
Ginkgo biloba L.



Sago palm
Cycas circinalis L.



Daffodil
Narcissus spp.



Wisteria
Wisteria spp.



Boxwood
Buxus sempervirens L.



Eucalyptus
Eucalyptus spp.



Chili pepper
Capsicum frutescens L.



Colza
(*Brassica napus* L.)



Arabidopsis



Brassica rapa

Figure I.2. Les plantes terrestres utilisées pour l'élimination des polluants.

IV.2. Les plantes aquatiques



Phragmite des joncs



Phragmite australis



Iris des marais



Pteridium esculentum



Agrostis stolonifera



Potamogeton cheesemanii



Néuphar



Saule



Roseaux



Jacinthe d'eau

*Typha**Carex*

Figure I.3. Les plantes aquatiques utilisées pour l'élimination des polluants.

V. Recherche antérieures sur l'utilisation des plantes dans le traitement des eaux usées

Dans cette partie nous présentons une recherche bibliographique sur les travaux réalisés sur les divers techniques et plantes utilisées pour éliminer une variété de métaux existants dans les eaux.

L'utilisation du papyrus (*Cyperus papyrus* L.) (Figure I .4) pour le traitement des métaux lourds dans les eaux usées a montré une capacité importante dans la rétention des métaux spécialement pour le Cu, Zn et Fer. Ces plantes ont retenu de 80% à 90% des métaux (Ghaouch, 1998 ; Seghairi et Debabeche, 2011). Les métaux absorbés par ces plantes sont accumulés au niveau des racines pour le Cu et dans les feuilles pour le Zn et le Fer. En présence de phragmites australis, une élimination de 87 % en chrome total est obtenue par (Begg et *al.*, 2001) et un abattement de 99% (Tiglyènes et *al.*, 2005).



Figure I .4: La plante papyrus

N. SEGHAIRI et al., (2013), ont utilisé la phytoépuration pour l'élimination du cuivre (Cu) trouvés dans la zone industrielle de Biskra. Ces auteures utilisent la plante Tamarix. Le tamarix est un arbuste ou un petit arbre fréquent dans les régions Méditerranéennes, ou il peut être spontané ou cultivé, il appartient à la famille des Tamaricacées. On en connaît divers espèces. Les feuilles sont très petites, alternées et écailleuses. Le fruit est une petite capsule triangulaire. Il pousse dans tous les terrains drainés et légers (Figure I .5).



Figure I .5 : La plante Tamarix

Les résultats de travail de ces auteures montrent que cette élimination peut atteindre 67,62 % pour les matières en suspensions, 48,60 % pour la DCO et 66,66 % pour la DBO5. L'importante diminution de ces paramètres montre que le système est bien oxygéné. Une amélioration de l'élimination de ce métaux a été observée en présence des filtres assure une efficacité importante pour la rétention du cuivre contenu dans les eaux usées industrielles à épurer avec un abattement de 75,96 % pour un temps de séjour de 15 jours. Ces résultats permettent de confirmer la performance du système étudié à traiter les rejets des eaux sous des conditions expérimentales adoptées.

BENSMINA-MIMECHE (2013), ont étudié l'élimination de différents métaux lourds trouvés dans les eaux usées urbaines de la ville de Biskra (rejet de Chetma) par deux différentes plantes (*Typha latifolia* et *Phragmites australis*). (Figure I .6).



Figure I.6. A) *Typha latifolia*

B) *Phragmites australis*

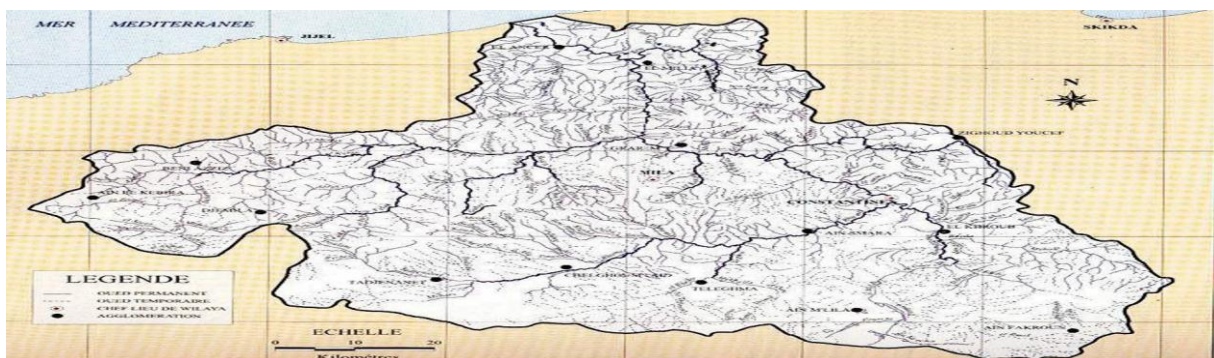
Les résultats obtenus montrent que les valeurs du DBO5, DCO, MES, azote, phosphate, et nitrite sont bien éliminés par les deux filtres plantés. En effet, ils ont assuré un bon abattement de la DCO (66,75% pour le *Phragmites australis*, 79% pour le *Typha latifolia*), de la DBO5 (75,69% pour le *Phragmites australis* et 71,60% pour le *Typha latifolia*), MES (95% pour le *Phragmites australis* et 92% le *Typha latifolia*) ainsi que les nutriments tels que les phosphates (59%), l'azote ammoniacal (68%) et les nitrates (68%). On constate aussi que la charge pathogènes en germe totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux se présente en quantité très importante dans les eaux usées. Les résultats d'analyses montrent un abattement très important de la teneur en bactéries après traitement des eaux usées par les filtres plantés de *Phragmite australis* et de *Typha latifolia*. Les résultats obtenus dans cette étude permettent de confirmer la performance des filtres plantés de *Phragmite australis* et de *Typha latifolia* à traiter les eaux usées sous climat semi-aride. Malgré la variation des concentrations, liée à la nature même des eaux usées, et à l'absence de prétraitement qui, parfois, réduit les concentrations de quelques paramètres (jusqu'à 30%), le traitement par filtres plantés à macrophytes semble être une alternative efficace et assez bien adapté aux eaux usées à charge polluante variable. Les résultats obtenus permettront de confirmer le pouvoir épurateur des deux plantes étudiées en vue de leur réutilisation dans une station de phytoépuration dans les régions semi-aride.

Dans ce chapitre, nous présentons dans un premier lieu la zone d'étude " le barrage de Beni Haroun". La nature de prélèvements, les dilutions. Les différents procédés de stérilisation ainsi que les méthodes mises en œuvre pour la recherche des microorganismes dans l'eau sont présentés dans un deuxième lieu. Enfin, dans un dernier lieu, nous précisons les mesures physico-chimiques et les résultats de l'absorption atomique.

I. La zone d'étude

I.1. Présentation du barrage de Beni Haroun

Le barrage de Beni Haroun est situé à l'aval de la confluence de Oued Rhumel et Oued Endja (nord ouest de la région de Elgrarem wilaya de Mila) à une quarantaine de kilomètres au nord de Constantine et une distance équivalente par rapport à l'embouchure de Oued Kebir. (Mer Méditerranée). Sa mise en eau a commencé en out 2003 et se poursuit lentement par étape jusqu' à ce jour (Figure II. 1) (Agence Nationale des Barrages, 2007).



I.2. Echantillonnage

Le prélèvement de l'échantillon de l'eau a été effectué au cours d'une seule campagne, le 19/03/2015, au niveau du barrage (figure II.1).

II. Matériels et méthodes pour l'étude microbiologiques des eaux

Les microorganismes rencontrés dans l'eau sont très variés. Leur nature dépend aussi de celle de l'eau à analyser : eau de captage ou de distribution, eau résiduaires, eau souterraine, eau de surface... ; la pollution microbienne dépend de la nature de l'eau.

Ce travail pratique consiste à dénombrer les microorganismes présents dans l'eau en utilisant certains milieux spécifiques à des genres bactériens.

II.1. Dilution

L'analyse pourra s'effectuer directement à partir de l'eau ou à partir des dilutions. Ces dilutions sont réalisées par la méthode classique en utilisant soit de l'eau stérile soit de l'eau physiologique stérile, soit une dilution de ringer- les dilutions ne sont pas nécessaire dans le cas d'une eau peu polluée.

Pour tous les échantillons d'eau les dilutions s'effectueront en tube de 9 ml de l'eau physiologique.

II.2. Stérilisation

« La stérilisation est une opération au résultat permanent permettant d'éliminer ou de tuer des microorganismes portés par des milieux inertes. »

II.2.1. Sensibilité des microorganismes

La sensibilité des microorganismes à un traitement thermique donné est fonction :

- De l'espèce microbienne et de la forme sous laquelle elle se trouve : végétale ou sporulée.
- De la durée du traitement.
- Du nombre de germes présents avant traitement.
- De la température.
- Du milieu dans lequel se trouvent les germes.

II.2.2. Les différents procédés de stérilisation

Il existe plusieurs procédés de la stérilisation comme : La stérilisation par l'oxyde d'éthylène, La stérilisation par rayonnement et en particulier la stérilisation par la chaleur.

A. La chaleur sèche (Four Pasteur)

C'est un four - étuve à air chaud et sec. Il est utilisé pour la stérilisation de la verrerie vide (tubes à essai, boîtes de Pétri, tubes à culture et bouchons, pipettes Pasteur et récipients divers).

La verrerie à stériliser doit être propre et parfaitement sèche, éventuellement bouchée avec du coton et emballée dans du papier solide. Elle est alors disposée à l'intérieur du four et subit un chauffage de :

- 30 minutes à 1 heure à 170° - 180°C ou
- 2 heures à 160°C ce qui a pour but d'éviter le brunissement du coton.

Le matériel ainsi stérilisé sera laissé dans l'étuve jusqu'à son refroidissement complet, puis stocké à l'abri des poussières. Pour ces opérations, compte tenu des températures relativement élevées, il est conseillé d'utiliser le plus possible de la verrerie de type "pyrex".



Figure II.2. Le four pasteur

B. Chaleur humide (AUTOCLAVE)

C'est un appareil très performant qui est indispensable dans une unité de microbiologie. Il est utilisé pour stériliser les milieux de culture neufs ou souillés, mais peut également stériliser tout autre matériel de microbiologie.

Le chauffage a lieu sous pression de vapeur d'eau, à une température de 100° à 130°C, pendant une durée qui varie en fonction du milieu, de la température utilisée et du volume des récipients.

En milieu saturé d'humidité et sous pression, la stérilisation s'opère à des températures inférieures à celles qui sont nécessaires en milieu sec.

Le matériel à stériliser est déposé dans les paniers métalliques de l'autoclave dont on aura vérifié le niveau d'eau avant chaque opération de stérilisation. Les récipients sont préalablement bouchés avec du coton (éviter de le prendre avec les doigts - utiliser de préférence une pince) et recouverts de papier d'aluminium ou de papier d'emballage très résistant.

Ces appareils étant relativement chers, on peut utiliser une cocotte minute spécialement achetée et réservée à cet usage. Les températures atteintes ne dépassant pas 115°C, les temps de chauffe seront prolongés de la moitié du temps nécessaire en autoclave.



Figure II.3. L'autoclave

III. Méthode de recherche de microorganismes dans l'eau

Les méthodes utilisées dans cette étude sont résumées dans le Tableau II.2.

Tableau II.2: les différentes méthodes de recherche des microorganismes.

Microorganisme recherché	Méthodes utilisées
Germes totaux	Incorporation en gélose
Coliformes	Incorporation en milieu sélectif (BCPL)
E. coli	Incorporation en milieu sélectif (eau peptone)
Streptocoque	Incorporation en milieu sélectif (Roth)
Streptocoques fécaux	Incorporation en milieu sélectif (litsky)
Clostridium sulfito-réducteurs	Incorporation en gélose viande fois en tube profonds

III.1. Les germes totaux

A. Définition

Ce sont des germes aérobies mésophiles se développant sur milieu ordinaire. Il s'agit de la grande majorité de la flore banale et pathogène.

B. Principe

Ensemencement par mélange à un milieu de culture défini, dans des boites de pétri d'un échantillon dilué ou de diverses dilutions de cette échantillon. Incubation des boites ensemencées à 37°C durant 24h. Calcul du nombre de micro-organismes par millilitre d'échantillon à partir du nombre de colonies obtenues dans les boites de pétri qui correspondent aux dilutions donnant un résultat significatif.

C. Appareillage et verrerie

- Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).
- Etuve ou enceinte thermostat.
- Boites de pétri en plastique.
- Pipettes graduée et pipettes pasteur.
- Bain d'eau thermostaté.

D. Milieu de culture et diluant

Diluant : Eau physiologique stérile.

Milieu de culture : Gélose nutritive pour numération.

E. Mode opératoire

Avant de commencer l'analyse, afin d'éviter toute attente au moment de couler la gélose, on fait fondre complètement les milieux au bain d'eau bouillante.

Puis, on refroidit au bain d'eau à $44^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et maintenir à cette température jusqu'au moment de l'utilisation de l'échantillon.

1) Ensemencement

- On Agite vigoureusement l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène de microorganisme, et on transfère immédiatement à l'aide d'une pipette stérile dans deux boites de pétri une prise d'essai de 1ml de l'échantillon non dilué.
- Si l'on procède à des dilutions décimales, on prépare sur un portoir le nombre de tube stériles correspondant au nombre de dilutions choisi et on introduit dans chacun d'eux 9ml de diluant.
- On transfère 1ml de l'échantillon homogénéisé, dans le premier des tubes contenant 9ml de diluant. On agite soigneusement, on obtient une dilution 1/10. Avec une nouvelle pipette transférer 1 ml de cette dilution, homogénéisée, dans le deuxième tube, puis 1ml dans chacun des deux boites correspondantes.
- A partir du deuxième tube (dilution 1/100) soigneusement homogénéisée, on procède à la fois à l'ensemencement des boites de pétri correspondantes, et à la préparation de la dilution suivante (1/1000).
- On continue jusqu'à ce que toutes les dilutions aient été préparées et les boites ensemencées.
- Dans les boites de pétri ainsi ensemencées, couler des tubes de milieu fondu et maintenu à $44^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$. le temps qui s'écoule entre le moment où l'on distribue l'échantillon ou ses dilutions et celui où l'on coule la gélose dans les boites, ne doit pas excéder 15mn.

- On mélange l'inoculum et le milieu de façon à obtenir une répartition homogène des colonies et laisser se solidifier. en posant les boîtes de pétri sur une surface fraîche et horizontale.

2) Incubation

On retourne les boîtes ainsi préparées et les placer dans l'étuve à $37^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48h à 72h.

3) Dénombrement des germes totaux

Il s'agit du dénombrement des germes aérobies mésophiles se développant bien sur milieu ordinaire (ex : Gélose nutritive). Toute une série de germes ne pourront pas se cultiver : c'est le cas des bactéries filamenteuses, des bactéries sulfureuses et ferrugineuses, des germes anaérobies...

Cependant la grande majorité de la flore banale et pathogène pourra se développer. Le double dénombrement à 20 et 37°C permet la culture d'une gamme plus étendue de microorganismes.

La numération de ces germes s'effectue sur gélose pour numération (gélose nutritive).

L'ensemencement est réalisé en masse avec 1ml d'eau, les boîtes sont incubées (24h à 37°C) et (72h à 30°C).



Figure II.4 : le paillasse de la manipulation des germes totaux.

III.2. Les coliformes

III.2.1. Définition

Ce sont des micro-organismes, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de croître en présence des sels biliaires, et capables de fermenter le lactose avec production d'acide (ou d'aldéhyde) et de gaz en à la température de $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

III.2.2. Principe

Ensemencement d'une prise d'essai de l'échantillon d'eau, dans un tube de milieu présumé.

Examen du tube après 24h à 48h d'incubation à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et repiquage du tube trouble et ayant donné lieu à un dégagement gazeux dans deux tubes de milieu plus sélectifs.

Incubation de ces milieux de confirmation durant 48h, soit à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, pour la recherche des coliformes, soit à $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pour la recherche de E coli.

III.2.3. Appareillage et verrerie

- Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).
- Etuve ou enceinte thermostaées à $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Etuve ou enceinte thermostaées à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Etuve ou enceinte thermostaées à $44^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- Pipettes à écoulement total.
- Pipettes pasteur.
- Cloches de durham.
- Tubes à essai

III.2.4. Milieu de culture et diluant

Diluant : Eau physiologique stérile.

Milieux de culture : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (bouillon BCPL) double ou simple concentration. Eau peptonée.

III.2.5. Mode opératoire

III.2.5.1. Ensemencement et incubation des milieux présomptifs

1) Ensemencement :

- agiter vigoureusement l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes.
- Transférer à l'aide d'une pipette stérile dans deux tubes de bouillon BCPL, une prise de 1ml de l'échantillon non dilué.
- Inoculer ensuite 2 tube de bouillon BCPL par dilution homogénéisée.
- Mélanger le contenu des tubes de façon à obtenir une répartition homogène de l'inoculum et de milieu.

2) Incubation :

Incuber les tubeensemencées à l'étuve ou dans l'enceinte thermostatée à $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h ou 48h s'ils ne peuvent être considérés comme positifs pendant 24h.

3) Lecture :

Considérer comme positifs les tubes pour lesquels, après 24h à 48h d'incubation, on observe une coloration jaune et un dégagement gazeux dans la cloche de Durham.

III.2.5.2. Ensemencement et incubation des milieux confirmatifs

1) Ensemencement :

À partir de chaque tube de milieu présomptif ayant donné un résultat positif, ensemenecer avec une pipette pasteur: -pour la recherche des coliforme, un tube de BCPL.

-pour la recherche d'E. Coli, un tube d'eau peptonée.

2) Incubation :

Pour la recherche des coliformes, incuber les tubes à l'étuve à $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 48h.

Pour la recherche de E. Coli, incuber au bain d'eau à $44^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 48h.

3) Lecture :

La production d'indole sur eau peptonée et le virage au jaune de l'indicateur avec production de gaz sur BCPL caractérise E. Coli.

Remarque : la réaction de l'indole est réalisée par l'addition du réactif de Kovacs.



Figure II. 5 : le paillasse de la manipulation des coliformes.

III.3. Les Streptocoques fécaux

III.3.1. Définition

Ce sont des bactéries qui donnent une réaction positive en 48 h à 37°C dans un bouillon à l'azoture, qui de plus, donnent une réaction positive en 24h et 48h à 37°C sur une gélose biliée à l'esculine ou sur un milieu de litsky.

III.3.2. Principe

Ensemencement d'une prise d'essai de l'échantillon d'eau homogénéiser, diluer ou non, dans une série de tubes de bouillon à l'acide de sodium (bouillon de Rothe) simple et double concentration.

Examen des tubes après 48h d'incubation à 37°C ±1°C.

Repiquage des cultures ayant donné réaction positive sur un milieu de confirmation (milieu de litsky à l'éthyle violet et acide de sodium).

Examen des cultures après 48h d'incubation à $37\text{C}^{\circ}\pm 1\text{C}^{\circ}$ pour l'identification et le dénombrement streptocoques fécaux.

III.3.3. Appareillage et verrerie

- Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).
- Etuve ou enceinte thermostat à $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Boîtes de pétri en plastique.
- Pipettes graduée et pipettes pasteur.
- Tubes à essai.

III.3.4. Milieu de culture et diluant

Diluant : Eau physiologique stérile.

Milieux de culture : Bouillon à l'acide de sodium (bouillon de Rothe). Milieux de litsky.

III.3.5. Mode opératoire

Préparation des dilutions :

- préparer sur un portoir le nombre de tube stériles correspondant au nombre de dilutions choisi et introduire dans chacun d'eux 9ml de diluant.
- Agiter vigoureusement l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène de microorganisme. Transférer immédiatement à l'aide d'une pipette stérile dans deux boîtes de pétri une prise d'essai de 1ml de l'échantillon non dilué.
- Transférer 1ml de l'échantillon homogénéisé, dans le premier des tubes contenant 9ml de diluant. Agiter soigneusement, on obtient une dilution 1/10. Avec une nouvelle pipette transférer 1 ml de cette dilution, homogénéisée, dans le deuxième tube, puis 1ml dans chacun des deux boîtes correspondantes.
- A partir du deuxième tube (dilution 1/100) soigneusement homogénéisée, procéder à la fois à l'ensemencement des boîtes de pétri correspondantes, et à la préparation de la dilution suivante (1/1000)
- Continuer jusqu'à ce que toutes les dilutions aient été préparées et les boîtesensemencées.

III.3.5.1. Ensemencement et incubation des milieux présumptifs**1) Ensemencement :**

- agiter vigoureusement l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes.
- Transférer à l'aide d'une pipette stérile dans deux tubes de bouillon BCPL, une prise de 1ml de l'échantillon non dilué.
- Inoculer ensuite 2 tube de bouillon de Rothe par dilution homogénéisée.
- Mélanger le contenu des tubes de façon à obtenir une répartition homogène de l'inoculum et de milieu.

2) Incubation :

Incuber les tubes ensemencés à l'étuve ou dans l'enceinte thermostatée à 37°C pendant 48h.

3) Lecture :

Considérer comme positifs les tubes pour lesquels, après 48h d'incubation, on observe un trouble du à une croissance bactérienne.

III.3.5.2. Ensemencement et incubation des milieux confirmatifs**1) Ensemencement :**

Après agitation des tubes positifs, prélever de chacun d'eux successivement 0,1ml et les reporter dans les tubes du milieu de Litsky à l'éthyle violet et l'acide de sodium.

2) Incubation :

Incuber à 37°C±1°C pendant 48h.

3) Lecture :

L'apparition d'un trouble du à une croissance bactérienne, avec ou sans dépôt violet, confirme la présence de streptocoques fécaux.

III.4. Clostridium Sulfite réducteurs

III.4.1. Définition

Les spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices sont des formes de résistance de microorganismes se développant en anaérobiose à $37C^{\circ}\pm 1C^{\circ}$ en 24h et / ou 48h en gélose viande foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium.

III.4.2. Principe

Incorporation d'un échantillon d'eau, après destruction des formes végétatives des bactéries par un chauffage approprié, dans un milieu de culture, contenant du sulfite de sodium et des sels de fer. Dénombrement après incubation pendant 24h et / ou 48h à $37C^{\circ}\pm 1C^{\circ}$, sous anaérobiose, des colonies entourées d'un halo noir.



Figure II.6 : le paillasse de la manipulation des clostridium sulfite-réductrices.

III.4.3. Appareillage et verrerie

- Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).
- Bain d'eau réglé à $80^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$.
- Etuve thermostatée à $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$.
- Pipettes pasteur.

- Tubes à essai.

III.4.4. Milieu de culture, réactifs et diluant

Diluant : Eau physiologique stérile.

Milieu de culture : Gélose viande-foie dans un flacon de 250ml + 1 ampoule sel de fer + 1 ampoule sulfite de sodium.

Réactif : Sulfite de sodium et Sel de fer (alun de fer).

III.3.5. Mode opératoire

A. Destruction des formes végétatives :

Chauffer l'échantillon d'eau (dans deux tubes à essai contenant 1ml), à $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ au bain d'eau en vérifiant que cette température est atteinte à l'aide d'un tube témoin à coté des autre. Maintenir l'échantillon à $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ pendant 10mn puis refroidir rapidement à environ 55°C .

B. Préparation du milieu de culture :

Faire fondre la gélose au bain d'eau bouillon en le désaérant soigneusement. Refroidir rapidement à environ 55°C .

Ajouter 0,5ml de solution de sulfite de sodium et quelques gouttes de la solution de sels de fer.

1) Ensemencement :

Mélanger doucement sans incorporer d'air, un tube de prise d'essai et un tube de 20ml de milieu.

Refroidir rapidement sous un courant d'eau.

2) Incubation :

Incuber à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ à l'étuve.

3) Lecture :

Après 24h à 48h d'incubation :

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir.

Remarque : lorsque des dilutions de l'échantillon sont nécessaires, elles sont préparées en nombre suffisant avec le diluant utilisé avant la destruction des formes végétatives.

II. Matériels et méthodes pour l'analyse physico-chimique

II.1. Mesure physico-chimique

II.1.1. pH-mètre

Le pH des solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre à microprocesseur de type HANNA HI 8521. L'étalonnage de l'appareil a été effectué avec des tampons commerciaux de pH= 4, pH=7 et pH= 10. Les mesures ont été effectuées au sein de Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement (LSTE). (Université Frères Mentouri).



Figure II.7 : Appareillage de pH-mètre.

Le pH est pris avec un pH mètre électrométrique en plongeant l'électrode dans l'eau à environ 6 à 8 cm de la surface. Le pH mètre est étalonné avec des solutions étalons pH 4, 7. Les résultats sont exprimés en unités pH.

II.1.2. Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de laboratoire. L'appareil est préalablement étalonné avec des solutions de Chlorure de potassium (KCl). Les résultats sont donnés en $\mu\text{S}/\text{cm}$. Les mesures de la conductivité ont été effectuées au sein de Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement (LSTE à l'aire d'un conductimètre de type Knick (Konduktometer 703)).



Figure II.8: Appareillage de Conductimètre.

II.1.3. Détermination des éléments traces métalliques

Le développement des agglomérations et de l'activité humaine, qu'elle soit domestique, industrielle ou agricole, est à l'origine de la production de la pollution dans le milieu naturel. Les activités industrielles sont les principales sources de pollution par les métaux lourds. Vue la toxicité de la plupart des métaux (Fe, Ca, Na, Zn, Mg...etc.), plusieurs méthodes ont été utilisées pour l'élimination de ces métaux contenus dans les eaux usées. Parmi ces techniques, on va tester l'utilisation de la technique d'absorption atomique à flamme pour l'élimination des métaux lourds contenus dans les eaux usées de barrage de Beni Haroun.

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un appareil d'absorption atomique de type Shimadzu AA-7000 piloté par ordinateur.

II.1.3.1. Absorption atomique

A. Principe

L'absorption des radiations électromagnétiques des régions visibles et UV du spectre par les atomes libres résulte d'un changement dans la structure électronique. On l'observe lorsque la radiation caractéristique (de résonance en général) d'un élément passe dans un nuage de vapeur atomique de l'échantillon. L'échantillon est vaporisé par aspiration de la solution dans une flamme ou par évaporation à l'aide d'une surface chauffée électriquement (atomisation): Excitation par absorption de longueur d'onde et désexcitation par réémission de longueur d'onde ou chaleur. La figure II.9 illustre une image de l'appareil d'absorption atomique qu'on a utilisé pour la détermination des métaux étudiés.



Figure II.9: Image d'un appareillage de la spectroscopie d'absorption Atomique à flamme utilisé.

B. La loi d'absorption en absorption atomique

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la loi de Beer Lambert selon laquelle l'absorbance est proportionnelle au coefficient d'absorption spécifique ϵ (coefficient d'extinction de la lumière), au trajet optique L et à la concentration C de l'élément à doser.

$$A = \epsilon.L.C \quad (\text{II.1})$$

Où

$$A = \log I_0/I \quad (\text{II.2})$$

A = Absorbance de l'élément à doser ;

I = intensité après absorption par les atomes ;

I₀ = intensité initiale de la source lumineuse.

Cependant en pratique, cette relation n'est pas toujours vérifiée. On n'obtient pas toujours une droite d'étalonnage. C'est le cas si la concentration devient trop élevée. La gamme de dosage est le domaine dans lequel la droite d'étalonnage est pratiquement une droite. IL est limité pour les faibles concentrations par la limite de détection et pour les fortes concentrations par l'erreur sur la fidélité: à une très forte variation de la concentration correspond une faible variation de l'absorbance. La gamme de dosage est généralement donnée par le constructeur. Elle dépend de la raie de dosage utilisée.

II.1.3.2. Dosage des éléments traces métalliques

Les dosages du Fer, Calcium, magnésium, sodium et zinc, sont effectués par Spectrophotométrie d'absorption atomique à la flamme de type Shimadzu AA-7000. Avant de doser ces métaux dans les échantillons, il faut établir des courbes d'étalonnage. Pour cela des gammes d'étalonnage sont préparées, à partir des solutions mères (à 1 g/L) des différents métaux.

Des solutions filles à 100 mg/L sont préparées en diluant 10 fois la solution mère. A partir de cette solution intermédiaire, on prépare les gammes d'étalonnage pour chaque élément par des dilutions. Figure II.10 : présente les courbes d'étalonnages des ETM à doser (Ca, Fe, Na, Mg et Zn).

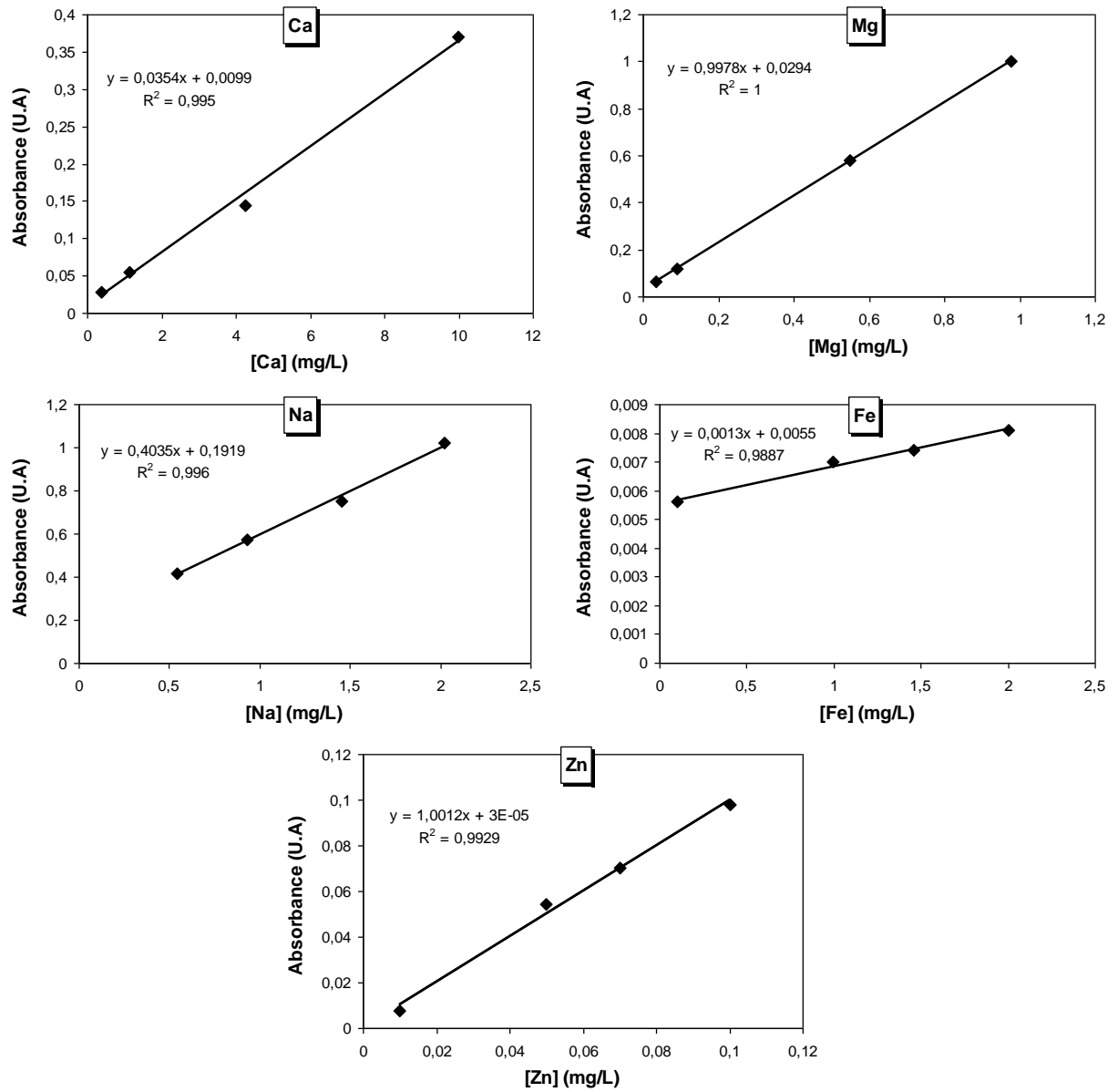


Figure II.10 : Courbes d'étalonnages des ETM à doser (Ca, Fe, Na, Mg et Zn).

Dans ce chapitre, nous exposons et discutons les résultats obtenus des analyses effectuées (Analyses microbiologiques, Paramètres physicochimiques et Les métaux lourds) sur les eaux usées de barrage "Beni Haroun".

Partie I : Analyses microbiologiques de l'eau du barrage de Beni Haroun.

Introduction

Les eaux usées domestiques sont chargées en germes microbiens qui peuvent provenir de la flore intestinale ou qui se développent notamment grâce à l'excès de matières organiques contenues dans ces eaux. En trop grand nombre, les germes fécaux peuvent être indicateurs de germes pathogènes. Ces analyses sont le critère prépondérant quant aux autorisations de baignades.

La majorité des microorganismes pathogènes (virus, bactéries ou protozoaires pouvant causer des maladies) susceptibles de se trouver dans l'eau proviennent de déjections humaines ou animales. Comme il est techniquement impossible de faire l'analyse de tous les pathogènes, on utilise plutôt des indicateurs microbiologiques qui sont en soi sans danger : les bactéries *E. coli*, les bactéries entérocoques et les bactéries coliformes totales.

Les bactéries *E. coli* sont très abondantes dans la flore intestinale humaine et animale, et c'est aussi la seule espèce qui soit strictement d'origine fécale. Les bactéries *E. coli* sont considérées comme le meilleur indicateur de contamination fécale. Leur présence dans l'eau signifie que cette dernière est contaminée par une pollution d'origine fécale et qu'elle peut donc contenir des microorganismes pathogènes.

La gastro-entérite est la maladie la plus fréquente associée à l'ingestion d'eau contaminée par des matières fécales. Bien que cette maladie soit souvent bénigne, elle peut parfois avoir des conséquences très graves sur la santé. D'autres maladies plus rares comme les hépatites ou les méningites peuvent aussi être provoquées par l'ingestion d'eau contaminée. Ce risque

concerne non seulement les membres d'une famille qui consomment l'eau d'un puits, mais aussi tous leurs visiteurs.

Les bactéries entérocoques sont moins abondantes dans la flore intestinale des humains et des animaux que les bactéries *E. coli*, et certaines espèces de ce groupe ne sont pas d'origine fécale. La détection de bactéries entérocoques dans l'eau d'un puits peut indiquer une contamination fécale ou une infiltration d'eau de surface. Il est cependant prudent de considérer la présence de bactéries entérocoques comme une indication d'une contamination fécale.

Les coliformes totaux constituent un groupe hétérogène de bactéries d'origines fécale et environnementale. En effet, la plupart des espèces de coliformes totaux peuvent se trouver naturellement dans le sol et la végétation. Leur présence dans l'eau n'indique pas une contamination fécale ni un risque sanitaire, mais plutôt une dégradation de la qualité bactérienne de l'eau. Cette dégradation peut être attribuée, entre autres, à une infiltration d'eau de surface dans le puits, ou au développement progressif d'une couche de bactéries sur les parois appelée « biofilm ». L'analyse des coliformes totaux permet notamment d'obtenir de l'information sur la vulnérabilité possible d'un puits à la pollution de surface.

Dans cette partie de ce travail, l'orientation de notre étude est vers: la réalisation des analyses microbiologique sur l'eau du barrage Beni Haroun, et la recherche des différents types des microorganismes présents dans cette eau.

Parmi ceux-ci, il est recommandé de faire l'analyse de 6 groupes principaux :

1) *Germes totaux*, 2) *Coliformes* 3) *Escherichia coli*, 4) *Streptocoques*, 5) *Streptocoques fécaux* et 6) *Clostridium Sulfito réducteur*.

Dans notre étude, les analyses sur les microorganismes trouvés des eaux usées de barrage de Beni Haroun sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau III. 1 : Résultats d'analyse microbiologique.

Micro-organismes	Résultats
	Beni Haroun
<i>Germes totaux</i>	+
<i>Coliformes</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Streptocoques</i>	-
<i>Streptocoques fécaux</i>	-
<i>Clostridium Sulfito réducteur</i>	+

Les résultats des analyses microbiologiques des eaux de Barrage de Beni Haroun ont montré l'existence des germes totaux et des *Clostridium Sulfito réducteur*; et l'absence des bactéries d'*Escherichia coli*, *Streptocoques*, *Streptocoques fécaux* et coliformes.

I. Les Germes totaux

A l'émergence (une émergence d'eau minérale naturelle est l'endroit où elle est collectée par un ouvrage de captage qui peut être une cavité naturelle aménagée, un puits, une galerie ou un forage), les valeurs de dénombrement des germes totaux ne devraient normalement pas dépasser respectivement 20 par ml à 22°C en 72 heures et 6 par ml à 36°C en 48 heures, étant entendu que ces valeurs doivent être considérées comme des nombres guides et non comme des concentrations maximales.

Pour une eau de distribution, les valeurs de référence sont : <100 à 22°C et <10 à 37°C.

Pour une eau de production, les valeurs de référence sont : <20 à 22°C et <2 à 37°C.

Les résultats de dénombrements de germes totaux pour les différentes dilutions sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III.2 : résultat de dénombrement des germes totaux.

Dilutions	Solution mère	1/10	1/100	1/1000
Nombre des colonies	38	25	17	6

La figure III.17 (A et B) illustrent les dénombrements des germes totaux dans l'eau ultra pure que nous avons analysée pour la solution mère et la solution diluée (1/1000), respectivement.

Le facteur de colonies :

$$\left. \begin{array}{l} \text{FC : 6 colonies} \rightarrow 1/1000 \\ \text{X} \rightarrow 1\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=6000\text{colonies/ml}$$

Notre eau contient les germes totaux (6000 colonies /ml) cette valeur est supérieurs a la norme édicté par la pharmacopée qui est de 100 colonies /ml donc cette eau n'est pas conforme.



(A)



(B)

Figure III.1: (A) Solution mère et (B) Solution diluée.

II. Les Coliformes totaux

Dans notre étude les analyses microbiologiques des eaux de barrage de Beni Haroun montrent un test négatif de ces bactéries. Les coliformes totaux constituent un groupe de bactéries que l'on retrouve fréquemment dans l'environnement, par exemple dans le sol ou la végétation, ainsi que dans les intestins des mammifères. Les coliformes totaux n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement en eau peut être contaminée par des micro-organismes plus nuisibles. La présence des coliformes dans les eaux usées présente un risque pathogène qui indique une contamination organique.

III. Escherichia coli

Les analyses des eaux de barrage de Beni Haroun montrent l'absence de ce type de bactéries. *E. coli* est le seul membre du groupe des coliformes totaux que l'on trouve exclusivement dans les intestins des mammifères, dont les humains. La présence d'*E. coli*

dans de l'eau indique une contamination récente par des matières fécales, et peut indiquer la présence possible de pathogènes responsables de maladies, comme des bactéries, des virus et des parasites.

IV. Les Streptocoques

Les analyses des eaux de barrage de Beni Haroun montrent l'absence des streptocoques. Les streptocoques sont responsables de très nombreuses infections dont font partie les maladies suivantes : angine bactérienne, scarlatine, infections cutanées notamment impétigo ou érysipèle, infections des voies respiratoires comme les pneumopathies, certaines méningites, des infections généralisées.

V. Les Streptocoques fécaux

Les analyses réalisées indiquent l'absence de ces bactéries dans les eaux de barrage. Les streptocoques fécaux appartiennent à un groupe de streptocoques qui ne sont pas tous d'origine fécale (groupe D). Germes présents dans les intestins des animaux à sang chaud. Leur présence dans l'eau en nombre élevé est un indicateur d'une contamination de l'eau par des excréments ainsi que la présence possible d'autres germes porteurs de maladies.

VI. Clostridium Sulfito réducteur

Le test de la présence de ces bactéries dans les eaux analysées est positif. Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont des germes capables de se reproduire et de se maintenir très longtemps dans l'eau sous une forme végétative :

- 1- Leur présence dans l'eau, en l'absence de germes fécaux, peut être interprétée comme un défaut de protection de la nappe contre la présence d'une flore bactérienne étrangère,
- 2- Du fait de leur similitude de comportement avec les parasites, les spores constituent un bon indicateur pour ces micro-organismes. En outre, ces formes résistent à la chloration. Ceci explique que pour ce paramètre particulier, ce ne sont pas des bactéries elles-mêmes mais leurs spores qui sont recherchées.



Figure III.2 : Résultat des *Clostridium sulfito-réductrices*.

Partie II : Analyses physico-chimiques de l'eau du barrage de Beni Haroun
--

I. Paramètres physicochimiques

I.1. La Température

La température de l'eau joue un rôle important en ce qui concerne la solubilité des sels et des gaz. Par ailleurs, la température accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques d'un facteur 2 à 3 pour une augmentation de température de 10 °C. L'activité métabolique des organismes aquatiques est également accélérée lorsque la température de l'eau s'accroît. La valeur de ce paramètre est influencée par la température ambiante mais également par d'éventuels rejets d'eaux résiduaire chaudes (DE VILLERS, 2005). La température d'une eau potable doit être inférieure en été, supérieure en hiver à la température de l'air (RODIER J, 1984). La source principale de nuisance thermique pour les eaux de surface est constituée par les centrales thermiques (70 à 80 %), le reste étant lié à la métallurgie, aux industries chimiques et alimentaires.....etc. (PESSON P, 1976 ET RAMADE F. 1982). L'élévation de la température s'accompagne d'une diminution de la densité, d'une réduction de la viscosité, d'une augmentation de la tension de vapeur saturante à la surface et d'une diminution de la solubilité des gaz, en plus cette augmentation de la température favorise l'auto-épuration, et accroît la vitesse de sédimentation (LOUP J. 1974).

Dans une autre étude, S. Habila et al. (HABILA S, 2008) ont fournis les données de la station météorologique du barrage de Beni Haroun, les résultats obtenus dans cette étude sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau III.3 : Les températures moyennes mensuelles (septembre 2003 – janvier 2008)
(HABILA S, 2008).

Les Quatre saisons	Moins	Températures moyennes (°C)
L'Automne	Septembre	25
	Octobre	22
	Novembre	14,9
L'Hiver	Décembre	14
	Janvier	9,7
	Février	10,4
Le Printemps	Mars	13
	Avril	17
	Mai	21
L'Été	Juin	25
	Juillet	28
	Aout	28

Les données de la station météorologique du barrage de Beni Haroun (Tableau II.3) Concernant la variation de la température en fonction des mois, indiquent que la zone d'étude est caractérisée par un climat doux est humide en hiver et sec en été. Les moyennes mensuelles les plus élevées, sont observées essentiellement pendant la période d'été (Juin-Septembre) avec des températures variant de 25 à 28 °C.

Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau utilisée en France depuis 1979 (Masson, 1988) (tab. 39), et si nous comparons les résultats obtenus en 2008 (HABILA S, 2008), les eaux de barrage "Beni Haroun" sont toujours de qualité normale (classes 1A) respectivement en fonction de leurs températures.

Tableau III.4: Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.

<i>Température</i>	<i>Qualité</i>	<i>Classe</i>
≤ 20 °C	Normale	1A
20 °C - 22 °C	Bonne	1B
22 °C – 25 °C	Moyenne	2
25 °C – 30 °C	Médiocre	3
≥ 30°C	Mauvaise	4

I.2. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH représente le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu aquatique. Un pH compris entre 6 et 9 permet un développement à peu près correct de la faune et de la flore. Les organismes vivants sont très sensibles aux variations brutales même limitées du pH. L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les équilibres ioniques des autres éléments en augmentant ou diminuant leur toxicité. Des pH faibles augmentent le risque de présence de métaux sous une forme ionique plus toxique. Des pH élevés augmentent les concentrations d'ammoniac, toxique pour les poissons (DE VILLERS J ET ALL, 2005).

Le pH a diminué de l'amont vers l'aval, cela peut être dû aux rejets industriels de diverses natures et origines. D'après Brémond et Vuichard (1973), les eaux alcalines présentent généralement une faune plus riche et plus diversifiée que les eaux acides. (Gaujous, 1995).

Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau ; la réglementation algérienne indique que le pH doit être compris entre : $6,5 < \text{pH} < 8,5$. Les résultats de l'analyse des eaux de Barrage de Beni Haroun donnent une valeur de **pH= 7,84**, donc on constate que le pH de cette eau se trouve dans les normes. On remarque que, le pH des eaux de Barrage de Beni Haroun est faiblement alcalin.

I.3. Conductivité électrique (CE)

La mesure de la conductivité électrique permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau [Rodier et al, 2005]. Elle dépend de la quantité des sels ionisables. Elle constitue une bonne appréciation des concentrations globales des matières en solution dans l'eau.

La conductivité d'une eau naturelle est comprise entre 50 et 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$. L'estimation de la quantité totale de matières dissoutes peut être obtenue par la multiplication de la valeur de la conductivité par un facteur empirique dépendant de la nature des sels dissous et de la température de l'eau. La connaissance du contenu en sels dissous est importante, dans la mesure où chaque organisme aquatique a des exigences propres (DE VILLERS J ET ALL,

2005). La mesure de la conductivité électrique permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau (RODIER J. 1984).

Tableau III.5: Relation entre la minéralisation et la conductivité électrique (RODIER J, 1984).

Conductivité électrique	Taux de minéralisation
CE < 100 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation très faible
100 < CE < 200 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation faible
200 < CE < 333 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation moyenne
333 < CE < 666 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation moyenne accentuée
666 < CE < 1000 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation importante
CE > 1000 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation élevée

Du point de vue qualité de l'eau, on a le classement suivant :

Tableau III.6: Qualité de l'eau en fonction de la conductivité électrique (NALCO, 1983).

Conductivité électrique ($\mu\text{s/cm}$)	Qualité de l'eau
50 à 400	Excellente
400 à 750	Bonne qualité
750 à 1500	Médiocre mais eau utilisable
> à 1500	Minéralisation excessive

La mesure de la conductivité permettra donc d'apprécier la qualité des sels dissous dans l'eau. La réglementation Algérienne indique une valeur limite de 2880 $\mu\text{S/cm}$. Bien que dans notre travail, le résultat obtenu est de **990 $\mu\text{S/cm}$** pour les eaux de Barrage de Beni Haroun, la valeur est dans les normes. D'après les normes situés dans le tableau II, on remarque que les eaux de Barrage de Beni Haroun sont médiocre mais eau utilisable, mais ces eaux ont besoin d'autres traitements (chimique ou biologique) pour améliorer sa qualité.

I.4. Détermination de la dureté totale

La dureté totale représente la teneur en ions Ca^{2+} et Mg^{2+} principalement. La dureté de l'eau joue un rôle important dans la vie courante notamment en ce qui concerne l'encrassement des résistances électriques des appareils ménagers.

Pour l'eau destinée à la consommation humaine. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) indique qu'une dureté élevée peut provoquer la formation des dépôts tandis qu'une faible dureté peut engendrer des problèmes de corrosion.

Tableau III.7 : Classement des eaux suivant leur dureté.

Eau	Concentration en CaCO ₃
Très douce	< 30 mg/L
Douce	30 à 50 mg/L
Dure	150 à 300 mg/L
Très dure	> 300 mg/L

I.4.1. Calcium (Ca²⁺)

Le calcium est un élément de la dureté. C'est un métal alcalino-terreux très répandu dans la nature. Les eaux potables de bonne qualité ayant des teneurs en calcium comprennent entre 100 et 140 mg/l. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande pour la teneur en calcium dans les eaux destinée à la consommation humaine une valeur guide de 250 mg/L. La réglementation Algérienne indique un niveau guide de 200 mg/L et une valeur maximal de 500 mg/L. Notre résultat indique que la teneur en calcium des échantillons des eaux de Beni Haroun est de **46,564 mg/L**, et cette valeur est faible par rapport à celles du OMS, elle indique une faible dissolution du calcium qui pourrait être due au phénomène de dilution causée par les pluies d'hiver.

L'ion calcium joue un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques. En effet, il entre dans la constitution des squelettes et coquilles, et dans les phénomènes de perméabilité cellulaire; il est concentré par les organismes à partir de l'eau ou des aliments (Gaujous, 1995).

I.4.2. Magnésium (Mg²⁺)

Le magnésium est un constituant de nombreux minéraux et roches. Il provient également de la dissolution d'autres roches dans les eaux continentales (basalte, magnésites, argiles, etc.).

Selon Brémond et Vuichard (1973), le magnésium contribue à la dureté de l'eau sans en être l'élément essentiel. En effet, le rapport Mg/Ca est en général très inférieur à 1. Notre organisme a besoin de magnésium pour le développement osseux et pour le métabolisme de nombreux enzymes (protéines). Le magnésium prévient les crampes musculaires et protège contre les infarctus du myocarde. L'adulte a besoin d'environ 500 mg de magnésium par jour. On trouve également du magnésium dans les produits céréaliers, les noix et les fruits à coques.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande comme valeur limite pour le magnésium 30 mg/L. Notre résultat indique une teneur de **2,169 mg/L**, cette valeur est faible par rapport à celles du OMS. Une telle observation peut s'expliquer par le fait que les eaux usées sont d'abord collectées et traitées au niveau des stations d'épuration avant qu'elles arrivent aux barrages ce qui traduit un taux faible en magnésium.

Le magnésium, un élément indispensable à la vie aquatique, joue un rôle dans la respiration et la photosynthèse (dont il peut être un facteur limitant). Il entre dans la composition du squelette de certains organismes.

I.4.3. Dureté totale

En pratique on considère souvent que la dureté totale d'une eau de consommation est égale à la somme de sa dureté calcique et la dureté magnésienne (M. Mehaoua et N. Ahmadi)

$$\text{TH} = [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}] \quad (\text{III.1})$$

La dureté totale englobe la teneur en sels de calcium et de magnésium présent dans l'eau, elle est exprimée en mg/L, la **dureté totale** pour les eaux de barrage de Beni Haroun est égale à **48,733 mg/L**. Donc ces résultats montrent que les eaux de barrage de Beni Haroun sont des eaux douces par apport ou classement.

I.5. Salinité (Na)

Le sodium est l'un des constituants majeurs de l'écorce terrestre (2,83 %). Il existe dans la totalité des eaux car sa solubilité est très élevée (Brémond et Vuichard, 1973).

Le sodium est un minéral qui joue un rôle important dans l'état d'hydratation de l'organisme. Il est présent dans le sang et dans le liquide extracellulaire dans lequel baignent les cellules. Le sodium aide également à maintenir l'équilibre acido-basique et est essentiel dans la transmission des influx nerveux ainsi que la contraction musculaire. Il est donc indispensable d'en consommer en quantité suffisante, mais sans excès. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande une valeur guide de 20 mg/L. La concentration de sodium dans les eaux de Barrage de Beni Haroun est de **6,795 mg/L**, cette faible teneur relevée peut être due à une végétation intense où l'assimilation de cet élément (Na) est importante.

II. Les métaux lourds

Le suivi des concentrations en métaux lourds est particulièrement important, vu leur toxicité et leur capacité de bioaccumulation le long des chaînes alimentaires. Contrairement aux polluants organiques, les métaux ne peuvent pas être dégradés biologiquement ou chimiquement.

Les métaux étudiés dans le présent travail sont le calcium(Ca), magnésium(Mg), sodium(Na), fer(Fe), zinc(Zn). Ils ont été choisis car ils sont les plus représentés et les plus problématiques dans l'environnement (Nakhlé, 2003 et all). La présence de cuivre et de nickel, est un signe des rejets provenant d'industries de traitement de surface des métaux. Le chrome dénonce la présence d'une tannerie. Le plomb est lié à des pollutions diffuses (apports dus aux transports routiers et à l'existence de sites industriels). Le zinc est évacué par des industries qui pratiquent la galvanisation ou la préparation d'alliages, tels que le laiton et le bronze. Il est également libéré lors du contact entre les eaux de ruissellement et les matériaux galvanisés (ex. toitures métalliques). Le cadmium peut notamment être rejeté par des usines de galvanoplastie et des industries chimiques de textiles et de teintures.

Dans notre étude, les analyses sur les teneurs des deux métaux lourds : Fe et Zn dans les eaux usées de barrage de Beni Haroun.

II.1. Fer (Fe)

Le fer dissous dans les eaux souterraines est sous la forme réduite du fer II. Cette forme est soluble et, normalement, ne pose aucun problème par elle-même. Le fer II est oxydé en fer III par le contact avec l'oxygène de l'air ou par l'action de bactérie. Le fer III précipite ensuite sous forme d'hydroxydes insolubles dans l'eau. Ils sont de couleur rouge rouille et causent la souillure et le colmatage des écrans, des pompes, des tuyaux, etc. Si les dépôts d'hydroxyde de fer sont produits par des bactéries alors ils sont collants et les problèmes de taches et de colmatages deviennent encore pires. La présence de bactéries de fer peut être indiquée par la présence de boue rouillée sur le lieu de travail, par une diminution du débit d'eau et une odeur nauséabonde, des dépôts gluants pouvant provoquer des problèmes de blocages.

L'élimination du fer biologique est un moyen d'enlever le fer des eaux souterraines grâce à de simples filtres. Les microbiologistes ont découvert que certaines bactéries sont capables d'oxyder et d'immobiliser le fer. Les bactéries responsables de ce processus semblent être des bactéries sans risques pour l'environnement.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande une valeur guide de 0,3 mg/L. La réglementation algérienne retient cette même valeur de 0,3 mg/L. En fait, si l'on veut éviter tous les inconvénients (goût, couleur, précipité, taches sur le linge), l'eau de distribution ne devrait pas avoir une teneur en fer supérieure à 0,05 mg/L. L'élimination du fer peut se faire par oxydation-aération suivie d'une filtration ou par oxydation biologique.

Pour notre analyse, la concentration de fer est **0,0762 mg/L** pour les eaux de barrage de Beni Haroun, cette teneur est peut élevée par apport au l'eau de distribution. Ceci pourrait être attribué aux rejets industriels.

II.2. Zinc (Zn)

Le zinc est présent naturellement dans l'air, l'eau et le sol, mais les concentrations en zinc de façon non naturelle sont causées par les rejets de zinc par les activités humaines. La plupart du zinc est rejeté par les activités industrielles, telles que l'exploitation minière, la combustion du charbon et des déchets et l'industrie de l'acier.

L'eau est polluée en zinc du fait de la présence de grandes quantités dans les eaux usées des usines industrielles. Ces eaux usées ne sont pas traitées de façon satisfaisante. L'une des conséquences est que les fleuves déposent des boues polluées en zinc sur leurs rives. Le zinc peut aussi augmenter l'acidité de l'eau. Certains poissons peuvent accumuler le zinc dans leur organisme lorsqu'ils vivent dans des eaux contaminées en zinc.

D'un point de vue physiologique, et sans que la toxicité puisse entrer en jeu, il apparaît surtout que la quantité de zinc tolérable dans l'eau est rapidement limitée par le goût désagréable des sels de zinc (au-dessus de 5 à 10 mg/L). Pour l'eau destinée à la consommation humaine, en raison de problèmes particuliers susceptibles d'introduire une gêne pour le consommateur (aspect, goût), l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande comme valeur limite pour le zinc 3 mg/L.

Dans notre travail, la teneur en Zinc trouvée pour les eaux de barrage de Beni Haroun est de **0,0085 mg/L**, donc elle se trouve dans les normes.

Dans une étude similaire, **Habila Safia (2010)**, a effectué quatre campagnes de prélèvement durant la période (février – décembre 2007), au niveau de quatre stations choisies en fonction des sources de pollution et a utilisé le spectrophotomètre d'absorption atomique avec flamme pour détecter plusieurs métaux (Pb, Cd, Cr, Cu, Mn, et Zn) dans les eaux de barrage de Beni Haroun, les résultats de cette étude sont présentés dans la figure suivante :

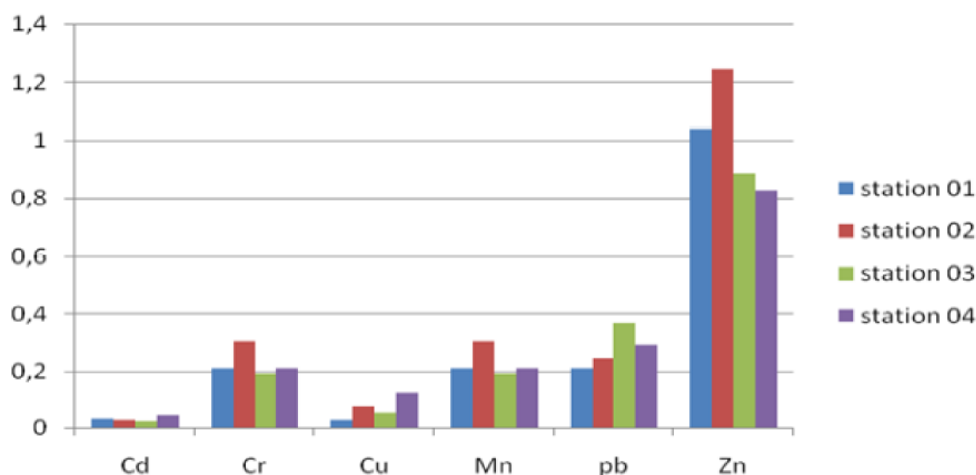


Figure III.3: Valeurs moyennes des métaux lourds étudiés \pm écarts types mesurées dans les sites retenus.

L'auteur de cette étude (Habiba Safia) a conclu que les concentrations obtenues pour les métaux lourds (le plomb, le cadmium, le chrome, et le manganèse) dépassent largement les valeurs guide pour l'OMS. Ce qui nous a permis de constater que les eaux de ce barrage ont subi une pollution minérale importante. Cette étude a montré le risque auquel est exposée la population humaine qui consomme l'eau du barrage. Pour cela il paraît primordial de mettre fin à cette pollution en adoptant des mesures nécessaires.

Pour conclure ce travail, il convient de rappeler que le barrage "Beni Haroun" est l'un des ressources en eau les plus importantes, La mise en service de barrage "Beni Haroun" a permis de constituer une réserve d'eau qu'il faut absolument préserver pour l'avenir. L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer la pollution microbiologique des eaux, la qualité physico-chimique et détecter le niveau d'une éventuelle contamination métallique des eaux de barrage " Beni Haroun", induite par les activités agricoles et des agglomérations voisines de la zone d'étude.

Les eaux usées sont collectées et traitées au niveau des STEP et malgré cela, les rejets diffus sont encore responsables de toute sorte de perturbations des milieux aquatiques. En effet, les résultats obtenus suite à cette recherche, nous ont permis de réaliser une évaluation de la pollution microbiologique, de la qualité physico-chimique, ainsi qu'une estimation de la contamination métallique.

Les études des différents paramètres microbiologiques et physico-chimiques analysés ont révélé les résultats suivants :

- *une pollution organique et biologique (la présence des *Germes totaux* et *Clostridium sulfite-réducteur*);
- *une température d'eau saisonnière ;
- * un pH à tendance faiblement alcaline ;
- * une conductivité électrique traduisant une minéralisation importante; la qualité d'eau est médiocre mais utilisable.
- * La dureté totale montre que les eaux sont douces.
- * une salinité peut être importante ;
- *Le dosage des métaux lourds dissous dans l'eau n'a pas rendu compte de la pollution métallique, du fait que les métaux se lient aux particules en suspension et finissent par se déposer dans les sédiments. En fait, l'eau seule ne peut nous renseigner sur le niveau de la contamination métallique à cause de la faible solubilité de ces éléments et de la sédimentation des matières en suspension sur lesquelles est adsorbée la grande partie des métaux lourds introduits dans un écosystème aquatique.

Dans l'ensemble, notre étude nous a permis d'évaluer la qualité des eaux de barrage "Beni Haroun", d'évaluer les paramètres physico-chimiques de barrage, et de mettre en évidence la présence effective d'éléments traces métalliques dans l'eau et ces eaux sont sérieusement

Conclusion générale

perturbés par les divers rejets domestiques, industriels et agricoles malgré la collecte des eaux usées au niveau des stations d'épuration.

Aussi, notre étude, en plus de son intérêt immédiat, nous servira de référence pour des études futures. En effet, le traitement des eaux usées ainsi est essentiels pour mettre en valeur l'effet des stations d'épuration. Nous nous posons des questions qui pourraient faire l'objet de thèmes de recherche pour des travaux ultérieurs: Quelle sera la qualité des eaux de barrages Beni Haroun vis-à-vis de la contamination métallique par les métaux lourds dosés dans la faune et la flore aquatiques ?

Enfin, il devient donc nécessaire d'instaurer un programme de contrôle et de surveillance continu des différentes sources de pollution et de leur effet sur l'environnement, en obligeant les divers industriels existants à se doter de système de traitement de leurs eaux résiduelles, ainsi que le recyclage et la réutilisation des déchets. Plus de sa on propose des techniques de dépollution naturelle et non toxique comme la bioremédiation et la phytoremédiation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agence Nationale des Barrages, 2007.

BEGG, J.S., Lavigne, R.L., VENEMAN, P.L.M. (2001), Reed beds: Constructed wetlands for municipal wastewater treatment plant sludge dewatering. *Wat. Sci. Tech.*, 44,11-12, 393-398.

BENSMINA-MIMECHE L., DEBABECHE M., SEGHAIRI N., BENAMEUR N. CAPACITE DE FILTRES PLANTES DE MACROPHYTES POUR L'EPURATION DES EAUX USEES DANS LE CLIMAT SEMI-ARIDE. *Courrier du Savoir – N°17*, Décembre 2013, pp.33-37.

Biney Ch., Amazu A.T., Calamari D., Kaba N., Mbome I.L., Naeve H., Chumba O., Osibanjo O., Radeconde V., Massad A.H.S., 1991. Etude des métaux lourds présents dans l'environnement aquatique africain. Rapport de la troisième session du groupe de travail sur la pollution et les pêches Accra, Ghana, 25-29, novembre 1991.

Casas S., 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de Doctorat de l'université du sud Toulon Var, 276p.

Chiffolleau J.F., Claisse D., Cossa D., Ficht A., Ganzalez J.L., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C., Petit F, 2001. La contamination métallique, Ifremer, 39p.

DE VILLERS J., SQUILBIN M., YOURASSOWSKY C. 2005. Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface. Institut Bruxellois pour la gestion de l'environnement.

GHAOUCH, M. (1998). Détermination des métaux lourds dans les eaux usées, épuration par des polymères d'origines naturelles et test sur les végétaux, Mémoire de DEA. Agence universitaire de la Francophonie- France.

HABILA S 2008. Etude de l'impact du barrage Béni Haroun sur l'environnement : Effets Ecotoxicologiques Mémoire de Magister en Biologie : Ecotoxicologie. Université de Jijel.

Habila Safia. Assessing the Risk of Water Contamination of the Beni Haroun Dam (Wilaya de Mila) Through Mineral and Organic Pollutants. *International Network Environmental Management Conflicts*, Santa Catarina – Brasil, 1(1), pp. 239-245, jan./jun. 2010.

Kakkar P., Jaffery F.N., 2005. *Environmental. Toxicology and Pharmacology* 19, 335-349.

LOUP J. 1974. Les eaux terrestres, Masson et Cie, Paris.

Miquel G., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261: 360.

NAKHLE K F.2003- Le mercure, le cadmium et le plomb dans les eaux littorales Libanaises: Apports et suivi au moyen de bioindicateurs quantitatifs (éponges, bivalves et gastéropodes).Thèse de Doctorat en interactions toxiques dans les écosystèmes. Université Denis Diderot Paris 7. 255p.

NALCO. 1983. Manuel de l'eau, TEC- DOC – Lavoisier, Paris.

PESSON P. 1976. La pollution des eaux continentales, Bordas, Paris.

RODIER J. 1984. L'analyse de l'eau, Eaux naturelles, Eaux résiduaires et Eaux de mer, 7^{ème}édition, DULOD, Paris.

SEGHAIRI N., MIMECHE L., DEBABECHE M., HAMZAOUI A.. ELIMINATION DU CUIVRE PRESENT DANS LES EAUX USEES INDUSTRIELLES SUR UN FILTRE PLANTE DE TAMARIX. Courrier du Savoir – N°15, Mars 2013, pp.53-57.

SEGHAIRI, N., DEBABECHE, M. (2011). Possibilités de rétention du cuivre et du zinc sur un filtre planté de papyrus, Communication orale, 3^{ème} Edition du Congrès International sur Eau, Déchets et Environnement- Fès- Maroc.

TIGLYENE, S., MANDI, L. et JAOUAD, A.E. (2005). Enlèvement du chrome par infiltration verticale sur lits de Phragmites australis (Cav.), Rev. Sci. Eau. p177-198.

Résumé

Dans ce travail nous avons mené une étude microbiologique (détermination des *Germes totaux*, les *Coliformes*, *Stréptocoques fécaux* et les *Clostridium Sulfito-Réducteur*) et physico-chimique (T°, pH, CE, dureté et salinité) qui permet d'évaluer le risque de contamination du barrage Beni Haroun (wilayat de Mila) par les polluants organiques et métalliques (absorption atomique). Afin d'évaluer la qualité des eaux de barrage Beni Haroun.

Cette recherche a concerné un seul prélèvement effectué le 19/3/2015, au niveau de barrage, choisie en fonction de la source de pollution.

Les eaux de barrage " Beni Haroun " sont exposées à des pollutions d'origines diverses (urbaines, industrielles et agricoles...) malgré les traitements des eaux usées dans les stations d'épuration. L'ensemble des paramètres déterminés dans cette étude a révélé une pollution organique (présence des *Germes totaux* et des *Clostridium Sulfito-Réducteur*). Les différents métaux lourds étudiés sont présent dans les eaux de barrage à des valeurs qui ne dépasse pas les norme de l'Organisation mondiale de la santé. Cependant, la présence de ces germes et métaux à des valeurs supérieure aux teneurs naturelles estimées pourrait engendrer une toxicité pour la faune et la flore aquatique. Pour remédier à ce problème, il serait important de mieux exploiter les stations d'épuration, par une collecte des eaux usées plus maitrisée et globale, plus de sa on propose des techniques de dépollution naturelle et non toxique comme la phytoremédiation.

Mots clés : Barrage de Beni Haroun , pollution, microbiologie, Physico-chimie, Eau, métaux lourds, *Bioremédiation*, *Phytoremédiation*.

ملخص

في هذا العمل قمنا بدراسة علم الأحياء الدقيقة (تحديد الجرثومية الإجمالية، وبكتيريا القولون، العقديات البرازية وكلوستريديا سلفيت-الحد) وبدراسة فزيوكيميائية (درجة الحرارة، درجة الحموضة، التوصيل الكهربائي، الصلابة والملوحة) التي تمكن من تقييم مخاطر تلوث سد بني هارون (ولاية ميللة) عن طريق الملوثات العضوية والمعدنية (الامتصاص الذري). و هذا لتقييم نوعية مياه سد بني هارون.

تضمن هذا البحث عينة واحدة التي اتخذت خلال 2015/03/19، من السد الذي تم اختياره وفقا لمصادر التلوث.

تتعرض مياه سد "بني هارون" للتلوث من مصادر مختلفة (الحضرية والصناعية والزراعية ...) على الرغم من معالجة مياه الصرف الصحي في محطات المعالجة. أظهرت المعايير المحددة في هذه الدراسة التلوث العضوي (وجود مجموع الجراثيم وكلوستريديا كبريتيت المخفض). مختلف المعادن الثقيلة المدروسة ، الموجودة في مياه السد ذات قيم لا تتجاوز معيار منظمة الصحة العالمية. ومع ذلك، فإن وجود هذه الجراثيم والمعادن في قيم ذات مستويات طبيعية عليا يمكن أن تؤدي إلى تسمم الحيوانات والنباتات المائية. لمعالجة هذه المشكلة، سيكون من المهم استغلال أفضل لمحطات معالجة مياه الصرف الصحي، وجمع المياه المستعملة ، و تكون أكثر اتقانا و شمولاً، ولهذا نقترح تقنيات إصلاح طبيعية وغير سامة مثل المعالجة بالنبات.

كلمات البحث: سد بني هارون، التلوث، علم الأحياء الدقيقة، الكيمياء الفيزيائية، المياه، المعادن الثقيلة، المعالجة البيولوجية، المعالجة النباتية.

Summary

In this work we carried out a microbiological study (determination of total germ, the coliforms, faecal streptococci and Clostridia sulfite-Reduction) and physicochemical (T °, pH, EC, hardness and salinity) that assesses the risk contamination Beni Haroun dam (Mila wilayat) by organic and metallic pollutants (atomic absorption). To assess the quality of the Beni Haroun dam waters.

This research involved a single sample taken on 19.3.2015, at the dam, chosen according to the source of pollution.

Dam waters "Beni Haroun" are exposed to pollution of various origins (urban, industrial and agricultural ...) despite treatment of wastewater in the treatment plants. The parameters determined in this study showed an organic pollution (presence of Total germs and Clostridia sulfite-reducer). The various heavy metals are present in the studied water dam to values not exceeding the standard of the World Health Organisation. However, the presence of these germs and metals at higher values to estimated natural levels could lead to toxicity to aquatic fauna and flora. To remedy this problem, it would be important to better exploit the wastewater treatment plants, a sewage collection and mastered most comprehensive, over his proposed remediation techniques of natural and non-toxic as phytoremediation.

Keywords: Beni Haroun Dam, pollution, microbiology, physical chemistry, water, heavy metals, Bioremediation, Phytoremediation.

Année universitaire : 2014/2015

présentée par : Dekhini hawa.

Amiour asma.

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en biochimie
Option : biochimie moléculaire et santé.**

**Thème : Evaluation du Risque de Contaminations microbiologiques et métalliques
des Eaux du Barrage de Beni Haroun**

Résumé :

Dans ce travail nous avons mené une étude microbiologique (détermination des *Germes totaux*, les *Coliformes*, *Stréptocoques fécaux* et les *Clostridium Sulfito-Réducteur*) et physico-chimique (T°, pH, CE, dureté et salinité) qui permet d'évaluer le risque de contamination du barrage Beni Haroun (wilayat de Mila) par les polluants organiques et métalliques (absorption atomique). Afin d'évaluer la qualité des eaux de barrage Beni Haroun.

Cette recherche a concerné un seul prélèvement effectué le 19/3/2015, au niveau de barrage, choisie en fonction de la source de pollution.

Les eaux de barrage " Beni Haroun " sont exposées à des pollutions d'origines diverses (urbaines, industrielles et agricoles...) malgré les traitements des eaux usées dans les stations d'épuration. L'ensemble des paramètres déterminés dans cette étude a révélé une pollution organique (présence des *Germes totaux* et des *Clostridium Sulfito-Réducteur*). Les différents métaux lourds étudiés sont présent dans les eaux de barrage à des valeurs qui ne dépasse pas les norme de l'Organisation mondiale de la santé. Cependant, la présence de ces germes et métaux à des valeurs supérieure aux teneurs naturelles estimées pourrait engendrer une toxicité pour la faune et la flore aquatique. Pour remédier à ce problème, il serait important de mieux exploiter les stations d'épuration, par une collecte des eaux usées plus maitrisée et globale, plus de sa on propose des techniques de dépollution naturelle et non toxique comme la phytoremédiation.

Mots clés : Barrage de Beni Haroun, pollution, microbiologie, Physico-chimie, Eau, métaux lourds, *Bioremédiation*, *Phytoremédiation*.

Devant le jury :

Président : KITOUNI RACHID (MA-A- UFM Constantine).

Rapporteur : BOUANIMBA NOUR (MC-B- UFM Constantine).

Examineurs : HAROUNI SOUFIANE (MA-A- UFM Constantine).

