

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique  
Département Génie Minier

ORGM / Office National de Recherche Géologique et Minière

Ecole nationale vétérinaire

Faculté des Sciences de l'Ingénieur (UMBB) Boumerdès



Mémoire de Master  
En Génie Minier

Intitulé :

*La biolixiviation de l'argent par les  
bactéries de l'eau de drainage minier  
acide et les boues activées*

**Proposé et dirigé par**

Mme DERAMCHI  
Mme. BOUTRIA

**Présenté par**

HANNACHE Mohamed

Soutenu le (22/06/2015) devant le jury composé de :

Président :	Dr. OULD HAMOU Malek
Promotrice :	Mme DERAMCHI
Co promotrice :	Mme. BOUTRIA
Examinatrice :	Melle MERCHICHI

*Promotion Juin 2015*

ENP : 10, avenue Hacène Badi, El Harrach, Alger  
Tel : 213 21 52 53 01/03 – Fax : 213 21 59 7973

## Résumé :

Ce travail a été réalisé dans le but de faire la biolixiviation de l'argent métal, en utilisant les microorganismes de l'eau de drainage minier acide et en compare avec la biolixiviation par les boues activées des stations d'épuration des eaux usées

En premier temps nous avons effectué des essais de biolixiviation en mode statique, puis en mode dynamique.

Finalement, nous avons essayé de faire une analyse microbiologique pour identifier et caractériser les souches bactériennes présente dans l'eau de mine, et qui nous a servi pour lixivier l'argent à partir de la galène argentifère d'El Abed Tlemcen

**Mots clés :** biolixiviation, argent, bactérie.

## Abstract :

This work was performed in order to bioleaching of silver, using microorganisms from water of acid mine drainage and compares with bioleaching using those from activated sludge treatment plants waste water.

First time we performed bioleaching tests in static mode and dynamic mode.

Finally, we tried to make a microbiological analysis to identify and characterize bacterial strains present in mine water, which we have used to leach silver from the argentiferous galena of El Abed Tlemcen

**Key words:** Bioleaching, silver, bacteria.

:

تم تنفيذ هذا العمل من أجل  
باستعمال الكائنات الحية الدقيقة وذلك باستخدام مياه  
الحمضية  
التصفية الحية لهذه الكائنات مع تلك  
مياه الصرف الصحي.

في البداية أجريز اختبارات التصفية لتحليل باستعمال الكائنات  
الحية في وضع ثابت و اخر ديناميكي ديناميكي.  
أخيرا ، حاولنا إجراء تحليل الميكروبيولوجية لتحديد وتوصيف  
السلالات البكتيرية الموجودة في مياه المناجم و التي يمكننا  
استخدامها  
الغالبية كبريد الرصاص من منجم العابد تلمسان  
التي نحتوي على كمية منها.

**كلمات مفتاحية :** التصفية الحية، الفضة، البكتيريا.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents avant tout et pour tout ;

A mes frères et ma sœur ;

A toute ma famille ;

A tous mes amis ;

A tous ceux qui me sont chair.

# Remerciements

*Je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné le courage, la patience, la volonté et la force nécessaire pour affronter toutes les difficultés et les obstacles qui se sont hissés au travers de mon chemin durant toutes mes années d'études.*

*Je tiens exprimer mes vifs remerciements à ma promotrice **Mme DERAMCHI** pour son encadrement durant ce projet de fin d'études et ses conseils tout au long de ce travail.*

*Qu'il me soit permis de remercier tous les enseignants de département Génie Minier de nous avoir fait profiter de leur expérience scientifique et pour les précieux enseignements et conseils qu'il nous ont prodigués tout au long de notre scolarité.*

*Un vif remerciement pour **Dr. OULD HAMOU Malek**, Le chef de département Génie minier pour son soutien et son aide pour qu'il soit toujours proche de l'étudiant.*

*Mes plus grands remerciements à **Mme. BOUTRIA** pour les explications qui m'a données, pour l'orientation, l'encadrement, l'encouragement et pour son précieux aide.*

*Je remercie **DR. SAHRAOUI Linda** enseignante à l'ENV Alger pour son accueil au laboratoire de microbiologie au niveau de l'école nationale vétérinaire et son précieux aide.*

*Je tiens à remercier **Mr HAMIOUD** le directeur des mines et **Mr KARA Missoum** le directeur de la géologie et ressources minérales au niveau de ministère de l'industrie et mine pour leur aide et orientation.*

*Je remercie **Melle MERCHICHI** pour son aide et son encouragement et surtout pour l'examinassions de ce travail.*

*Je remercie également tout le personnel de l'école des mines d'EL Abed EMEA.*

*Je remercie tout le personnel de l'ORM et surtout **Mr MENDILI Nabil, Mr TAMI et Mr CHERIFI.***

*Nos dernières pensées, et non les moindres, vont à toutes les personnes qui à titres divers, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## LISTES DES FIGURES :

FIGURE 1: ARGENTITE AG <sub>2</sub> S (SILVER CITY, NEVADA, USA) .....	5
FIGURE 2 : MODELE DE L'OXYDATION DE LA PYRITE (ADAPTATION DE STUMM & MORGAN, 1981).....	7
FIGURE 3 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DU VIVANT SIMPLIFIE (LOPEZ-GARCIA & MOREIRA, 2008) .....	12
FIGURE 4: CYCLE DU CARBONE DANS L'ENVIRONNEMENT (PRESCOTT ET AL., 2010).....	13
FIGURE 5: CYCLE DE L'AZOTE. LES FLUX SE PRODUISANT PRINCIPALEMENT EN CONDITIONS AEROBIES CORRESPONDENT AUX FLECHES VIDES. LES PROCESSUS ANAEROBIES CORRESPONDENT AUX FLECHES PLEINES. LES PROCESSUS SE DEROULANT DANS LES DEUX CONDITIONS AEROBIES ET ANAEROBIES SONT REPRESENTES PAR DES FLECHES HACHUREES (PRESCOTT ET AL. 2010) .....	14
FIGURE 6: CYCLE DU SOUFRE. LES FLECHES BLEUES REPRESENTENT DES PROCESSUS CATABOLIQUES, LES FLECHES HACHUREES REPRESENTENT DES PROCESSUS ANABOLIQUES (PRESCOTT ET AL., 2010) .....	15
FIGURE 7: EXEMPLE DE LA COOPERATION BACTERIENNE POUR L'OXYDATION DU FER ET DU SOUFRE A PARTIR DE PYRITE (FES <sub>2</sub> ).....	19
FIGURE 8: CYCLA DU CARBONE ; COOPERATION DES BACTERIES AUTOTROPHE, HETEROTROPHE ET MIXOTROPHE .....	20
FIGURE 9: APERÇU DES DIVERSES TECHNIQUES DE LIXIVIATION STATIQUE APPLIQUEES AUX MINERAIS DE CUIVRE .....	22
FIGURE 10: SITUATION DU PUIT 03 ET DE LA ZONE DE STOCKGE SUR UN PLAN .....	28
FIGURE 11: LA RETENUE D'EAU DE L'EXHAURE .....	28
FIGURE 12: LA MINE D'EL ABED.....	29
FIGURE 13: PRODUIT FINI, SEMI-FINI ET PRIMAIRE .....	29
FIGURE 14: L'EAU DE MINE.....	32
FIGURE 15: CONCENTRATION D'AG <sup>+</sup> EN FONCTION DE LA MASSE DE PBS AJOUTEE A L'EAU DE MINE DANS LE PROCEDE STATIQUE .....	33
FIGURE 16: CINETIQUE DE LA BIOLIXIVIATION D'ARGENT EN MODE STATIQUE.....	33
FIGURE 17: LA CONCENTRATION D'AG <sup>+</sup> DISSOUT POUR LES TROIS TYPES D'ECHANTILLONS EN FONCTION DE LA MASSE DE LA GALENE CONCASSEE AJOUTEE EN UTILISANT LA METHODE DE DOSAGE DE L'ARGENT PAR LA SAA.....	34
FIGURE 18: CONCENTRATION D'AG <sup>+</sup> EN FONCTION DE LA MASSE DE PBS AJOUTE AUX EAUX D'EXHAURE EN UTILISANT POUR LE DOSAGE D'AG <sup>+</sup> LA METHODE DE FAJANS. ....	35
FIGURE 19: CINETIQUE DE LA BIOLIXIVIATION DE L'ARGENT EN MODE DYNAMIQUE PAR L'EAU DE MINE ET PAR LES BOUES ACTIVEES.....	35
FIGURE 20: LA CINETIQUE DE LA BIOLIXIVIATION DE L'ARGENT PAR LES EAUX DE MINE 1,2 ET LES BOUES ACTIVEES .....	36
FIGURE 21: COMPARAISON ENTRE LES DEUX MODES DE BIOLIXIVIATION.....	37
FIGURE 22: CINETIQUE DE LA BIOLIXIVIATION DE L'ARGENT EN MODES STATIQUE ET DYNAMIQUE.....	37
FIGURE 23: COMPARAISON ENTRE LA QUANTITE DISSOUT ET ADSORBEE POUR LES DEUX TYPES D'EAU ET LES BOUES ACTIVEES .....	39
FIGURE 24: COMPARONS LES QUANTITES PRECIPITEES DU AGCL ET LA QUANTITE D'AG CONTENU .....	41
FIGURE 25: POURCENTAGE D'ARGENT RECUPERE A PARTIR DE LA BIOLIXIVIATION D'UNE QUANTITE DE LA GALENE ARGENTIFERE LE 13/05 .....	41
FIGURE 26: PLAN SATELLITAIRE DE LA REGION D'EL ABED, ET LES SITES DE PRELEVEMENT D'EAU .....	43
FIGURE 30: PINCETTES EN PLATINE.....	44
FIGURE 31: MICROPIPETTE .....	44
FIGURE 27: QUELQUES MATERIELS UTILISES .....	44
FIGURE 28: LES LAMELLES.....	44
FIGURE 29: LES REACTIFS DE COLORATION DE GRAM.....	44
FIGURE 32: DILUTIONS DECIMALES.....	45
FIGURE 33: ENSEMENCEMENT SUR LA GELOSE DE CHAPMAN(GC) .....	46
FIGURE 34: BOUILLON NUTRITIF (BN).....	47
FIGURE 35: INCUBATION A 45°C.....	47
FIGURE 36: GELOSE DESOXYCHOLATE (GD) .....	47
FIGURE 37: GELOSE NUTRITIF (GN).....	47

FIGURE 38: BOUILLON LACTOSE AU VERT BRILLANT (BVBL).....	47
FIGURE 39: INCUBATION DE (BN) ET (BVBL) A 45°C .....	47
FIGURE 40: CONFIRMATION BIOCHIMIQUE DU TEST RM. ....	48
FIGURE 41: CONFIRMATION BIOCHIMIQUE DU TEST VP. ....	49
FIGURE 42: OBSERVATION MICROSCOPIQUE (GX100).....	50
FIGURE 43: RESULTATS SUR LA GELOSE CHAPMAN .....	50
FIGURE 44: GD POUR L'EAU DE MINE 1 .....	51
FIGURE 45: GD POUR L'EAU DE MINE .....	51
FIGURE 47: GELOSE NUTRITIVE (GN) POUR L'EAU DE MINE 1.....	52
FIGURE 46: GD POUR LES BOUES ACTIVEES .....	52
FIGURE 48: GELOSE NUTRITIVE (GN) POUR L'EAU DE MINE 2.....	53
FIGURE 49: GELOSE NUTRITIVE (GN) POUR LES BOUES ACTIVEES .....	53
FIGURE 50: RESULTATS APRES 48H D'INCUBATION A 45°C EN ANAEROBIOSE.....	53
FIGURE 51: TROUBLES ET FORMATION DE GAZ .....	54
FIGURE 52: UN COURBE D'ETALONNAGE .....	60
FIGURE 53: LES PROPRIETES ADSORBANTES DU PRECIPITE AGX .....	61
FIGURE 54: METHODE DE FAJANS .....	61
FIGURE 55 : FLUORESCENCE DE LA FLUORESCEINE MISE EN EVIDENCE AVEC UNE LAMPE ULTRA-VIOLETTE. ....	62

#### **LISTE DES EQUATIONS :**

ÉQUATION 1 .....	6
ÉQUATION 2 .....	6
ÉQUATION 3 .....	6
ÉQUATION 4 .....	6
ÉQUATION 5 .....	9
ÉQUATION 6 .....	9
ÉQUATION 7 .....	54

#### **LISTES DES TABLES :**

TABLEAU 1: PRINCIPAUX MINERAUX SULFURES .....	4
TABLEAU 2 .....	25
TABLEAU 3: TENEUR D'ARGENT DANS LA GALENE PAR LA METHODE DE SAA .....	30
TABLEAU 4: CONCENTRATION D'ARGENT DANS LES DIFFERENTS TYPES D'EAU : .....	31
TABLEAU 5: CONTAMINATION DES BOUES ACTIVEES AVEC LE PRODUIT CONCASSE.....	32
TABLEAU 6 : ADSORPTION D'AG+ PAR LES BACTERIES D'UN ECHANTILLON TEMOIN .....	38
TABLEAU 7: RESUME DES RESULTATS DE LA BIOLIXIVIATION DE L'ARGENT DANS LES TROIS PHASES.....	40
TABLEAU 8 : LES ETAPES DE LA REALISATION DU TEST VP ET RM : .....	48
TABLEAU 9: LECTURE DU TEST DE L'OXYDASE.....	49
TABLEAU 10: RESULTATS DU DENOMBREMENT BACTERIEN .....	54
TABLEAU 11: TEST VP ET RM .....	55
TABLEAU 12: TEST D'OXYDASE .....	55

## **Introduction générale :**

Dans le but de la récupération de l'argent métal à partir de la galène argentifère par la biolixiviation, une étude détaillée sur les bactéries existant dans la mine est indispensable.

La présence des bactéries dans des endroits de la mine fournit plusieurs informations sur la cause de drainage minier acide.

L'identification de ces bactéries se fait à travers des essais microbiologiques effectués dans des conditions bien spécifiques suivant des protocoles sévères pour pouvoir déterminer le type et la quantité des espèces existant dans nos échantillons prélevés à partir de l'eau de la mine.

L'eau de la mine constitue un endroit très riche pour la vie bactérienne car elle contient les éléments minéralogiques et organiques favorables pour le développement de la vie bactérienne et l'adaptation naturelle des bactéries à la présence des métaux lourds. Pour ceux-ci nos échantillons ont été pris à partir des eaux de mines à l'endroit sur lequel notre étude est basée.

Les échantillons prélevés ont subi des analyses physico - chimiques et biologiques dans différents laboratoires pour leurs caractérisations.

Cette caractérisation est une étape préliminaire à tout essai de biolixiviation.

# Chapitre 1 : Bibliographie

## Introduction :

La mise en œuvre de matière vivante pour le traitement de matière minérale est à la croisée de plusieurs chemins ; la microbiologie, la biomine (ROSSI, 1990), la pédologie, la géologie, la géochimie et la minéralurgie ou science du traitement des matières minérales.

Les microbiologistes à la recherche d'organismes jusque-là inconnus ont découvert des micro-organismes vivant directement de la transformation des minéraux. Ils ont mis en évidence, par là aussi, que de tels micro-organismes accélèrent considérablement les vitesses des réactions de transformation. Les pédologues et les géochimistes ont montré que chaque sol, chaque gisement porte son monde vivant qui en est une part d'identité.

Les minéralurgistes, qui mettent au point et utilisent les procédés de traitement de la matière minérale, ont pour obligation de sélectionner les procédés donnant le meilleur compromis entre la rentabilité et les nuisances pour l'environnement.

L'hydrométallurgie, domaine relatif à la séparation et à la récupération des métaux par voie aqueuse, est le lieu de rencontre de ces spécialistes. Milieu de confinement des produits de réactions des minéraux, la solution aqueuse de l'hydrométallurgie rappelle le milieu baignant le monde des micro-organismes. Il est bien clair que toutes les opérations de concentration des métaux mises au point par l'homme trouvent un écho dans la nature bio-hydrométallurgie (ROSSI, 1990). Le monde biologique y participe en décomposant par action directe ou indirecte la matière minérale, en constituant un milieu favorable à la circulation du métal en phase aqueuse ou en immobilisant ce métal.

C'est un survol des phénomènes biologiques exploités, ou qui pourraient l'être dans l'avenir, qui va être présenté ci-après.

Pour ce qui est de la décomposition de la matière minérale, la dégradation des composés sulfurés métalliques est le procédé avec intervention biologique le plus avancé dans le développement industriel. Dans le principe, ce procédé utilise des bactéries qui catalysent l'oxydation des sulfures, ce qui conduit à la dissolution des métaux.

Au stade industriel, la technique est exploitée pour les minerais de cuivre, d'or, d'uranium et de cobalt.

Le traitement suivant d'autres principes de matières minérales oxydées, dont certains minéraux industriels, est à l'étude.

Deux autres activités ont un intérêt potentiel dépassant le domaine de la métallurgie extractive : la fixation des métaux par de la matière biologique vivante ou morte et la destruction biologique de réactifs organiques comme les cyanures.



## **Terminologie :**

En générale, la biolixiviation est un processus pour faire dissoudre les métaux à partir de leurs sources minérales en utilisant les microorganismes, ou bien de les utiliser pour transformer les éléments d'une matière afin que ces éléments seront facilement récupérable par filtration d'eau (ATLAS and BARTHA, 1997;PARKER, 1992).

Le terme bio-oxydation est utilisé aussi (HANS-FORD and MILLER, 1993), seulement il y a une petite différence dans la définition (BRIER-LEY, 1997) : habituellement, biolixiviation désigne la conversion du métal solide à un forme aqueuse dans l'eau. Tandis que, la bio-oxydation décrire l'oxydation microbiologique des minerais qui contient les composés métalliques d'intérêts. Finalement, le métal de valeur demeure à une forme très concentré dans la phase solide.

Le terme bio-mine , ou bio-extraction, est utilisés pour décrire la mobilité des éléments générés par les bactéries et les micro-organismes(HOLMES,1991;MANDL et al.,1996;RAWLINGS, 1997;WOODS and RAWLINGS,1989). La bio-mine concerne surtout les applications des processus de la mobilité des métaux par voie bio dans l'industrie minière à grande échelle pour économiser la récupération des métaux. Bioextraction : Si la bioextraction est essentiellement réalisée par lixiviation acide en présence de *T. ferrooxidans* et d'autres bactéries au-to trophes, il existe d'autres types de lixiviation plus marginaux mettant en jeu des microorganismes hétéro trophes. Dans ce cas, les réactions avec les métaux n'apportent pas d'énergie aux microorganismes.

Diverses études, notamment en France, ont montré que des bactéries, champignons, algues, généralement aérobies, sont capabî de solubiliser des quantités relativement importantes de métaux (Al, Fe [Berthelin et Kogblevi, 1974] ; Au, Cu ; Mn, Ni [Bosecker, 1986] ; U [Berthelin et Hunier-Lamy, 1983 ; Magne et coll, 1974]) en excréant des composés organiques corrosifs. L'excrétion par diffusion passive ou active de ces composés, se fait en quantités extrêmement faibles. Ces produits incluent des acides organiques [Munier-Lamy et Berthelin, 1987] et d'autres métabolites. Certains, en plus de leur action corrosive, peuvent séquestrer des métaux de la même façon qu'un agent complexant tel que l'EDTA [Tuovinen et Kelly, 1974 e].

Bio-sorption : La définition de la biosorption donnée par Volesky (1986) est la séquestration d'ions métalliques par un matériel solide d'origine naturelle. Ce terme général regroupe des mécanismes très divers : ingestion de particules, transport actif d'ions, échange d'ions, complexation, adsorption, précipitation inorganique. Certains de ces mécanismes sont associés aussi bien aux microorganismes vivants que morts.

D'autres microorganismes fixent et accumulent des métaux sur leurs parois. Des champignons (*Aspergillus*, *Penicillium*) peuvent fixer des quantités importantes d'uranium [Volesky, 1986]. Cette accumulation pariétale se produit aussi chez des algues telles que *Cyanidium caldaxiwn* pour différents métaux (Al, Cr, Cu, Fe, Ni) [Monroe, 1985]. Des bactéries sulfato-réductrices produisent de l'hydrogène sulfuré qui provoque la précipitation d'ions métalliques sur leur paroi.

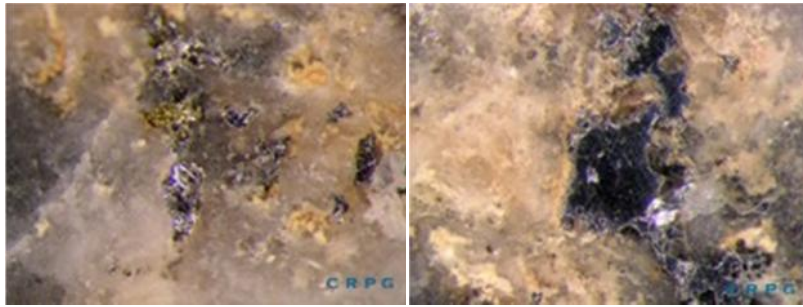
## LES DRAINAGES MINIERS ACIDES

### Définition et origine

Les Drainages Miniers Acides (DMA) sont générés lorsque les roches contenant des minéraux sulfurés sont exposées à l'érosion (Baker & Banfield, 2003). Les principaux minéraux sulfurés rencontrés dans les gisements et rejets miniers sont énumérés au tableau 1. Il est important de noter que ces eaux acides peuvent apparaître naturellement en l'absence d'activités minières et sont alors connues sous le nom de Drainage Acides de Roches (DAR). Cependant, ce phénomène est largement amplifié par les activités humaines et prend une ampleur considérable au sein des activités d'extractions minières. En effet, ces activités (excavation et pompage) perturbent l'équilibre chimique des affleurements de minéraux sulfurés et des gisements de sulfures métalliques profonds en les plaçant brutalement en conditions oxydantes. Ceci conduit à une oxydation rapide des minéraux présents dans les roches par des processus chimiques et biologiques, générant ainsi des effluents souvent acides et riches en métaux et métalloïdes toxiques appelés drainages miniers acides. L'expression « drainage minier acide » est employée pour désigner à la fois le mécanisme d'acidification et les eaux acides qui en découlent. Par extension, cette expression englobe généralement toutes les eaux acides d'origine minière provenant de l'oxydation spontanée des minéraux sulfurés : les eaux produites au fond des mines à ciel ouvert ou dans les galeries ainsi que les eaux de percolation sur les matériaux miniers stockés à l'extérieur de la mine.

Tableau 1: Principaux minéraux sulfurés

Métal/métalloïde associé	Exemple	Formule
<b>Antimoine</b>	Stibine	$Sb_2S_3$
<b>Argent</b>	Argentite	$Ag_2S$
	Proustite	$Ag_3AsS_3$
<b>Arsenic</b>	Orpiment	$As_2S_3$
	Réalgar	$AsS$
<b>Bismuth</b>	Bismuthinite	$Bi_2S_3$
<b>Cuivre</b>	Chalcopyrite	$CuFeS_2$
	Énargite	$Cu_3AsS_4$
<b>Etain</b>	Stannite	$Cu_2FeSnS$
<b>Fer</b>	Arsénopyrite	$FeAsS$
	Pyrite	$FeS_2$
	Pyrrhotite	$Fe_{(1-x)}S$
<b>Mercure</b>	Cinabre	$HgS$
<b>Molybdène</b>	Molybdénite	$MoS_2$
<b>Nickel</b>	Polydymite	$Ni_3S_4$
	Violarite	$FeNi_2S_4$
<b>Plomb</b>	Galène	$PbS$
<b>Thallium</b>	Hutchinsonite	$(PbTl)_2As_5S_9$
<b>Vanadium</b>	Patronite	$VS_4$
<b>Zinc</b>	Sphalérite (Blende)	$ZnS$
	Wurtzite	$ZnS$



Echantillon macroscopique

Section polie 0.286 x 0.214  
cm

**Argentite** (grise) associée à de la Cristaux xénomorphes  
**pyrite** (jaune laiton clair). d'**argentite** (grise).

Figure 1: Argentite Ag<sub>2</sub>S (Silver city, Nevada, USA) <sup>1</sup>

### Mécanismes de formations

Les minéraux impliqués dans la formation des DMA se trouvent depuis leur formation dans des conditions réductrices qui les préservent de toute réaction. Mais les travaux miniers les placent brusquement en conditions oxydantes qui vont être les conditions initiatrices de la production des DMA. Au-delà de ces modifications physiques que subissent les matériaux d'exploitation, des réactions catalytiques chimiques et biologiques sont à l'origine de la formation, de la propagation et de l'auto entretien des DMA.

### Mécanismes physiques : importance des activités humaines

L'Homme joue un rôle prépondérant dans la production des DMA car il place d'énormes quantités de matériaux dans des conditions d'instabilité chimique. Les écoulements acides se forment ainsi à partir de la percolation d'eau sur les matériaux solides excavés et/ou dans les galeries en relation avec les mouvements de la nappe phréatique. En effet, les déchets produits, qui représentent généralement des millions de tonnes, sont souvent stockés humides, en conditions oxydantes et généralement exposés aux précipitations. Les phénomènes biologiques et chimiques de formation des DMA pour les déchets miniers s'enclenchent par suintement ou ruissèlement sur le lieu de stockage. D'autre part, dans le cas des exploitations souterraines, il y a formation de plusieurs kilomètres de galeries qui créent des conduits susceptibles de mettre en contact l'eau et l'oxygène avec le minerai. Lors de l'exploitation, si les galeries atteignent la nappe phréatique, l'eau est souvent pompée hors de la mine ce qui induit un abaissement du niveau piézométrique, provoquant l'apparition de conditions oxydantes là où le milieu était réducteur. Après l'abandon de l'exploitation, l'arrêt des pompes d'exhaure provoque la remontée des eaux et l'envoyage des galeries ce qui entraîne la dissolution des minéraux souvent riches en métaux. Au cours du temps, le circuit hydraulique retrouve des conditions réductrices et la qualité de l'eau s'améliore d'abord

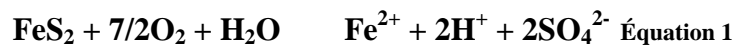
<sup>1</sup> <http://www.crpg.cnrs-nancy.fr/Science/Collection/Sulfures.htm>

rapidement (quelques mois à quelques années) puis, plus lentement (quelques dizaines à quelques centaines d'années) (Ledoux, 1996).

## Mécanismes chimiques : importance de l'environnement naturel

### Les réactions primaires

Le DMA est décrit comme un processus d'acidification des eaux de drainage dans l'environnement minier, résultant de l'oxydation de ces minéraux sulfurés sous l'effet des agents atmosphériques. Le minerai sulfuré que l'on retrouve le plus abondamment dans les rejets miniers est la pyrite ( $\text{FeS}_2$ ). Ainsi pour illustrer le mode de génération du DMA, les mécanismes aboutissant à l'oxydation du soufre et du fer contenu dans la pyrite sont fréquemment utilisés. La réaction d'oxydation de la pyrite a été largement décrite par plusieurs auteurs (Singer & Stumm, 1970; Moses et al., 1987; Baker & Banfield, 2003; Akcil & Koldas, 2006). Les minéraux sulfurés peuvent subir une oxydation chimique lente dite oxydation directe pour des pH proches de la neutralité (pH~7) (Evangelou, 1995), telle qu'illustrée par l'équation suivante (cas de la pyrite, Akcil & Koldas, 2006).



Il y a ainsi formation de fer ferreux Fe(II) et d'acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ce qui occasionne une diminution du pH si aucun composé alcalin n'est présent dans le milieu. Si l'environnement est suffisamment oxydant (dépend de la concentration en oxygène, du pH et de l'activité des microorganismes), le fer ferreux libéré par l'oxydation de la pyrite va s'oxyder en fer ferrique Fe(III) selon la réaction suivante :



Pour des valeurs de pH > 3,5 le fer ferrique précipite alors sous forme d'hydroxyde de fer ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ), laissant peu de Fe(III) en solution tout en acidifiant davantage le milieu :



Pour des valeurs de pH < 3,5 la solubilité du fer ferrique augmente, lui permettant ainsi de contribuer à l'oxydation indirecte des sulfures :



Cette réaction marque le phénomène d'auto-entretien de la formation du DMA par l'établissement d'un processus cyclique mettant en jeu les réactions [2] et [4] (sans passer par la réaction [3]).

A pH acide (< 3), la réaction d'oxydation de la pyrite par le fer ferrique (réaction [4]) est de 10 à 100 fois plus rapide que l'oxydation directe par l'oxygène (réaction [1]) (Ritchie, 1994), cependant elle est limitée par la vitesse de régénération du fer ferrique qui dépend du pH. En effet, l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique se produit naturellement mais très lentement à pH inférieur à 4. On remarquera également que lorsque l'oxygène est l'agent oxydant (réaction [1]), 2 moles d'ions  $\text{H}^+$  sont produites par mole de pyrite oxydée alors que l'oxydation par le fer ferrique (réaction [4]) génère seize moles de protons par mole de pyrite.

L'acidification du milieu est donc plus importante lorsque l'agent oxydant est le fer. Cependant, l'acidification du milieu peut être limitée par l'alcalinité résultant de la dissolution de minéraux basiques (carbonates et silicates) sachant que cela peut être un important mécanisme de neutralisation seulement à court terme (Johnson & Hallberg, 2003). L'ensemble du processus d'oxydation de la pyrite est schématisé dans la figure 5.

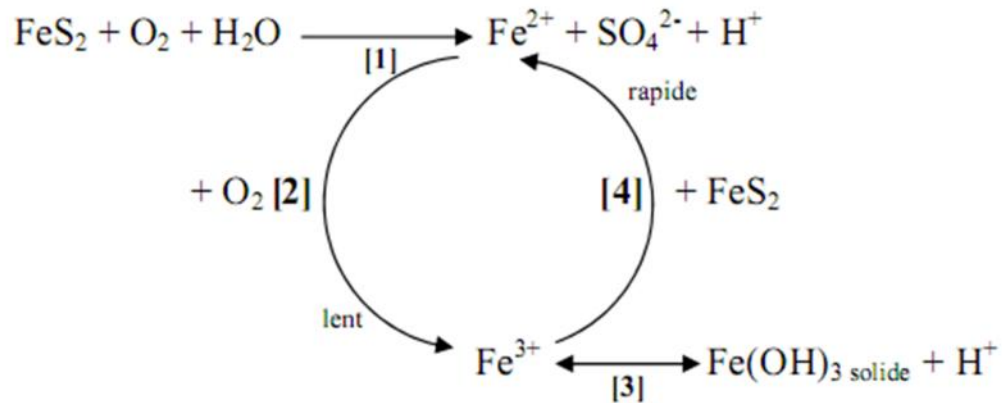


Figure 2 : Modèle de l'oxydation de la pyrite (adaptation de Stumm & Morgan, 1981)

### Les réactions secondaires

La production de fer ferrique lors des réactions précédentes entraîne une acidification supplémentaire par hydrolyse et la formation d'acide sulfurique. Les nouvelles conditions physicochimiques générées par les réactions du DMA donnent lieu ensuite à des réactions d'oxydation, de dissolution, de précipitation et de recristallisations successives qui produisent de nombreux composés minéraux secondaires. Les deux principaux types de minéraux secondaires formés sont des oxyhydroxydes de fer (hématite, magnétite, goethite) et des hydroxysulfates de fer (jarosite, schwertmannite, copiapite) (Hudson-Edwards et al., 1999; Morin et al., 2003). Ces minéraux secondaires qui contiennent des traces métalliques peuvent précipiter dans le lit des rivières en périodes sèches et constituent ainsi des réserves temporaires de métaux. Au cours de forts événements pluvieux (pluies intenses ou encore inondations) ces éléments peuvent être partiellement solubilisés et entraînés également sous forme particulaire en aval des cours d'eau. Leur dissolution entraîne la libération de polluants métalliques et de sulfates, ainsi qu'une acidification de l'eau. Des « stocks » à plus long terme sont constitués par les oxy-hydroxysulfates et hydroxydes de fer dit « insolubles » comme la jarosite et la goethite (Hudson-Edwards et al., 1999).

### Mécanismes biologiques: importance des *microorganismes*

L'apparition des DMA est favorisée par la présence de microorganismes qui tirent l'énergie nécessaire à leur croissance des réactions d'oxydoréduction métalliques. Ces microorganismes agissent comme de véritables catalyseurs des réactions chimiques qui se déroulent à la surface des minéraux et en solution. En effet la vitesse d'oxydation de la pyrite dépend de la disponibilité en Fe(III). Or bien que la réaction [3] puisse se faire naturellement d'un point de vue chimique, celle-ci est très lente voire négligeable à pH acide ( $pH < 4$ ) (Baker & Banfield, 2003; Johnson & Hallberg, 2005). Elle nécessite donc une catalyse qui peut être générée par

les microorganismes naturellement présents dans ces milieux. Ainsi, des procaryotes tels que *Acidithiobacillus ferrooxidans* ou *Ferropasma acidophilum* catalysent l'oxydation du fer ferreux et augmentent ainsi la vitesse de dissolution de la pyrite (Silverman et al., 1964; Nordstrom & Southam, 1997). C'est ce que l'on appelle le biolessivage ou biolixiviation. Singer & Stumm (1970), ont montré que les microorganismes accélèrent par un facteur 106 la vitesse d'oxydation du fer à faible pH par rapport à la vitesse résultant de la réaction chimique seule (réaction [3]). Selon Edwards et al. (2000a), l'activité microbienne serait à l'origine d'environ 75 % de la production des DMA.

## **Facteurs influençant la formation du DMA**

La qualité chimique des DMA varie et est dépendante des propriétés physiques, chimiques, minéralogiques et microbiologiques de chaque site. Il existe ainsi de multiples combinaisons de conditions pouvant favoriser la formation des DMA. Cependant il est possible de classer les facteurs influençant l'apparition des eaux acides par ordre d'importance.

### **Les facteurs primaires**

Les facteurs primaires sont à l'origine du phénomène et leurs variations contrôlent les mécanismes chimiques :

- ✓ la disponibilité en eau pour l'oxydation et le transport,
- ✓ la disponibilité en oxygène,
- ✓ les caractéristiques physiques du solide (minéralogie, géologie et altérabilité géochimique).

A noter que d'autres facteurs peuvent intervenir dans les cinétiques de ces mécanismes initiateurs :

- la température,
- l'activité microbiologique.

### **Les facteurs secondaires**

Les facteurs secondaires interviennent une fois le mécanisme de formation d'acidité en place :

- la présence de minéraux susceptibles de neutraliser l'acidité comme les carbonates ;
- l'influence du pH sur l'équilibre Fe(II)/ Fe(III). Inférieur à 3,5 le fer reste en solution et est oxydant, supérieur à cette valeur, il précipite sous forme d'hydroxydes ;
- la pression partielle en l'oxygène. Si elle croît, le taux d'oxydation croît. Cet effet est plus prononcé quand les bactéries sont actives parce que de nombreux microorganismes ont besoin d'oxygène pour leur respiration ;
- la taille des particules dans le cas d'une percolation ;
- les effets galvaniques ayant pour origine les interactions électrochimiques entre les minéraux.

## Mécanismes d'atténuation

Parallèlement au biolessivage, les microorganismes interviennent également dans des processus de bioremédiation ou piégeage d'éléments toxiques en solution (Edwards et al., 2000a; Hallberg, 2010). Plusieurs mécanismes permettant la réduction de la concentration en éléments métalliques dans les DMA ont été identifiés. Ces mécanismes peuvent être classés en deux catégories, ceux impliquant l'immobilisation des métaux (sorption, séquestration intracellulaire, précipitation, cristallisation) et ceux impliquant leur mobilisation (méthylation, chélation par des métabolites microbiens ou des sidérophores) (Gadd, 2004). Nous ne présenterons ici que quelques exemples de ces mécanismes.

## Précipitation

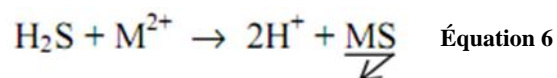
### La production de sulfures métalliques

L'un des principaux mécanismes impliqués dans l'atténuation naturelle des DMA est la précipitation de sulfures et de carbonates catalysés par des Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR) dans la zone anaérobie (Jong & Parry, 2003; Amils et al. 2007; Qiu et al., 2009). En effet, les ions sulfures produits lors de la sulfato-réduction peuvent interagir avec les ions métalliques et les métalloïdes présents dans le milieu et précipiter ainsi sous forme de sulfures métalliques fortement insolubles (Neculita et al. 2007).

Lors de la sulfato-réduction, les BSR couplent l'oxydation de composés organiques simples ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) à la réduction du sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), produisant des sulfures ( $\text{H}_2\text{S}$ ) et du bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) selon la réaction suivante :



Le  $\text{H}_2\text{S}$  ainsi produit est très réactif avec les métaux et métalloïdes ( $\text{M}^{2+}$ ) présents dans le milieu et va ainsi permettre leur précipitation sous forme de sulfures métalliques (MS) :



La réaction de précipitation sera favorisée par l'augmentation du pH due à la libération de bicarbonate lors de la réduction des sulfates (Hallberg & Johnson, 2005). Les métaux et métalloïdes toxiques ainsi immobilisés au fond des rivières permettent donc une atténuation de la pollution dans les eaux. Ainsi, de par leur capacité à produire d'importantes quantités d'ions sulfures, les BSR présentent un fort potentiel pour les étapes de bioremédiation (White & Gadd, 1996).

### La co-précipitation

Comme nous l'avons vu précédemment, certains microorganismes ont une activité métabolique leur permettant de catalyser l'oxydation du Fe(II) en Fe(III) (réaction [2]). Pour des  $\text{pH} > 3,5$ , le Fe(III) présent dans l'eau précipite sous forme d'hydroxydes de fer

(Fe(OH)<sub>3</sub>) (réaction [3]). Or, ces hydroxydes de fer sont capables d'incorporer des éléments toxiques dans leur structure ou de les adsorber à leur surface (Ferris et al., 2000; Lee et al., 2002; Xu et al., 2007). Ce type de mécanisme permet donc d'immobiliser les métaux et métalloïdes ayant une forte affinité pour les oxydes de fer, comme par exemple l'As et le Pb (Casiot et al., 2003a; Morin et al., 2003; Chen et al., 2007). Il a en effet été montré que la précipitation du Fe(III) pouvait entraîner la formation de biominéraux de Fe(III)-As(III) ou -As(V) (Casiot et al. 2003a; Morin et al., 2003).

## **Séquestration**

### **La séquestration extracellulaire**

La séquestration extracellulaire met en jeu des molécules appelées Exo-Polysaccharides (EPS), un mélange de polysaccharides, de mucopolysaccharides et de protéines. Ces molécules sont synthétisées par des microorganismes, des algues et des champignons et peuvent se lier à des métaux toxiques (Gadd, 2004). En effet, Haack & Warren (2003), ont mis en évidence l'accumulation stable de métaux au sein de biofilms microbiens issus d'un drainage minier acide. Les biofilms sont des assemblages d'une ou plusieurs populations attachées à des surfaces biotiques ou abiotiques par l'intermédiaire d'exo-polymères. Ainsi, ces microorganismes qui sécrètent des polymères sont capables d'immobiliser des composés métalliques par des processus de séquestration passive. C'est le cas notamment d'une bactérie appelée *Desulfovibrio desulfuricans* capable de séquestrer de l'argent (Harrison et al., 2007b).

### **La séquestration intracellulaire**

La séquestration intracellulaire est un processus actif qui se traduit par l'accumulation de composés métalliques à l'intérieur des cellules via des systèmes de transport membranaires. Le transport membranaire varie en fonction de l'affinité et de la spécificité des éléments métalliques. Par exemple, le césium peut être accumulé par les microorganismes via les transporteurs du potassium (Bossemeyer et al., 1989) et de l'ammonium (Avery et al., 1992). Une fois à l'intérieur de la cellule, les espèces métalliques peuvent être liées, précipitées, immobilisées à l'intérieur de structures intracellulaires ou d'organites, ou translocalisées vers des structures spécifiques (Gadd, 2004). Ceci varie en fonction de l'élément concerné et de l'organisme impliqué. Les groupes carboxyles du peptidoglycane sont par exemple les principaux sites de liaison chez les bactéries Gram positif tandis que chez les bactéries Gram négatif ce sont les groupements phosphate et la chitine pour les champignons.

## **LES FONDEMENTS DE LA DIVERSITÉ ET DE L'ÉCOLOGIE MICROBIENNE**

A l'origine, la microbiologie a été définie comme l'étude des êtres vivants unicellulaires ou pluricellulaires invisibles à l'œil nu, c'est-à-dire les microorganismes. Cependant certains de ces organismes sont visibles à l'œil nu, en particulier certains microorganismes eucaryotes. Au début du 18<sup>ème</sup> siècle, Antonie van Leeuwenhoek fut le premier à observer des « animalcules » grâce à des microscopes de sa fabrication (Porter, 1976). Il fallut cependant



attendre 200 ans pour que la microbiologie connaisse un réel essor, amorcé avec les travaux fondateurs de Louis Pasteur et Robert Koch. Durant la seconde moitié du 19<sup>ème</sup> siècle, Louis Pasteur développa la culture pure de souches microbiennes, mettant fin au débat sur la génération spontanée et démontra l'implication de ces organismes dans les processus de fermentation et dans les maladies. Parallèlement, Robert Koch proposa une série de postulats servant à confirmer le rôle étiologique d'un microorganisme dans une maladie infectieuse donnée (O'Brien & Goedert, 1996). Durant cet âge d'or de la microbiologie, Sergei Winogradsky et Martinus Beijerinck ont mis en évidence l'existence de métabolismes variés comme les processus de symbiose plantes/bactéries fixatrices d'azote et l'importance des bactéries dans le cycle du soufre et de l'azote (Kupferberg, 2003; Dworkin, 2012). Ils ont ainsi initié les premiers travaux de microbiologie de l'environnement et d'écologie microbienne en étudiant les communautés de microorganismes du sol et de l'eau et les relations entre ces organismes. Depuis, les connaissances en microbiologie n'ont cessé de s'accroître par le biais d'avancées technologiques, qui ont connu un essor depuis le milieu du 20<sup>ème</sup> siècle (Prescott et al, 2010). La microbiologie moderne englobe deux sous-disciplines qui se distinguent par leur échelle d'étude. L'écologie microbienne s'intéresse à l'étude du comportement et des activités des microorganismes dans leur environnement naturel immédiat alors que la microbiologie environnementale vise à étudier les processus microbiens globaux c'est-à-dire à plus grande échelle (Lilley et al., 2002).

### **Les microorganismes, source de diversité génétique**

Les microorganismes constituent un groupe extrêmement diversifié d'organismes microscopiques, majoritairement unicellulaires et répartis dans les trois domaines du vivant Bacteria, Archaea et Eukaryota (Figure 3). Les eucaryotes qui possèdent un vrai noyau cellulaire délimité par une membrane nucléaire se distinguent des procaryotes (bactéries et Archaea) dont la cellule ne possède pas de noyau cellulaire ni d'autres organites. Les virus, incapables de se reproduire sans détourner la machinerie cellulaire d'un autre organisme, ne sont pas considérés par tous les spécialistes comme vivants. La microbiologie étudie parfois leurs actions sur les microorganismes mais n'a pas pour but de les étudier en tant qu'entités. Cette étude est réalisée dans une autre discipline de la biologie : la virologie.

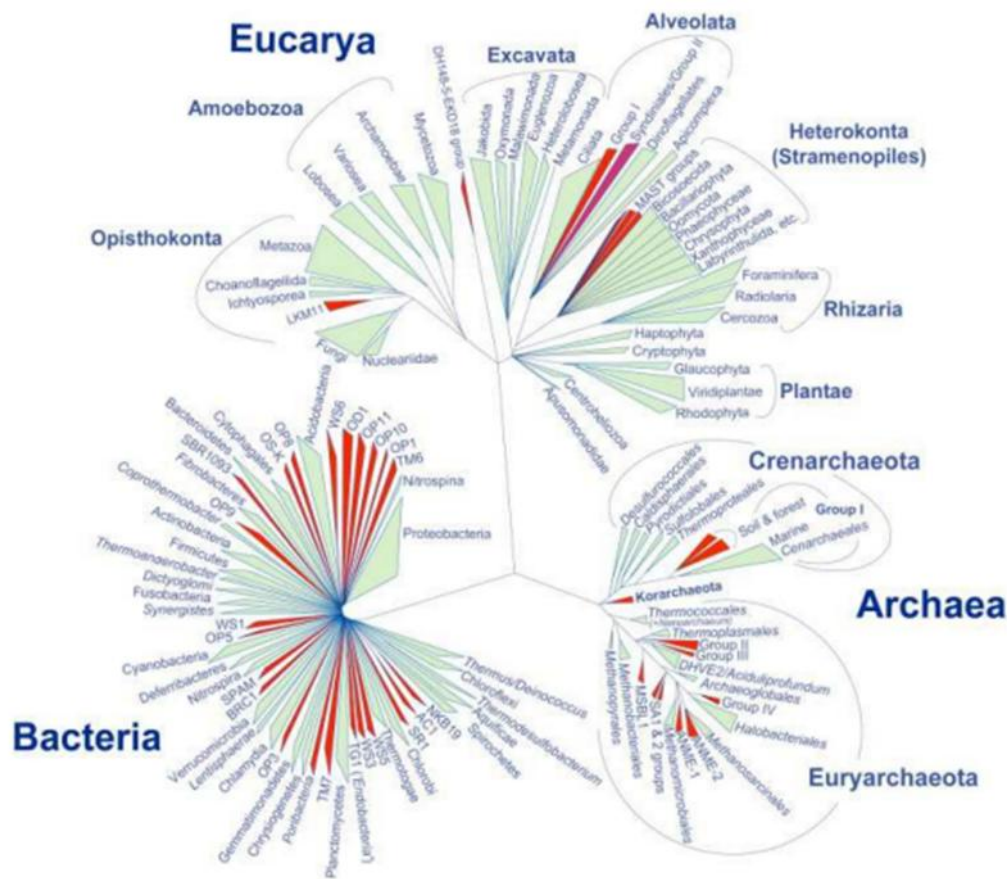


Figure 3 : Arbre phylogénétique du vivant simplifié (López-García & Moreira, 2008)

## Les microorganismes, acteurs des processus environnementaux

Les microorganismes sont à l'origine des conditions environnementales actuelles car ce sont les principaux moteurs de la biogéochimie, des cycles d'éléments nutritifs et de la dégradation des déchets naturels et anthropiques de la planète (Rodriguez-Valera, 2004). Les microorganismes sont en effet les principaux acteurs du fonctionnement des cycles biogéochimiques de divers éléments majeurs (carbone, azote, soufre...) et en traces (fer, mercure, sélénium, arsenic...). Tous ces cycles sont reliés entre eux et les transformations métaboliques de ces nutriments par les microorganismes ont des impacts planétaires.

### Le cycle du carbone

Le carbone constitue moins de 1 % de la masse de l'écorce terrestre mais c'est un des éléments majeurs du monde du vivant. En effet, le passage du CO<sub>2</sub> minéral au monde organique via la photosynthèse est une réaction clé de la vie sur terre. Au moins la moitié du carbone sur Terre est fixé par les microorganismes, particulièrement par les procaryotes et les protistes photosynthétiques marins comme les cyanobactéries (e.g. Prochlorococcus et Synechococcus) et les diatomées, respectivement (Prescott et al., 2010). Le carbone peut également être fixé par des chimiolithoautotrophes. Le cycle du carbone est caractérisé par des phases aérobies et

anaérobies de fixation du carbone et de minéralisation de la matière organique via les mécanismes de respiration et de fermentation (Figure 4)

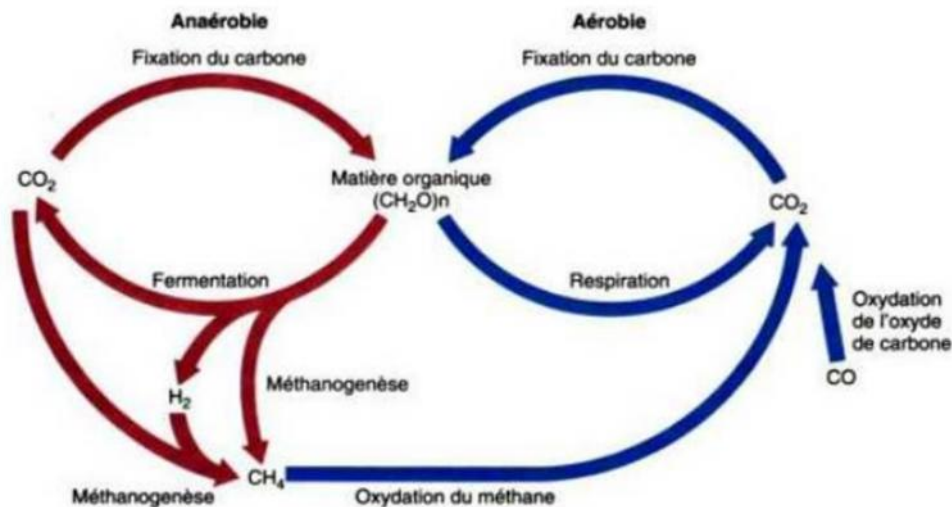


Figure 4: Cycle du carbone dans l'environnement (Prescott et al., 2010)

## Le cycle de l'azote

L'azote est un élément essentiel à tous les organismes, il est présent dans la constitution des protéines (acides aminés), des acides nucléiques et divers polymères (Silberbach et al., 2005). Les microorganismes ont un rôle primordial dans ce cycle car la fixation de l'azote est un processus exclusivement procaryote (Raymond et al., 2004). Les nombreuses transformations de l'azote, permettent à cet élément de circuler entre le compartiment atmosphérique et les milieux terrestres et aquatiques et de déterminer en partie la productivité écologique de ces habitats. Ce cycle se caractérise par différentes étapes (Figure 5) :

- **la fixation de l'azote atmosphérique produit de l'ammonium** (Normand & Lalonde, 1986; Franche et al., 2009).
- **l'ammonification ou minéralisation de la matière organique**
- **la nitrification** est un processus en deux étapes au cours desquelles, l'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ) ou les ions ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) sont oxydés en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) puis en nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). La première étape peut être réalisée par deux groupes de microorganismes, les AOB (Ammonia-Oxidizing Bacteria) caractérisant les bactéries nitrosantes telle que Nitrosomonas et les AOA (Ammonia-Oxidizing Archaea) telle que Nitrososphaera (Treusch et al., 2005). La seconde étape est réalisée par les bactéries nitrifiantes ou NOB (Nitrite-Oxidizing Bacteria) telle que Nitrobacter et Nitrospira (Cebon & Garnier, 2005). Ces étapes se déroulent préférentiellement en aérobose.
- **la réduction assimilatrice ou dissimilatrice des nitrates**. L'assimilation (ou réduction assimilatrice) des nitrates est réalisée, en présence d'oxygène, par un groupe hétérogène de bactéries, champignons, algues et plantes. En conditions anaérobies, lors du processus de réduction dissimilatrice du nitrate ou respiration des nitrates, le nitrate peut devenir accepteur

final d'électrons et être converti en ammonium. Des bactéries fermentatives et anaérobies strictes très diverses sont capables de réaliser cette voie dissimilatrice.

- **la dénitrification** est un mécanisme de respiration anaérobie utilisant le  $\text{NO}_3^-$  ou le  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur final d'électrons. Ce processus fait intervenir des populations bactériennes, surtout hétérotrophes mais aussi autotrophes qui, en conditions anoxiques, assurent la production d'azote sous forme de composés gazeux tels que le  $\text{N}_2\text{O}$ , le  $\text{N}_2$  et le  $\text{NH}_3$ .

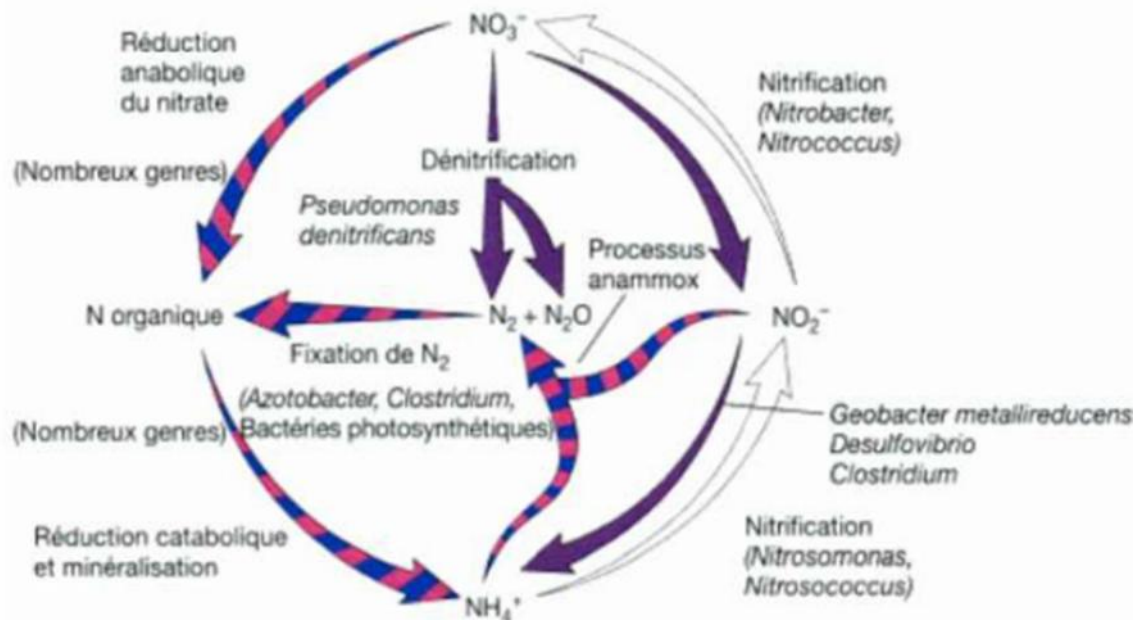


Figure 5: Cycle de l'azote. Les flux se produisant principalement en conditions aérobies correspondent aux flèches vides. Les processus anaérobies correspondent aux flèches pleines. Les processus se déroulant dans les deux conditions aérobies et anaérobies sont représentés par des flèches hachurées (Prescott et al. 2010)

## Le cycle du soufre

Le soufre est un élément très important pour les êtres vivants principalement en tant que constituant des acides aminés sulfurés : cystine, cystéine et méthionine. Depuis ces dernières décennies, le cycle du soufre a pris une importance capitale en raison des nombreux problèmes économiques qui lui sont liés comme les pollutions engendrées par les pluies acides contenant de l'acide sulfurique, la pollution atmosphérique au dioxyde de soufre ou la solubilisation et lixiviation des métaux.

Ce cycle comprend trois grandes étapes (Figure 6) :

- la minéralisation aérobie et anaérobie du soufre organique en une forme inorganique, le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ).
- l'oxydation des sulfures, du soufre élémentaire et des composés connexes (thiosulfate, sulfite...) en sulfates. En conditions aérobies, acides ou neutres, des bactéries chimiolithotrophes oxydent ces composés comme source d'énergie, en utilisant l' $\text{O}_2$  comme accepteur d'électrons pour assurer la fixation autotrophe du  $\text{CO}_2$ . Ces bactéries appartiennent à des genres divers tels qu'*Acidithiobacillus*, *Aquaspirillum*, *Aquifex*, *Bacillus*, *Beggiatoa*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Starkeya*, *Sulfolobus*, *Thermithiobacillus*,

Thiobacillus et Xanthobacter (Friedrich et al. 2001). Des membres des Archaea appartenant aux Sulfolobales sont également capables d'oxyder le soufre (Friedrich et al., 2005; Plumb et al., 2007). Quelques espèces phototrophes peuvent aussi croître en anaérobiose en utilisant les nitrates comme accepteur d'électrons et appartiennent aux genres Allochromatium, Chlorobium Rhodobacter, Rhodospseudomonas, Rhodovulum, et Thiocapsa (Friedrich et al., 2001).

- la réduction des sulfates en sulfures. En conditions anaérobies strictes, les bactéries sulfato-réductrices utilisent les sulfates comme accepteur d'électrons (respiration anaérobique) pour les réduire en sulfure ( $H_2S$ ). Ce processus est également désigné par le terme de réduction catabolique des sulfates. Divers microorganismes peuvent réaliser ce processus incluant les bactéries du genre Desulfovibrio, Clostridium, Desulfotomaculum et Alteromonas (Muyzer & Stams, 2008) ainsi que des Archaea des genre Archaeoglobus, Thermocladium et Caldivirga (Thevenieau et al., 2007). On distingue par ailleurs une sulfato-réduction dite anabolique qui, par réduction des sulfates en  $H_2S$ , conduit à la production de composés organiques soufrés (cystéine, méthionine,...) utilisés pour leur nutrition. Les différents processus microbiens impliqués dans le cycle du soufre assurent des couplages biologiques entre les cycles du carbone, du soufre et du fer et même de l'azote et des couplages chimiques avec les réactions d'immobilisation et de solubilisation de nombreux éléments traces métalliques (arsenic, plomb, nickel, uranium, sélénium...) susceptibles d'avoir des impacts environnementaux et socio-économiques majeurs.

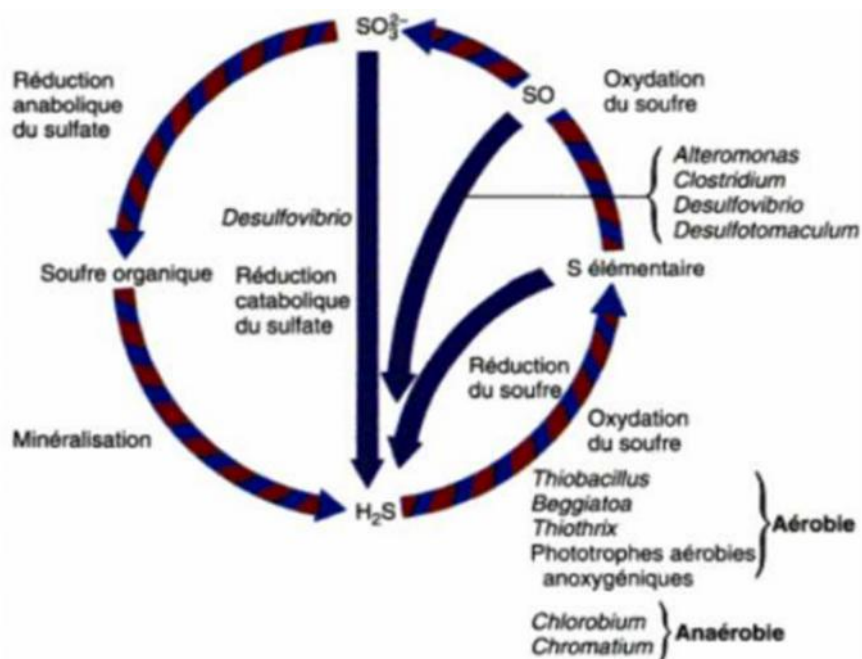


Figure 6: Cycle du soufre. Les flèches bleues représentent des processus cataboliques, les flèches hachurées représentent des processus anaboliques (Prescott et al., 2010)

## **Les microorganismes et leurs rôles dans la transformation des éléments traces métalliques**

Les microorganismes sont intimement impliqués dans la biogéochimie des éléments traces métalliques (ETM) par l'intermédiaire d'une variété de processus qui déterminent la toxicité ainsi que la mobilité et par conséquent, la biodisponibilité de ces éléments. L'équilibre entre la mobilisation et l'immobilisation varie selon les organismes impliqués, leur environnement et les conditions physicochimiques (Gadd, 2010). La mobilisation des ETM peut résulter de divers mécanismes impliquant par exemple des réactions d'oxydoréduction, de complexation par des sidérophores et des métabolites ou de méthylation pouvant conduire à la volatilisation. Inversement, des phénomènes de sorption, de séquestration intracellulaire ou extracellulaire ou de chélation peuvent induire l'immobilisation de ces mêmes éléments et ainsi limiter leur disponibilité et donc leur toxicité. Ces processus microbiens permettant d'agir sur la transformation des ETM sont actuellement utilisés dans le cadre des biotechnologies soit dans des procédés de lixiviation des métaux précieux, soit dans des procédés de remédiation d'écosystèmes pollués. Nous verrons par ailleurs plus en détails dans la partie suivante comment les microorganismes peuvent influencer sur ces phénomènes de solubilisation ou d'immobilisation des ETM à travers l'exemple des drainages miniers acides, qui constituent une des plus importantes sources de pollution des eaux des industries extractives.

### **Biolixiviation de minerais sulfurés :**

#### **Principe des mécanismes d'action bactérienne :**

L'activité bactérienne a pour conséquence, d'une part l'oxydation du métal contenu à l'état insoluble dans le minerai, et d'autre part, une acidification du milieu par oxydation des composés sulfurés en acide sulfurique. Le métal oxydé devient soluble en milieu acide. L'oxydation du métal se fait directement par les bactéries et indirectement par l'intermédiaire du fer ferrique généré lui aussi par les bactéries.

Mécanisme direct : Les bactéries attaquent avec leurs enzymes les composés minéraux susceptibles de s'oxyder ( $\text{Fe}^{2+}$ , sulfures) qui deviennent solubles. Ces ions minéraux ne pénètrent pas dans les cellules : une chaîne de protéines enzymatiques membranaires transporte les électrons du substrat jusqu'à l'oxygène, ce qui entraîne la formation de molécules d'eau. L'énergie dégagée est utilisée pour la synthèse et la régénération de l'ATP (adenosine tri-phosphate).

Ce processus implique un contact étroit entre les bactéries et le minerai. Cette hypothèse a été confirmée par des examens au microscope électronique dans lesquels il a été montré une colonisation des surfaces minérales par T. Ferrooxydants sur des particules de pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) [Hiltunen et coll., 1981]. Dispirito et coll. (1983 a)) préfèrent employer le terme de "sorption" des bactéries car la nature de la fixation est inconnue.

Mécanisme Indirect : Le mécanisme indirect de dissolution des métaux fait intervenir des réactions à la fois microbiennes et chimiques. Les bactéries (T. Ferrooxydants) y produisent du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) par oxydation du fer ferreux soluble ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

L'ensemble de ces processus biologiques et chimiques constitue un système dont le fonctionnement est déterminé par des facteurs difficiles à maîtriser, à la fois géologiques et minéralogiques, hydrologiques, physiques, mais aussi industriels.

### **Microorganismes associés**

Le processus de lixiviation naturelle fait intervenir toute une série de bactéries adaptées à des milieux très inhospitaliers : concentrations élevées en acide sulfurique, en sels, en métaux toxiques. Elles agissent soit de façon séquentielle, les premières préparant un terrain favorable pour les suivantes, soit de façon simultanée et coopérative.

Durant les 20 dernières années, mis à part *T. ferrooxidans* et *T. thiooxidans*, bactéries traditionnellement associées à la lixiviation, une grande variété de bactéries ont été impliquées directement ou indirectement dans la lixiviation de minerais sulfurés en milieu acide.

Elles sont mésophiles ou thermophiles, hétérotrophes, autotrophes ou mixotrophes, témoignant de relations écologiques complexes. On peut les classer globalement en trois catégories selon leur rôle :

- ✓ les bactéries oxydant les métaux,
- ✓ les bactéries productrices d'acide sulfurique,
- ✓ les bactéries hétérotrophes.

Les bactéries les mieux étudiées appartiennent au genre thiobacille.

#### ✓ **Thiobacillus ferrooxidans et Thiobacillus thiooxidans**

- *Thiobacillus ferrooxidans* (T.f.) est morphologiquement un bâtonnet de 0,2 à 2  $\mu\text{m}$  de long et 0,3 à 0,8  $\mu\text{m}$  de large ; elle est gram-négative et aérobie facultative, dans la mesure où elle peut utiliser le fer ferrique comme accepteur final d'électrons ; elle possède un flagelle unique et tire son énergie de l'oxydation des formes réduites du soufre et du fer ferreux en fer ferrique ;

- *Thiobacillus thiooxidans* a virtuellement les mêmes caractéristiques, excepté qu'elle ne tire son énergie que de l'oxydation des formes réduites du soufre.

#### ✓ **Leptospirillum ferrooxidans**

C'est une bactérie gram-négative, elle aussi, qui a une forme de virgule plus ou moins allongée, jusqu'à quelques micromètres de long et de 0,5  $\mu\text{m}$  de large ; elle possède aussi un flagelle lui assurant sa mobilité ; sa propriété est de tirer son énergie de l'oxydation du fer ferreux, elle est aérobie stricte. Il est admis, depuis quelques années, que ce micro-organisme joue un rôle prépondérant sur la dégradation des sulfures, en particulier en conditions extrêmes de salinité et d'acidité.

✓ D'autres micro-organismes sont parfois associés aux trois espèces précitées, en particulier des hétérotrophes (qui utilisent comme source de carbone des composés organiques plus ou moins complexes et non seulement du  $\text{CO}_2$ ).

La biolixiviation met en jeu des cultures mixtes de thiobacilles et de leptospirilles. Ces cultures sont le résultat d'une adaptation de la biomasse au substrat minéral, selon les

conditions de la culture : pH, concentrations des espèces métalliques en solution, température, etc.

### **Bactéries oxydent les métaux**

Ces bactéries réalisent l'oxydation des métaux, soit directement, soit par l'intermédiaire du fer ferrique. Parmi elles, *T. ferrooxydans* qui sera décrite ultérieurement, est la plus utilisée dans l'extraction commerciale de l'uranium, mais d'autres microorganismes sont capables d'oxyder le fer.

*Leptospirillum ferrooxidans* découverte en 1972 par Harkosyan est une bactérie mésophile, acidophile, chimiolithotrophe, aérobie, oxydant le fer [Harrison, 1984]. Elle est capable de dégrader la pyrite en culture pure mais elle est incapable d'oxyder le soufre. On la trouve toujours en association avec des Thiobacilles. Elle se distingue de *T. ferrooxidans* par sa moindre résistance au cuivre et par une oxydation de la pyrite plus lente. A l'heure actuelle, elle n'est pas utilisée dans l'industrie.

*Thiobacillus THX* a été isolée en 1977 par Le Roux et coll. (1977). C'est une bactérie acidophile, chimiolithotrophe, aérobie, hétérotrophe et moyennement thermophile (50°C) voisine de *T. ferrooxydans*. Elle se développe en milieu contenant du Fe ou de la pyrite lorsqu'il est supplémenté par de l'extrait de levure ou de la glutathionine [Brierley et coll. 1978]. Elle est capable d'oxyder aussi la chalcopyrite ( $\text{CuFeS}_2$ ) et le sulfure de nickel. Bien que peu connue, elle pourrait représenter un intérêt pour le développement des processus de bio-extraction à haute température. Toutefois, ses besoins en supplément organique peuvent être un obstacle d'ordre économique pour son utilisation dans l'industrie.

Les *Sulfolobus* sont les bactéries acidophiles les plus robustes de cette catégorie : thermophiles extrêmes (50 à 85°C), et chimiolithotrophes, elles oxydent à la fois le fer et les composés sulfurés réduits. De plus, elles sont autotrophes facultatives [Brock et coll., 1972]. Bien qu'aérobies, en l'absence d'oxygène, les ions Fe et Mo peuvent servir d'accepteurs finaux des électrons [Brierley, 1982]. Elles supportent des concentrations élevées en ions métalliques. On les rencontre naturellement dans les sources chaudes acides mais il a été prouvé qu'elles peuvent a priori se développer dans les environnements de lixiviation. Cependant, ces bactéries n'ont pu être isolées que très rarement dans ce type de milieu. Par conséquent, malgré leurs aptitudes exceptionnelles, l'utilisation des *Sulfolobus* dans la lixiviation industrielle est encore lointaine.



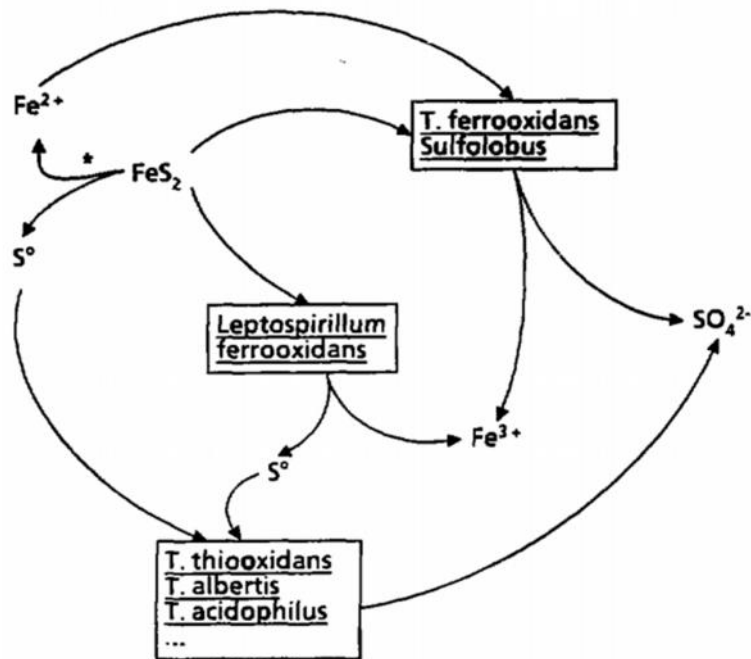


Figure 7: Exemple de la coopération bactérienne pour l'oxydation du fer et du soufre à partir de pyrite (FeS<sub>2</sub>)

## Bactéries productrices d'acide sulfurique

L'environnement acide est indispensable non seulement au développement des bactéries de lixiviation, mais aussi à la solubilisation des métaux.

Il existe différentes espèces de Thiobacilles non acidophiles (*T. Thloparus*, *T. novellus*, *T. denitrificans*, *T. intermedius*...), capables de croître en milieu neutre et même alcalin, dans les minerais sulfurés. Elles font augmenter l'acidité du milieu qui devient alors favorable au développement sélectif des bactéries de lixiviation [Harrison, 1984]. Il faut aussi mentionner l'existence d'une bactérie non acidophile, productrice d'acide sulfurique, *Thermothrix thiopara* qui est thermophile : elle ne se développe qu'à des températures comprises entre 60 et 75°C. Sa présence n'a été décelée que dans très peu de sites de lixiviation [Brierley, 1982].

Lorsque le milieu est suffisamment acide, d'autres bactéries productrices d'acide sulfurique, mais cette fois acidophiles, interviennent pour augmenter et maintenir l'acidité :

*Thiobacillus thiooxidans*, bactérie chimiolithotrophe, autotrophe, et aérobie est typique des environnements acides où elle produit de grandes quantités d'acide sulfurique à partir des composés sulfurés réduits. C'est le thiobacille ayant le plus fort pouvoir d'acidification et la plus forte tolérance à l'acide : en culture sur soufre colloïdal, il provoque une diminution du pH de 4 à parfois pH 0,3 - 0,8 selon les auteurs [Kelly, 1987]. On trouve cette bactérie

systématiquement associée à *T. ferrooxidans* dans les environnements de lixiviation.

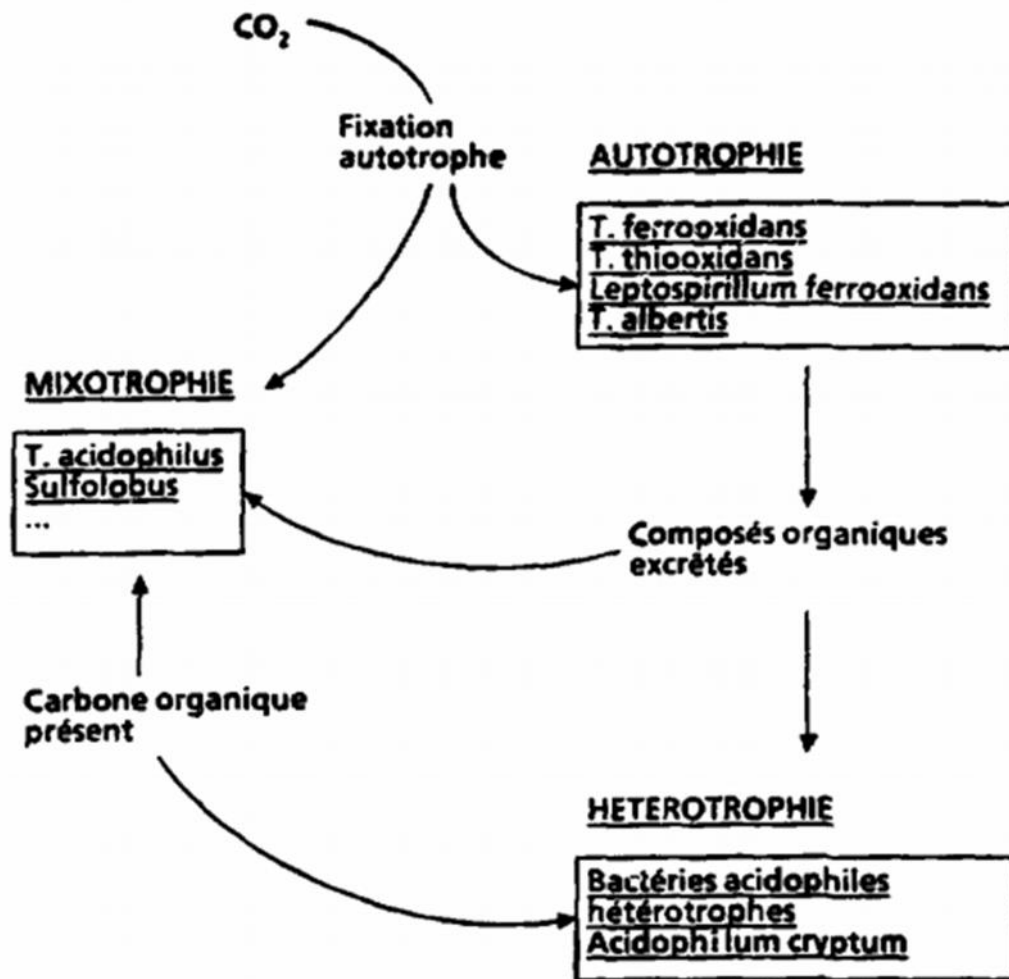


Figure 8: Cycle du carbone ; coopération des bactéries autotrophe, hétérotrophe et mixotrophe

### Bactéries hétérotrophes

De nombreux microorganismes hétérotrophes acidophiles existent durant la lixiviation. Ils utilisent les faibles quantités de matière organique présente, les rejets du métabolisme des autres bactéries pour leur propre croissance.

*T. acidophilus* incluant depuis peu *T. organoparus*, producteur d'acide, et *Acidophilum cryptum* sont généralement associés à *T. ferrooxidans* et à *L. ferrooxidans*. Leur rôle est peu connu. Harrison (1984) a montré que l'inhibition de la croissance de *T. ferrooxidans* provoquée par le pyruvate ou le glucose, est levée en présence de ces bactéries hétérotrophes. De même, *T. ferrooxidans* qui se développe mal en milieu gélose, par suite de la présence de composés organiques inhibiteurs issus de l'hydrolyse acide de l'agar, a à nouveau un développement normal s'il est associé à ces bactéries [Johnson et coll., 1987].

Dans tous ces exemples, la bactérie hétérotrophe utilise le composé organique nocif pour *T. ferrooxidans*. On peut penser que dans les habitats naturels, ces bactéries remplissent la même fonction et favorisent donc l'activité des bactéries strictement autotrophes (Figure 8).

## Procédés de la bilixiviation

On distingue les procédés statiques et le procédé dynamique.

**Les procédés statiques :** consistent à réaliser la biolixiviation en faisant percoler la solution aqueuse à travers la masse du substrat solide que l'on aura préalablement fracturé ou concassé. Le procédé dynamique consiste à confiner la réaction dans des réacteurs agités et aérés.

Les traitements statiques, de moindre coût de revient, s'appliquent aux gisements à faible teneur ou aux stériles de traitements ultérieurs (minerais de cuivre, d'uranium). Le traitement en réacteur, coûteux mais rapide et efficace, concerne des minerais plutôt riches et des métaux de haute valeur ajoutée (or, cobalt).

**Le traitement d'amas** concerne des minerais à faible teneur ( $< 0,4 \%$  Cu) comme à Bingham Canyon aux États-Unis où des amas de plusieurs millions de tonnes sont constitués. Le minerai, déchargé par camion sur un sol étanche, est directement issu de la mine et va, en taille, de fines particules à des blocs de plusieurs mètres.

Une attention particulière est apportée pour éviter le tassement et le compactage de la matière solide. La solution dont on arrose la surface des amas doit percoler dans les meilleures conditions.

La solution lixivante est une eau acide (pH 1,5 à 2,0) à laquelle on peut ajouter des éléments nutritifs (surtout de l'azote, dans des proportions à établir au laboratoire). Après percolation, la solution riche contient plusieurs grammes par litre de cuivre, qui est récupéré par cémentation sur fer ou extraction par solvant et électrolyse.

**La lixiviation en tas** utilise du minerai concassé jusqu'à quelques centimètres déposé sur un sol compacté et étanchéifié par un revêtement plastique, sur une hauteur de quelques mètres. L'arrosage et la récupération des solutions lixiviantes sont plus sophistiqués que pour les techniques précédentes. La lixiviation en tas a été appliquée, en France, aux minerais d'uranium à faible teneur. Elle utilise le fer ferrique produit par oxydation biologiquement catalysée du fer ferreux.

La dernière forme de lixiviation statique est **la lixiviation en stalle noyée**. Comme son nom l'indique, elle consiste à maintenir le minerai confiné sous eau. C'est, parmi les moyens déjà cités, celui qui permet le contact le plus intime avec la solution mais qui limite aussi considérablement l'accès de l'oxygène, nécessaire à l'oxydation des sulfures, et au dioxyde de carbone, nécessaire à la croissance des bactéries

La lixiviation statique a cependant comme limites :

- le manque d'accès de la surface des sulfures à l'attaque par les bactéries, du fait du fractionnement trop limité des solides ;
- le manque d'accès des gaz  $O_2$  et  $CO_2$  ;

— des effets de surchauffe localisés dus à un emballement de l'oxydation, qui détruisent la biomasse

En conséquence, les traitements statiques sont lents : quelques semaines à quelques mois par lixiviation en tas, à plusieurs années pour les lixiviations d'amas.

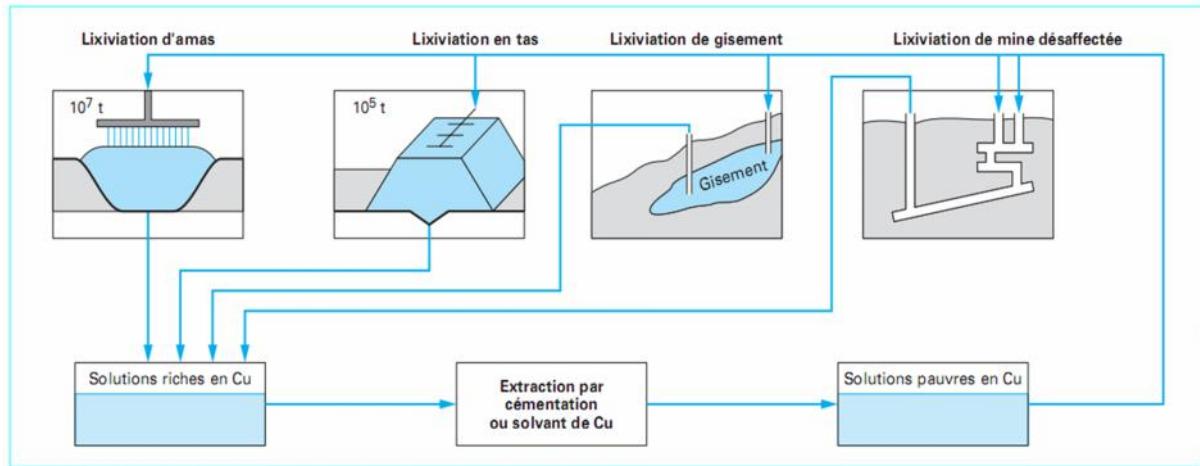


Figure 9: Aperçu des diverses techniques de lixiviation statique appliquées aux minerais de cuivre

### Biolixiviation en réacteur agité

Cette technique confine le traitement dans des réacteurs équipés d'une agitation mécanique qui maintient une suspension homogène du solide et une dispersion efficace de l'air injecté.

Le minerai est concassé, puis broyé en particules d'un diamètre inférieur à 100  $\mu\text{m}$ , diamètre dont dépend la cinétique de biodégradation des sulfures. En principe et jusqu'à une certaine limite, plus petite sera la taille des particules, plus grande sera la surface disponible pour l'attaque bactérienne, et par conséquent plus rapide la réaction de dégradation. Une flottation peut permettre de concentrer la phase riche en sulfure porteur du métal à extraire. Le minerai ou le concentré mis en pulpe est dirigé vers la biolixiviation qui est opérée dans des réacteurs généralement en plusieurs séries parallèles.

La concentration en solide est limitée à une valeur proche de 20 % (rapport en pourcentage de la masse de solide à la masse de pulpe) variable suivant le minerai traité. Il est bien évident que, pour un débit donné de minerai et une rétention nécessaire en biolixiviation, la concentration en solide de la pulpe fixe la taille des bioréacteurs.

On cherche donc à l'élever le plus possible. La limitation observée n'a pas encore été expliquée. La cause la plus probable est la limitation du transfert de l'oxygène de la phase gazeuse à la phase liquide et donc la limitation de la disponibilité de l'oxygène pour oxyder les sulfures. La température optimale de culture des micro-organismes est de l'ordre de 35 °C mais, en pratique industrielle, on essaie de maintenir la température du traitement à la valeur la plus élevée possible car l'exothermicité des réactions d'oxydation impose le

refroidissement du milieu (ce qui a un coût non négligeable) et que les cinétiques de biodégradation sont plus rapides à température élevée.

À Fairview Mine, en Afrique du Sud, le milieu est à une température de 40 à 45 °C [1] et la société Bactech en Australie emploie une culture thermophile modérée travaillant à près de 50°C.

Le temps de rétention du solide dans une unité continue de biolixiviation est une donnée variable (2 à 5 jours) suivant plusieurs paramètres :

- ✓ la biodégradabilité du sulfure ;
- ✓ la teneur en sulfure du minerai ou du concentré ;
- ✓ le degré d'attaque nécessaire pour libérer le métal à extraire de sa gangue sulfurée ;
- ✓ la possibilité d'utiliser la lixiviation sous pression en complément de la biolixiviation pour achever l'oxydation des sulfures.

### Les bioréacteurs aux échelles de laboratoire, pilote, industriel :

Les bioréacteurs constituent le nœud technologique et économique d'une unité de biolixiviation dynamique.

À l'échelle du laboratoire (quelques litres) et à l'échelle pilote (quelques centaines de litres), on peut utiliser des réacteurs agités mécaniquement par rotation d'un axe supportant des mobiles adéquats ou des réacteurs pneumatiques, agités par l'injection d'air à la base du cône constituant le fond du réacteur.

À l'échelle industrielle, seuls les réacteurs mécaniquement agités peuvent être utilisés de façon fiable et économiquement acceptable. En effet, les réacteurs, d'un volume de plusieurs centaines de mètres cubes, imposent l'installation de compresseurs de trop grande capacité pour maintenir le solide en suspension et oxygéner le milieu sur une hauteur supérieure à 10 mètres. Par ailleurs, il est très difficile d'en prévoir les performances à grande échelle et le redémarrage après un arrêt prolongé peut s'avérer très problématique. Les réacteurs agités permettent de travailler avec un rapport hauteur/diamètre de réacteur plus faible, et ajustable pour que l'on n'ait à utiliser pour injecter l'air qu'un surpresseur de pression nominale absolue de l'ordre de 0,2 MPa ( 2 bar) ou un compresseur de pression modérée.

### Économie des procédés de biolixiviation des matières sulfurées

La biolixiviation connaît deux secteurs d'activités où son développement industriel donne une mesure de sa fiabilité économique.

✓ Le premier concerne le traitement de ressources trop pauvres pour être exploitées par des voies traditionnelles de concentration par voie physique (minerais de cuivre et d'or) ou de lixiviation en réacteur (minerai d'uranium). C'est le domaine de la lixiviation statique. Il n'y a pas de données économiques faisant une comparaison de procédés puisqu'il n'y a pas d'alternative.

✓ En revanche, le second, domaine de la biolixiviation dynamique, ou en réacteur, aux coûts très significatifs, a dû être comparé aux procédés existants pour pouvoir être adopté industriellement. Les procédés plus conventionnels sont le grillage et la lixiviation.

✓ Le grillage est le procédé pyrométallurgique de toujours. Il consiste à « brûler » dans un four les sulfures pour récupérer le métal de valeur dans une calcine qui est mise en pulpe pour en extraire sélectivement ce métal par voie hydrométallurgique. Compte tenu de l'exothermicité des réactions, le grillage ne nécessite pas d'apport d'énergie. En revanche, l'oxydation à l'air des sulfures produit du dioxyde de soufre dont les réglementations actuelles interdisent le dégagement dans l'atmosphère. Il faut donc produire de l'acide sulfurique qui n'est pas forcément d'une qualité satisfaisante pour être valorisé. En outre, la présence d'arsenic peut sérieusement compliquer la gestion des effluents gazeux. La récupération du métal de valeur de la calcine est parfois moins bonne que ne le permettent les voies hydrométallurgiques.

✓ La lixiviation sous pression est un procédé éprouvé à l'échelle industrielle dans certains domaines comme le traitement de minerais sulfurés de zinc et d'uranium. Dans le principe, il existe deux types de traitement correspondant à deux domaines de travail : le domaine haute température ( $> 160\text{ °C}$ ), et le domaine basse température ( $< 120\text{ °C}$ ). Dans le premier cas, le traitement est réalisé sous une pression d'oxygène pur pouvant aller jusqu'à 2 200 kPa et la totalité des sulfures est transformée en sulfates. La réaction est réalisée en autoclave dans lequel l'oxygène est dispersé mécaniquement. Le temps de séjour de la pulpe en autoclave est de 1 à 3 h. Il s'agit donc d'un procédé de haute technologie qui conduit à des résidus arséniés réputés plus stables que ceux de la biolixiviation. En effet, la haute température du milieu engendre la cristallisation d'arséniate de fer ferrique ou scorodite,  $\text{FeAsO}_4$ , et non la production de composés amorphes comme la biolixiviation.

Pour comparer les trois principaux procédés (grillage, lixiviation sous pression et biolixiviation), les critères à prendre en considération sont les suivants :

- coûts d'investissement : équipements et construction ;
- coûts opératoires : énergie, réactifs et personnel ;
- revenus ;
- impact sur l'environnement ;
- degré de qualification du personnel requis ;
- antécédent technologique et fiabilité d'extrapolation.

Kontopoulos et Stefanakis ont établi pour le traitement de 100 000 tonnes de concentré d'or réfractaire la comparaison des coûts (en mégadollars US) entre les trois procédés (tableau 2). On observe que les coûts d'investissements sont nettement plus bas pour le procédé de biolixiviation que pour les procédés de grillage et de lixiviation sous pression. Par contre, les coûts opératoires du grillage sont plus bas que ceux de la lixiviation sous pression et de la biolixiviation pour des revenus annuels équivalents. À gain à peu près équivalent, il apparaît donc que la biolixiviation peut l'emporter du fait de sa simplicité de mise en œuvre et de conduite.

Tableau 2

<b>Coûts comparés (M\$ US) des trois principaux procédés de prétraitement des minerais d'or réfractaires pour 100 000 t traitées (Kontopoulos et Stefanakis)</b>			
<b>Procédé</b>	<b>Coûts d'investissement</b>	<b>Coûts opératoires annuels</b>	<b>Revenus annuels</b>
<b>Biolixiviation</b>	1,0	9,0	36
<b>Grillage</b>	2,8	7,0	32
<b>Lixiviation sous pression</b>	2,5	11,4	36,7

## **Chapitre 2 : Biolixiviation de l'argent :**

### **Introduction :**

Le domaine minier de nos jours est confronté à plusieurs contraintes économiques et environnementales et pour lesquelles l'émergence de la biotechnologie peut donner des réponses. La biolixiviation des minerais et des concentrés est déjà utilisée pour récupérer et extraire les métaux de base tels que le cuivre, le cobalt, le nickel etc. et les métaux précieux or et argent à partir des mines à travers le monde. Cependant les perspectives d'exploitations futures, par les approches conventionnelles (pyroméallurgie, flottation etc.), des gîtes et gisements pauvres, de recyclage des déchets miniers et des stériles et de développement des technologies de la lixiviation in situ qui sont non rentables à cause des problèmes liés aux contraintes naturelles semblent possibles économiquement par les procédés biologiques même du point de vue économique. Le procédé de biomine devrait être de plus en plus utilisé dans la futur, des recherches récentes montrant que les bio processus peuvent être utilisés exploités même pour les minerais oxydés.

En Algérie, l'utilisation du procédé de biolixiviation ou biomine n'a jamais été envisagée à notre connaissance, non seulement à l'échelle industrielle mais même à l'échelle pilote et laboratoire. En raison des contraintes technico-économiques, environnementales et de problèmes de santé dans le milieu minier (cyanure utilisé au gisement aurifère de amesmessa au sud, problème du phosphore pour le gisement du fer de Ghar Jebilette, épuisement des ressources et insuffisance technologique), la biolixiviation est l'une des solutions les plus prometteuses dans le monde et peut représenter la solution la plus satisfaisante aux conditions économiques du pays. Le secteur minier a un besoin vital d'instauration de bases industrielles et de recherche dans la biotechnologie minière,

Dans notre étude, nous avons choisi de travailler sur l'argent d'El Abed. La mine d'El Abed à Tlemcen est la plus grande mine souterraine en Algérie, depuis l'ère de colonisation française. Cette mine située au Nord Ouest du pays à la frontière algéro-marocaine. Avant que l'Algérie construise sa propre usine de traitement d'argent associé au plomb, le traitement du minerai d'El Abed était effectué dans la partie marocaine où l'usine française était située. Après l'indépendance, l'Algérie continuera le traitement de son minerai dans le coté marocain. Sachant que le moyen d'échange entre les deux voisins n'était pas de la monnaie et de la devise mais de l'argent métal traité par les marocains, l'Algérie récupère le plomb et le zinc et le Maroc garde l'argent métal comme valeur d'échange. Après l'installation d'une usine de traitement à El Abed, l'Algérie a commencé à valoriser son minerai dans sa propre usine. Malheureusement le métal argent était jeté avec les déchets du traitement car celle-ci ne disposant pas de moyens et de technologie suffisants pour le récupérer.

En raison de la teneur importante d'argent dans la galène de cette mine, et son effet nuisible sur l'environnement, nous avons essayé de récupérer ce métal par biolixiviation.



## **PROCEDE DE Biolixiviation**

### **L'échantillonnage :**

Nous avons voulu faire la biolixiviation de l'argent métal à partir des minerais sulfurés, les sulfures d'argent représentent la source principale de ce métal qui est couramment associé aux autres métaux comme un produit accessoire. Rare dans l'écorce terrestre, il est majoritairement contenu dans la galène sous forme d'argentite  $Ag_2S$ . C'est le cas le plus répandu en Algérie.

Pour faire une étude nous devons faire un échantillonnage, pour cela nous devons choisir un site minier représentatif. Il nous faut des informations sur des sites miniers plombifères Algériens qui contiennent de l'argent. Donc nous avons visité l'ENOF pour avoir quelques informations utiles, ils nous ont donnés (03) propositions

- La mine d'El Abed (Tlemcen).
- Ain Kahla Sétif
- la mine de plomb et de zinc de Tala Hamza-Oued Amizour (Bejaia)

Afin de faire le meilleur choix, il faut suivre des critères qui rassemblent trois facteurs principaux à savoir :

- la teneur en argent métal dans la galène
- l'accessibilité et la présence d'une convention entre l'école nationale polytechnique et la société responsable de ce site.
- L'historique de la mine (est-ce-que cette mine était déjà exploitée , en cours ou en devenir d'exploitation ?)

Selon ces critères le meilleur choix est celui de la mine d'El Abed car elle contient un taux important d'argent par rapport au deux autres, a déjà été exploitée, l'argent était anciennement un produit accessoire. Et l'école nationale polytechnique dispose d'une convention avec l'école des mines d'El Abed EMEA qui est, aujourd'hui, responsable de cette mine et donc accessible pour nous.

### **Réalisation de l'échantillonnage:**

Pour réaliser notre recherche nous avons effectué des prélèvements de la galène et pour la matière vivante nous avons prélevé de l'eau à partir de plusieurs endroits.

Pour la galène : on n'a pas pu descendre à la mine, elle était inaccessible car il y avait un problème, du fait que l'exhaure n'a pas été effectué depuis presque une année, la pompe principale était en panne. Donc nous avons prélevé les échantillons de la galène à partir de la zone de stockage près du puits N°03 de la mine (sous forme des blocs rocheux, la dimension du plus grand était de 20cm\*10cm\*5cm)

Pour le plomb fini et semi-fini : nous avons pris des échantillons dans 4 bouteilles d'eau de 1.5L

Pour l'eau : nous avons prélevé à partir des cellules de flottation, de l'eau de pluie, et de la retenue d'eau d'exhaure de la mine pompée vers la surface. 3L pour chaque type d'eau.



Figure 10: situation du puit 03 et de la zone de stockage sur un plan

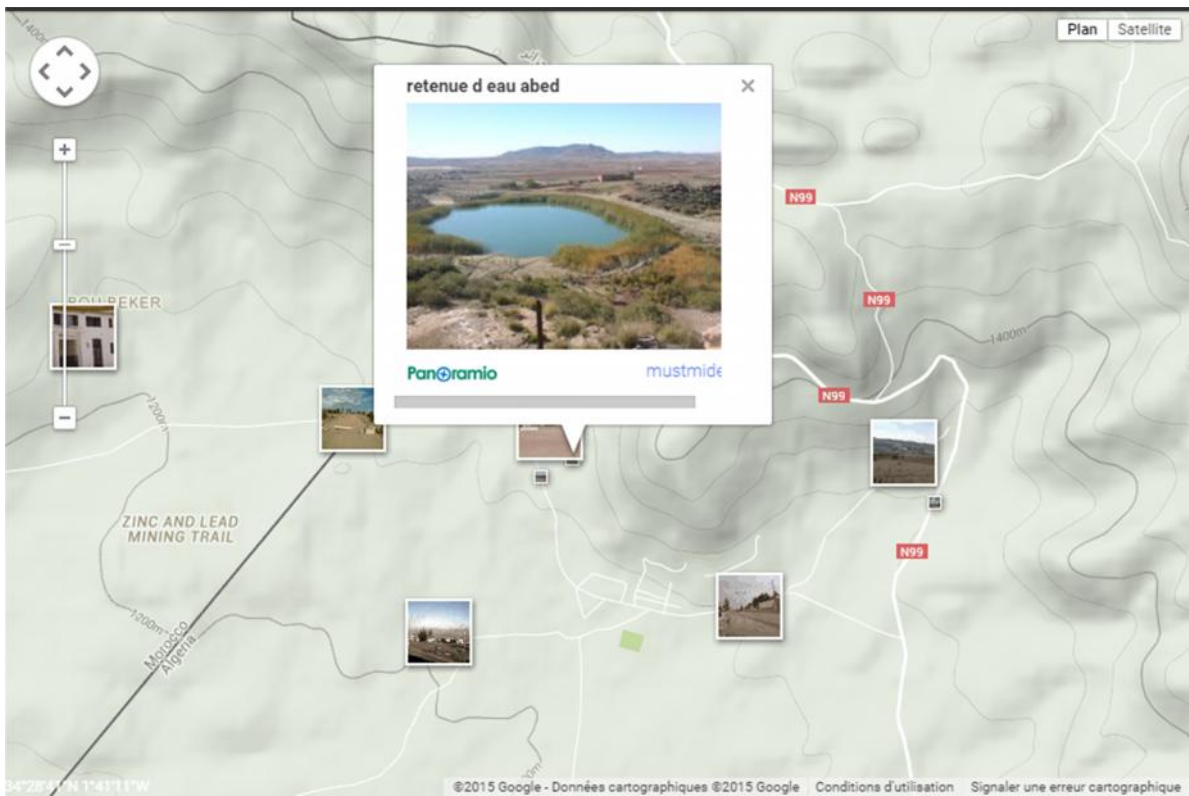


Figure 11: la retenue d'eau de l'exhaure



Figure 12: la mine d'El Abed

## Objectifs :

Pour le minerai :

- Nous avons fait un échantillonnage sur le produit fini et semi-fini du plomb de cellules de flottation afin de voir et comparer le taux d'argent dans la galène entre un produit fini, semi-fini et primaire.

Pour les échantillons de la galène nous avons fait un concassage, broyage quartage et tamisage au niveau du laboratoire de préparation mécanique du département de Génie Minier au niveau de l'école nationale polytechnique d'Alger. Puis nous avons fait le dosage du métal argent en utilisant la méthode d'étalonnage par la SAA au niveau de laboratoire de l'ORM à Boumerdès (pour la préparation des échantillons pour la SAA voir l'annexe6)



Figure 13: produit fini, semi-fini et primaire

Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 3: Teneur d'argent dans la galène par la méthode de SAA**

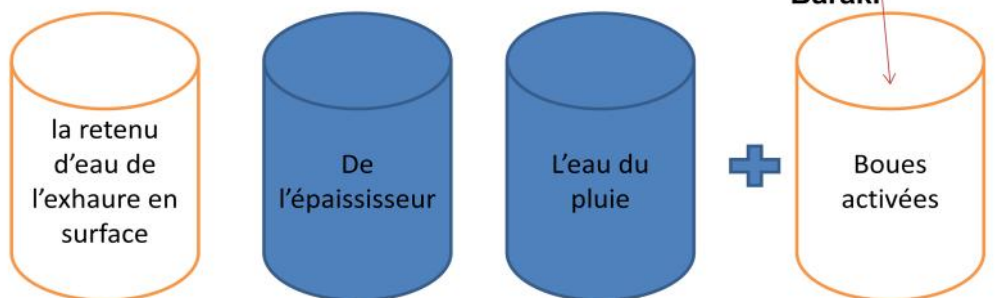
Echantillons	(g/T)	mg/l
produit Concassé	168,800	3,376
P. semi-fini	188,100	3,762
P. Fini	315,550	6,311

Nous avons choisi de travailler sur le produit primaire concassé car il contient la plus petite concentration en argent.

**Pour l'eau :**

- Nous avons effectué des prélèvements d'eau pour choisir celui qui contient de l'argent et des microorganismes et pour les raisons suivantes :
  - Utilisation de l'eau dans la biolixiviation si elle contient des bactéries.
  - La présence des microorganismes dont des bactéries dans l'eau qui contient de l'argent va nous faciliter beaucoup l'étude de la biolixiviation car nous n'aurions pas besoin d'attendre longtemps pour leur adaptation à l'argent.

**Echantillonnage:** Sources des microorganismes  
03 type d'eau prélevées



Les analyses **d'étalonnage d'Ag<sup>+</sup>** par la SAA ont donné les résultats suivants :

**Tableau 4: Concentration d'argent dans les différents types d'eau :**

type d'eau	Résultat final (mg/l)
Digue	0,054
l'eau de cellule de flottation	0,000
Eau de pluie	0,000

## **Essais de biolixiviation de l'argent**

### **Principe :**

L'objectif des essais de biolixiviation est de démontrer, à l'échelle du laboratoire, s'il existe, pour le sol à traiter ou le minerai, un potentiel de traitement par extraction par voie biologique directe ou indirecte des métaux et/ou métalloïdes présents dans le sol.

Nous avons effectué des essais en discontinu ou batch, dans les conditions normales de laboratoire et à température ambiante.

Après concassage, broyage, quartage et tamisage de la galène, nous avons choisi les particules <2mm pour faire la lixiviation de l'argent.

D'après les résultats des analyses avec la SAA nous avons décidé de travailler avec l'eau venant de la retenue d'eau d'exhaure d'El Abed, pour faire la biolixiviation car cette eau contient des microorganismes et on suppose que ceux-ci supporteront la présence de l'argent et pourront donc faire la lixiviation biologique de ce métal.

Pour comparer le travail et le rendement de cette microflore bactérienne provenant de la mine nous avons travaillé également avec des boues activées issues de la station d'épuration des eaux usées de Baraki et ce dans le but de comparer la vitesse et le rendement de la biolixiviation de l'argent par des microorganismes provenant de lieux différents.

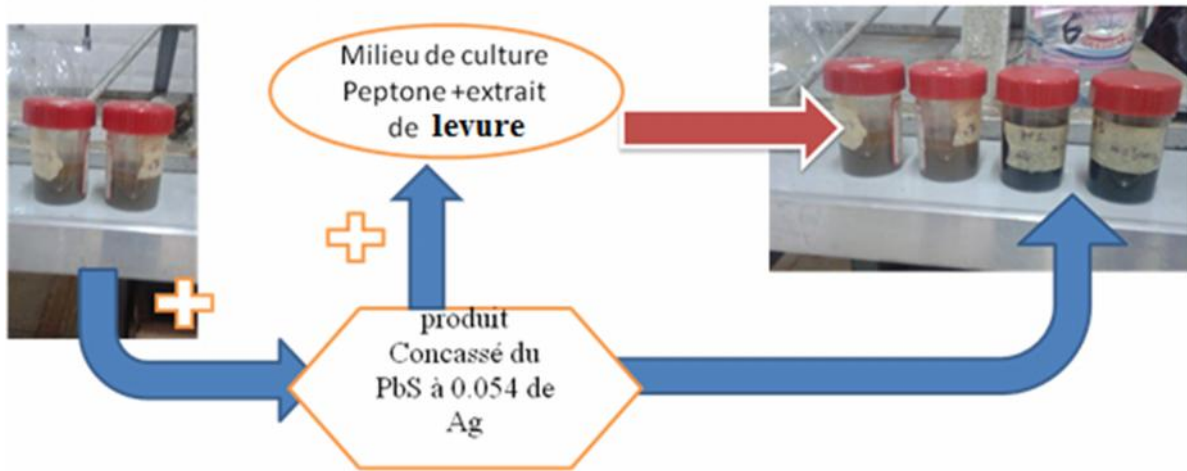
### **Procédés de biolixiviation**

Nous avons utilisé un procédé statique et un procédé dynamique

#### **Procédé statique**

Au début, nous avons introduit des boues activées dans huit (08) flacons en propylène et nous les avons contaminés avec l'argent en rajoutant un milieu de culture composé de peptone et d'extrait de levure dans 04 flacons.

4 échantillons de boues activées contaminées dont 2 sans milieu de culture



Pour l'eau de mine nous avons utilisé 04 flacons auxquels nous rajoutons de la galène périodiquement avec un milieu de culture (peptone et extrait de levure).

Pour l'eau de mines nous avons remarqué un trouble de la solution.

Nous avons effectué une étude préliminaire pour savoir, si les boues peuvent s'adapter rapidement avec la présence de la galène argentifère (tableau 5).



Figure 14: l'eau de mine

Tableau 5: Contamination des boues activées avec le produit concassé

	P.concassé(g)	0,2	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Milieu de culture</b>	Echantillons	Durée des essais					
		48h	1 semaine	2 semaines	3 semaines	4 semaines	5 semaines
<b>Avec milieu de culture</b>	COULEUR DE LA SOLUTION DANS LE FLACON						
	1	normale	Normale	normale	normale	normale	normale
	2	normale	Normale	normale	normale	normale	normale
	3	normale	Normale	normale	normale	normale	normale
<b>Sans milieu de culture</b>	4	normale	Normale	normale	normale	normale	normale
	5	noir	Noir	noir	noir	noir	noir
	6	noir	Noir	noir	noir	noir	noir
	7	noir	Noir	noir	noir	noir	noir
	8	noir	Noir	noir	noir	noir	noir

Après 48h nous avons observé que les quarts (04) flacons de boues activées sans milieu de culture sont devenus noirs, sachant que leur couleur naturel est marron, les boues n'ont pas pu supporter la galène et l'argent.

Donc nous constatons que les microorganismes de boues sont morts et ne pouvaient donc pas s'adapter rapidement au minerai de la galène.

Nous avons fait une étude approfondie pour la biolixiviation en mode statique, nous avons introduit trois masses (0.2g, 15g, 25g)

Résultats de la biolixiviation en mode statique :

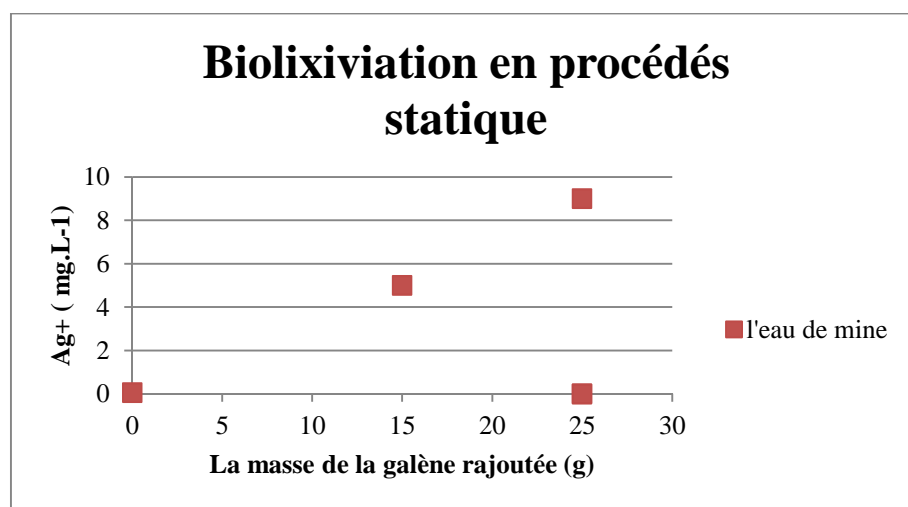


Figure 15: Concentration d'Ag+ en fonction de la masse de PbS ajoutée à l'eau de mine dans le procédé statique

**Interprétation :** on voit bien que la concentration d'argent lixiviée par les bactéries de l'eau d'exhaure augmente avec la masse de la galène argentifère ajoutée.

### Cinétique de la biolixiviation d'argent

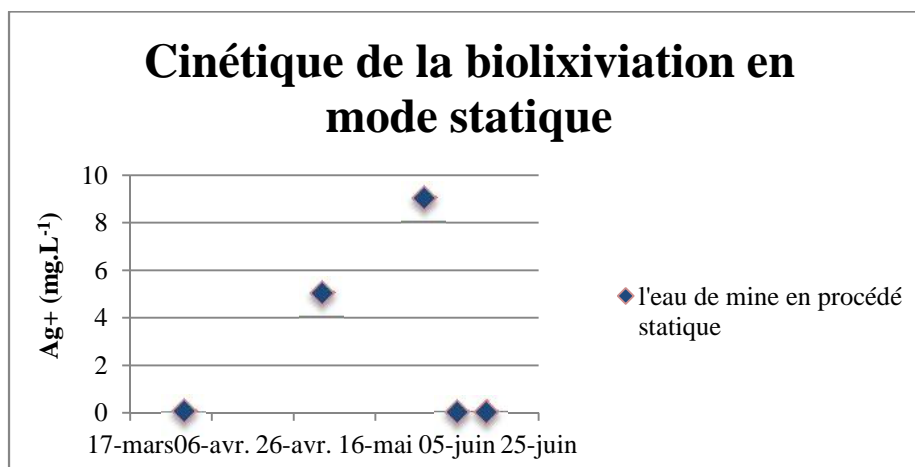


Figure 16: Cinétique de la biolixiviation d'argent en mode statique

**Interprétation :** la biolixiviation d'argent augmente en fonction du temps

### Procédé dynamique

Nous avons versé 02 L d'eau de mine dans 02 Erlenmeyers et nous avons introduit un demi-litre (1/2) L de boues activées dans un troisième.

Les trois Erlenmeyers ont été agités périodiquement et contaminés en continu avec de la galène.

Pour les Erlenmeyers contenant de l'eau d'exhaure, nous avons introduit le milieu de culture pour les deux périodiquement pendant deux semaines en anaérobiose. Puis, nous avons arrêté l'ajout de milieu de culture pour l'un des Erlenmeyers qu'on a nommé eau de mine 1 et nous avons appelé eau de mine 2 l'autre Erlenmeyer contenant l'eau de mine avec milieu de culture.

-l'eau de mine 1 (E1) : l'eau de la retenue d'exhaure contaminée sans milieu de culture

-l'eau de mine 2 (E2): l'eau de la retenue d'exhaure contaminée avec milieu de culture (peptone et extrait de levure)

-Boues activées (B): avec milieu de culture (peptone et extrait de levure)

### Résultats et interprétation

Les figures suivantes représentent la relation entre la masse de PbS ajouté au bioréacteur et la concentration d'argent lixiviée par les trois type de solution de lixiviation en utilisant la SAA et la méthode de dosage de Fajans pour titrer l'argent solubilisé par les bactéries.

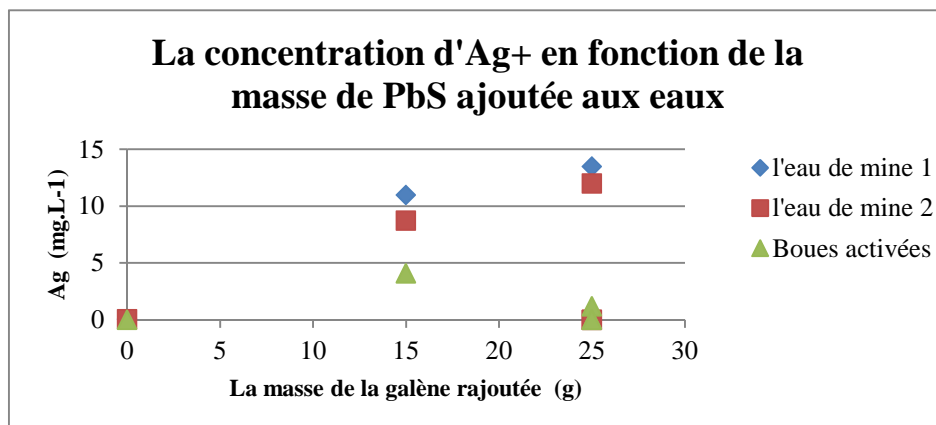


Figure 17: La concentration d' $Ag^+$  dissout pour les trois types d'échantillons en fonction de la masse de la galène concassée ajoutée en utilisant la méthode de dosage de l'argent par la SAA.



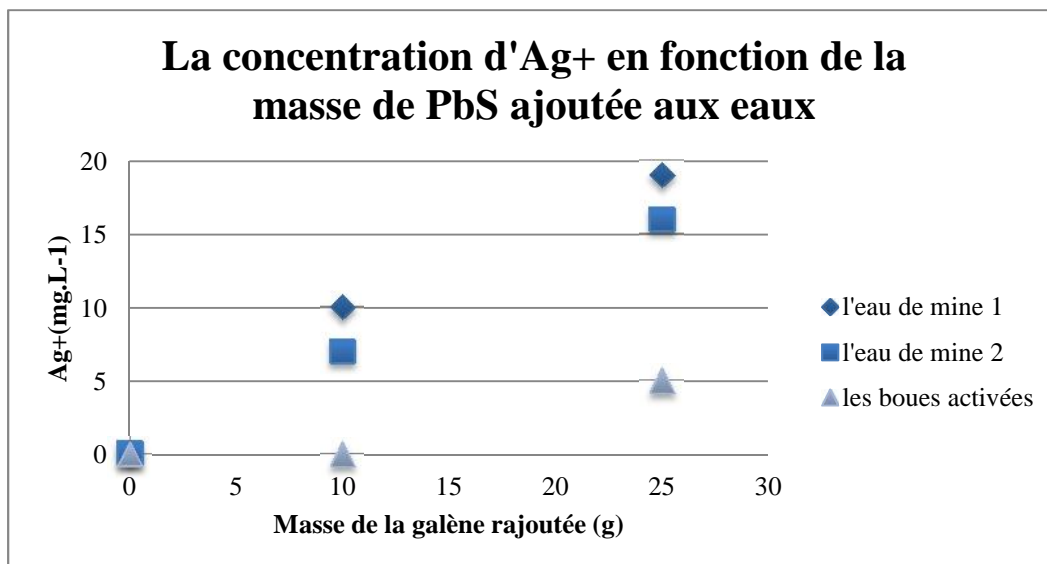


Figure 18: Concentration d'Ag<sup>+</sup> en fonction de la masse de PbS ajoutée aux eaux d'exhaure en utilisant pour le dosage d'Ag<sup>+</sup> la méthode de Fajans.

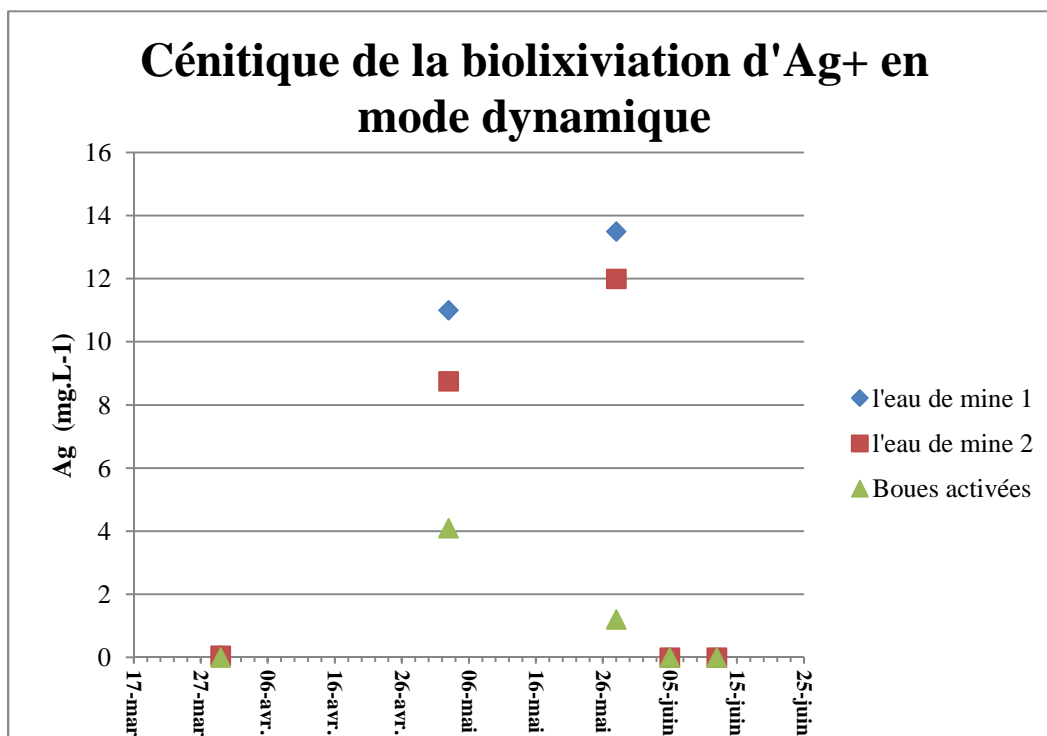


Figure 19: Cinétique de la biolixiviation de l'argent en mode dynamique par l'eau de mine et par les boues activées (Méthode de la SAA pour le dosage de l'argent).

**Remarque :** Le 05 mai nous avons achevé l'ajout de la galène argentifère et nous avons remarqué après les résultats suivants :

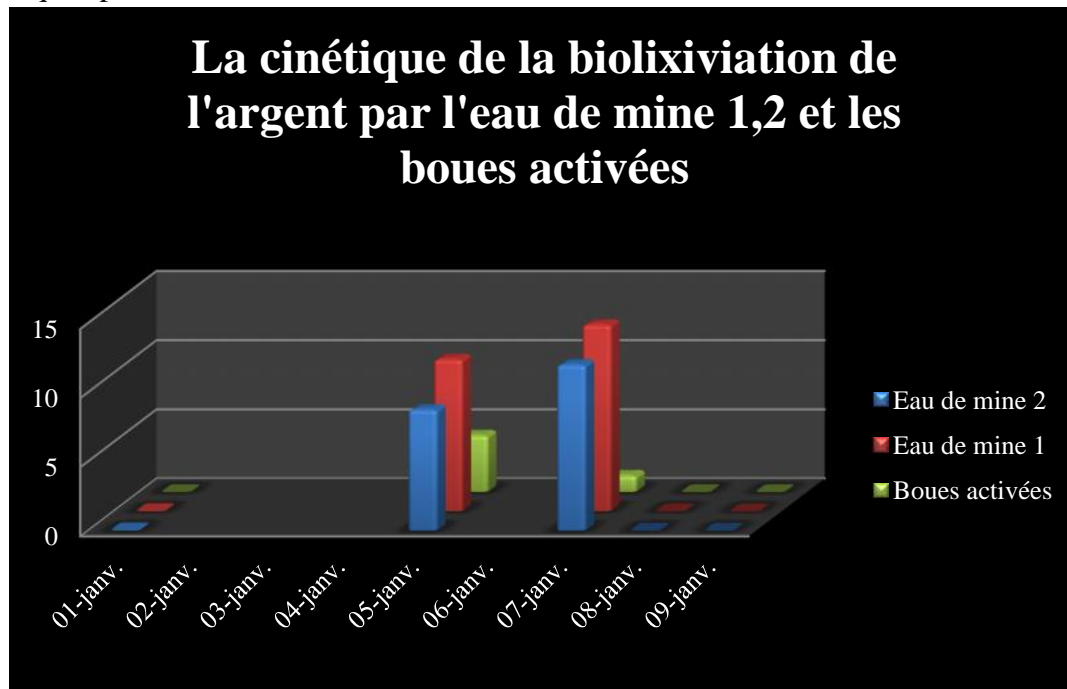


Figure 20: la cinétique de la biolixiviation de l'argent par les eaux de mine 1,2 et les boues activées

Interprétation des résultats :

- ✓ Les figures 17 et 18 montrent que le rendement de la biolixiviation par l'eau de mine est meilleur par rapport au celui de boues activées. Ces résultats pourraient s'expliquer par probablement une rétention de l'argent par la matière organique du milieu de culture ou bien le développement de certaines bactéries au détriment de bactéries de biolixiviation
- ✓ La biolixiviation augmente avec l'augmentation de la masse de la galène argentifère.
- ✓ La méthode de dosage chimique par la méthode de Fajans donne des résultats satisfaisants à l'instar de ceux obtenus par l'étalonnage par la SAA.
- ✓ La figure 19 montre que la cinétique de la biolixiviation d'argent par l'eau de mine est plus rapide que celle obtenue par les boues activées cela est peut être dû à l'adaptation naturelle des bactéries de l'eau de l'exhaure pour l'argent et la galène. Par contre les boues activées ont pris un temps supplémentaire pour s'adapter à leur nouveau milieu.
- ✓ Le 28 mai nous avons observé en utilisant la SAA que la concentration de l'argent est diminuée par rapport aux 25 jours précédents. Cela peut être le fait de l'adsorption de l'argent par les bactéries ou bien par la précipitation de ce métal.
- ✓ Nous remarquons dans la figure 20 que la cinétique et la biolixiviation de l'argent ont diminué jusqu'à tendre vers zéro. Cela est dû au fait que nous avons arrêté l'ajout de la galène argentifère et peut être abouti au seuil de la capacité de la biolixiviation.

## Comparaison entre les procédés statique et dynamiques

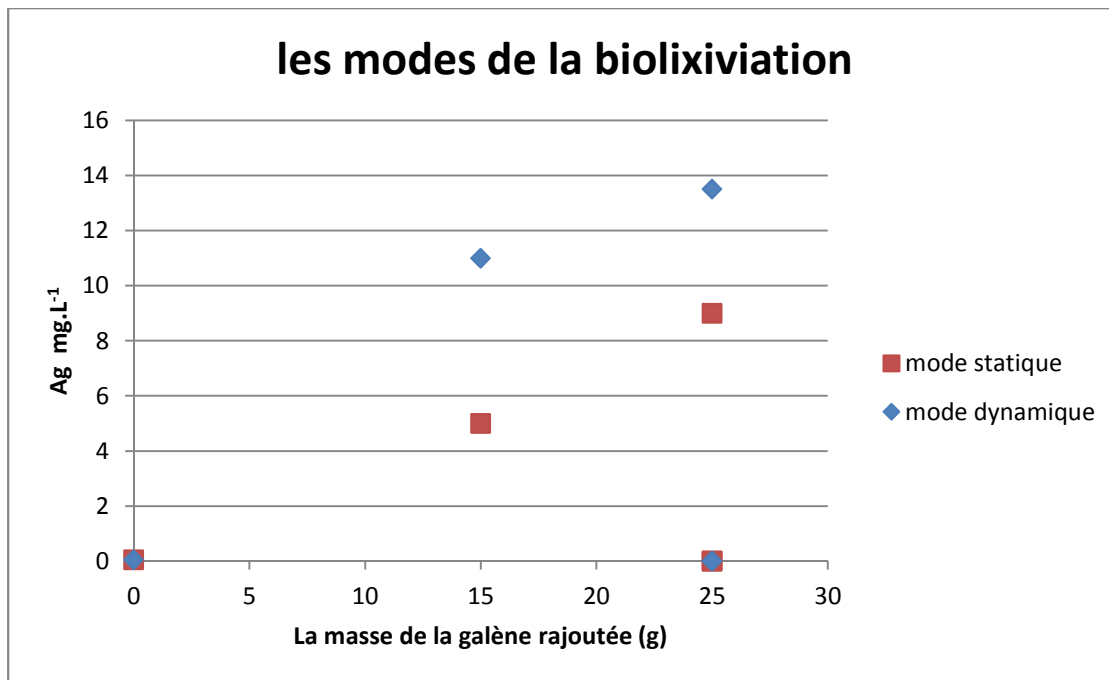


Figure 21: comparaison entre les deux modes de biolixiviation.

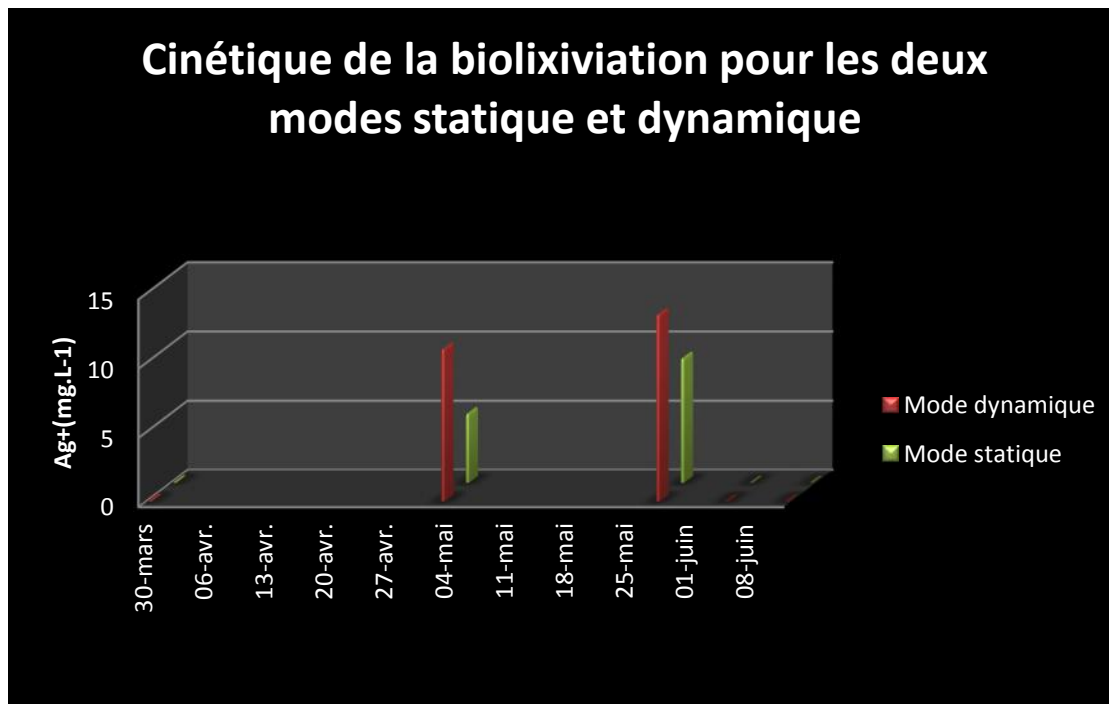


Figure 22: Cinétique de la biolixiviation de l'argent en modes statique et dynamique

Interprétations :

D'après les figures 21 et 22 on remarque bien que la biolixiviation en mode dynamique est la meilleure car elle est plus rapide et plus efficace

Conclusion :

**La biolixiviation dynamiqués donne un rendement plus fort qu'en mode statique, ainsi une vitesse de lixiviation plus grande.**

En concluant, au vu des résultats finaux de la cinétique, après l'achèvement de l'ajout de la galène pour une durée d'un mois, nous avons constaté qu'il n'y a plus d'argent en solution nous avons émis les hypothèses suivantes :

- ✓ l'argent a été totalement adsorbé ou absorbé par les microorganismes
- ✓ l'argent a été précipité totalement.
- ✓ Ou bien les deux à la fois, l'argent est présent dans les deux phases, la phase précipitée solide ou la phase adsorbée par les bactéries

**L'estimation de la quantité d'argent dans chaque phase :**

Pour savoir laquelle ou lesquelles des hypothèses émises est ou sont vraies nous avons effectué deux autres tests :

Avant tout nous avons dosé la concentration de  $Ag^+$  dans un échantillon d'eau de mine témoin sans contamination ni milieu de culture. L'échantillon a été préservé dans des conditions ambiantes et protégé contre la lumière et le dosage par SAA nous a donné les résultats suivants après trois(03) mois :

**Tableau 6 : Adsorption d' $Ag^+$  par les bactéries d'un échantillon témoin**

	Date	
	19-mars	25-juin
Concentration d' $Ag^+$ ( $mg.L^{-1}$ )	0,054	0,018

**Dans la phase vivante:**

Nous avons utilisé la méthode de dosage de Fajans, nous avons introduit la partie flottante sur les eaux. Après centrifugation et filtration nous avons dosé l'argent avec le NaCl en utilisant comme indicateur de fin de réaction la fluorescéine

Nous avons mis la notation suivante :

-l'eau de mine 1 (**E1**), l'eau de mine 2 (**E2**), Boues activées (**B**):

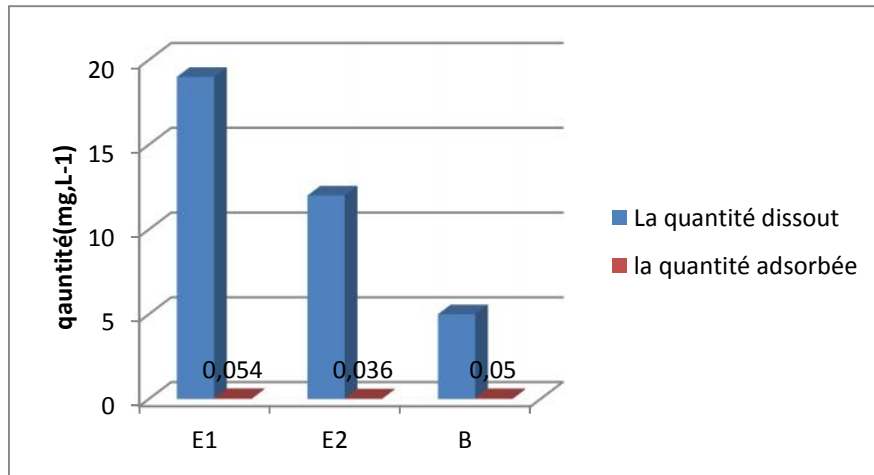


Figure 23: Comparaison entre la quantité dissout et adsorbée pour les deux types d'eau et les boues activées

### Interprétation :

- ✓ On remarque bien que la quantité adsorbée par les bactéries est négligeable devant la quantité dissoute.
- ✓ L'eau de mine 1 donne le meilleur rendement de lixiviation tandis que les boues activées adsorbe le plus d'argent.
- ✓ On constate que les bactéries de l'eau de l'exhaure vont donner un rendement plus grand si on les cultive dans un milieu minérale et pas dans un milieu organique.

### L'argent dans la phase solide :

#### L'estimation de la quantité d'argent précipité :

Pour savoir s'il y a de l'argent dans la phase solide et combien il y en a, nous avons effectué deux types d'essai:

- ✓ Le premier en utilisant la fusion pour le solide précipité afin de séparer l'argent et le plomb, sachant que la température de fusion du plomb est 327,5 °C et celle de l'argent 961,8 °C.
- ✓ La second par l'attaque chimique avec le HCl concentré afin de solubiliser le solide, le plomb, faire précipiter l'argent en AgCl et ensuite faire les calculs.

**La fusion:** Cette méthode n'a pas bien marché, compte-tenu de la difficulté et du risque des effluents gazeux inconnus.

Nous avons fusionné le plomb à 400°C, nous avons essayé de récupérer l'argent métal, mais nous n'avons pas pu en raison de la difficulté de la manipulation.

## L'attaque par le HCl concentré :

### Méthodologie :

- ✓ Nous avons filtré les solutions contenant les bactéries
- ✓ Nous avons lavé le précipité
- ✓ Puis, nous avons introduit le précipité du plomb et argent de la biolixiviation dans un Erlenmeyer
- ✓ Nous avons travaillé sous la hotte, et nous avons ajouté de HCl concentré.

### But :

Le but était de faire dissoudre le plomb et toutes les autres impuretés par la solution de HCl concentré, et en même temps faire précipiter l'argent sous forme d'AgCl. Donc l'apparition d'un précipité blanc qui noircira avec la lumière nous confirmera que ce précipité est AgCl, et lorsqu'on fait la pesée de ce précipité après l'avoir séché nous pouvons calculer la masse d'argent qui a été précipité sous sa forme métallique par l'action des bactéries.

Le tableau suivant représente les résultats de pesée et de calcul pour estimer la masse d'argent récupérée par la biolixiviation.

Tableau 7: résumé des résultats de la biolixiviation de l'argent dans les trois phases

13-mai	quantité du PbS (g)	quantité de l'argent précipité en (g)	quantité du précipité d'AgCl (g)	La quantité dissoute (mg/L)	la quantité d'Ag adsorbée (mg/l)
<b>E1</b>	25	0,022	0,03	19	0,054
<b>E2</b>	25	0,0191	0,026	12	0,036
<b>B</b>	10	0,0066	0,009	5	0,05

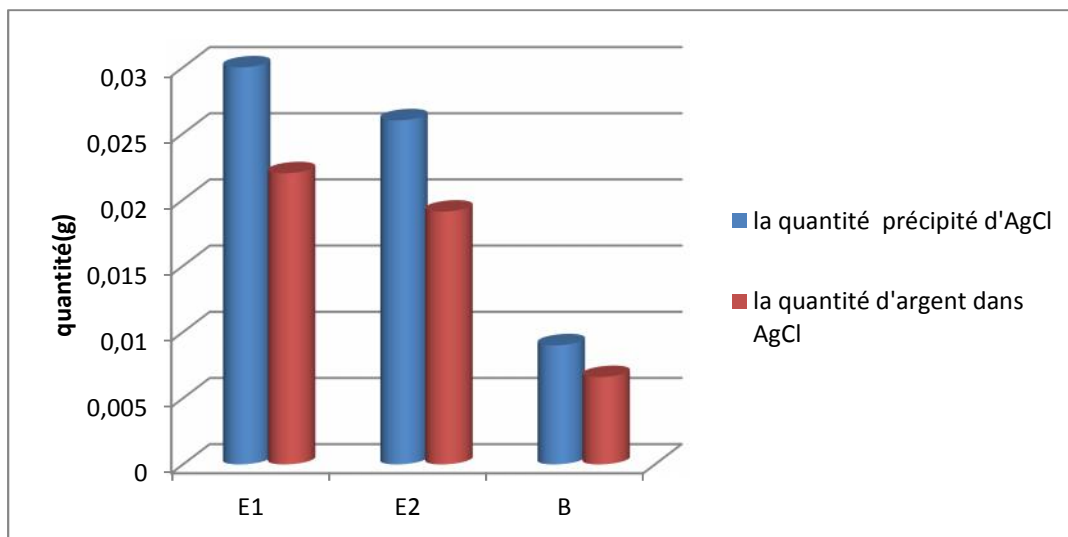


Figure 24: Comparaison entre les quantités précipitées d'AgCl et la quantité d'Ag contenu

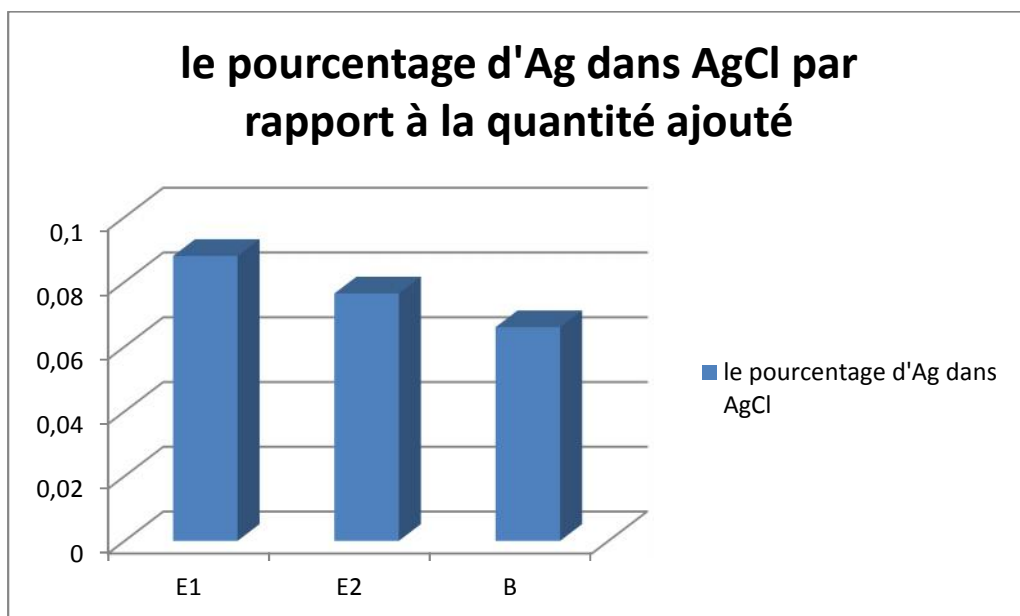


Figure 25: Pourcentage d'argent récupéré à partir de la biolixiviation d'une quantité de la galène argentifère le 13/05

### Interprétation :

L'eau de mine 1 qui a comme source de culture minérale est le meilleur pour la biolixiviation et la précipitation de l'argent métal.

## **Conclusion :**

Le présent travail a porté sur la biolixiviation de l'argent à partir de la galène et de l'application de la biolixiviation comme technique alternative au traitement des minerais sulfurés.

On peut utiliser les microorganismes qui engendrent le (DMA) pour la biolixiviation.

Les microorganismes de l'eau de drainage minier acide donnent les meilleurs résultats pour la biolixiviation par rapport aux boues activées.

On peut utiliser les boues activées pour faire la biolixiviation.

Les procédés dynamiques donnent ont un rendement plus important que les procédés statique.

La cinétique des procédés de biolixiviation dynamique est la plus rapide.

On peut dire que la biolixiviation par procédés dynamique en bioréacteurs représente un espoir et une future prometteuse pour le secteur minier Algérien surtout en se qui concerne les métaux stratégiques. Et peut répondre aux exigences environnement et technico-économiques pour le pays si on commence à exploité d'aujourd'hui.



## **Chapitre 3 : Analyses microbiologiques sur les bactéries de l'eau de l'exhaure de la mine d'El Abed**

### **Analyse microbiologique**

#### **I-Objectif**

Dans cette approche microbiologique on a visé d'isoler, d'identifier la microflore dominante de l'eau de mine étudiée et de déterminer la charge bactérienne initiale de cette même flore.

#### **I-Lieu et période d'étude**

L'étude s'est étendue sur une période de 15 jours du mois de Mai. Elle a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie<sup>2</sup> à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV).

#### **II-Echantillonnage et prélèvement**

Les échantillons sont des prélèvements d'eau de mines, deux prises de cette eau ont été réalisées dans des pots stériles au niveau de la station de retenue d'eau en surface d'exhaure de la mine d'El Abed TELEMEN. Ces échantillons ont été transportés et conservés à température ambiante au laboratoire où ont été réalisés les tests microbiologiques. Cette analyse a été complétée par deux prélèvements de boues et ceci dans un but d'une évaluation comparable.

Un troisième prélèvement était de boues activées venant de la station d'épuration des eaux usées de Baraki.



**Figure 26: plan satellitaire de la région d'El Abed, et les sites de prélèvement d'eau**

### III-Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé était un matériel usuel de laboratoire de microbiologie.

La liste ainsi que la composition des milieux de culture, bouillons et réactifs utilisés sont présentés dans l'annexe

#### Matériels :

- Brûleur à gaz
- Lamelles
- Boîtes de Pétri d'environ 49 mm × 9 mm et 100 mm × 15 mm
- Membranes filtrantes stériles quadrillées de porosité de 0,45 µm et de 47 mm de diamètre
- Pincettes en platine à bouts plats
- Micropipettes stériles de 1,0 ml de type TD
- Thermomètres permettant une lecture à 0,5 °C
- Tubes à essais de 16 mm × 125 mm avec bouchons MA.
- Fil à boucle et fil droit
- Stéréoscope
- Autoclave
- Incubateur dont la température est ajustée à 35 °C ± 0,5 °C
- Incubateur dont la température est ajustée à 45 °C ± 0,5 °C
- Lames porte-objet
- Balance analytique avec une précision de 0,01 g
- Rampe de filtration avec entonnoirs et supports de filtres
- pH-mètre
- Plaque chauffante agitatrice avec barre magnétique
- Réfrigérateur maintenant une température entre 2 et 6 °C
- Pompe à vide
- Flacons laveurs pour l'eau de rinçage
- Les réactifs de coloration de Gram : le violet de gentiane ; lugol ; l'alcool ; la fuchsine



Figure 27: quelques matériels utilisés



Figure 28: les lamelles



Figure 29: Les réactifs de coloration de Gram



Figure 31: micropipette



Figure 30: Pincettes en platine

le

## IV- Protocole d'analyses bactériologiques de l'eau de mines et des boues

### 1-Etude microscopique

Cette étude a été réalisée par une coloration de Gram (méthode classique de bactériologie) afin de déterminer l'aspect pariétale et morphologique des bactéries qui a été réalisée pour toutes les colonies suspectes. (Cristian Gram 1884).

#### Mode opératoire

On dépose une goutte d'eau à analyser sur une lame puis on réalise un frottis bactérien avec un étalement en couche mince, séchage et fixation par la chaleur. On procède à une coloration par violet de Gentiane pendant 1 minute puis une fixation par le Lugol pendant 1 minute. On fait une décoloration à l'alcool puis rinçage à l'eau. Ensuite, une recoloration est effectuée par la Fuchsine pendant 1 minute. Enfin la lame est rincée à l'eau du robinet, séchée et observée au microscope optique à l'immersion.

### 2-Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

La préparation des échantillons a été réalisée selon les directives de la norme AFNOR (NF V08-201) voir annexe.

#### Mode opératoire

1ml d'eau est prélevé aseptiquement de chaque pot des prélèvements (solutions mère) et introduit dans un tube stérile puis 9ml du diluant TSE (Tryptone Sel Eau) sont ajoutés à ce dernier. Après une homogénéisation a été effectuée à l'aide d'un vortex afin de bien mélanger la solution diluée au un dixième (1/10). A partir de cette dernière des dilutions successives de  $10^{-2}$  à  $10^{-6}$  en progression géométrique à raison de 1/10 sont réalisées avec le diluant (T.S.E.) (figure 32). Pour les boues activées nous avons dilué jusqu'à  $10^{-7}$ .



Figure 32: Dilutions décimales.

### 3-Recherche et dénombrement des flores dominantes

Ces tests ont été réalisés selon Bourgeois et Leveau., (1991) et Larpent., (2000)

Cette analyse a été réalisée sur milieu usuels de base avec une source d'énergie et de carbone, la gélose nutritive (GN), gélose désoxycholate (GD), gélose de Chapman(GC), bouillon nutritif (BN) et le bouillon lactosé au vert brillant (BVBL) pour le dénombrement.



Figure 33: ensemencement sur la gélose de Chapman(GC)

Les ensemencements ont été faits :

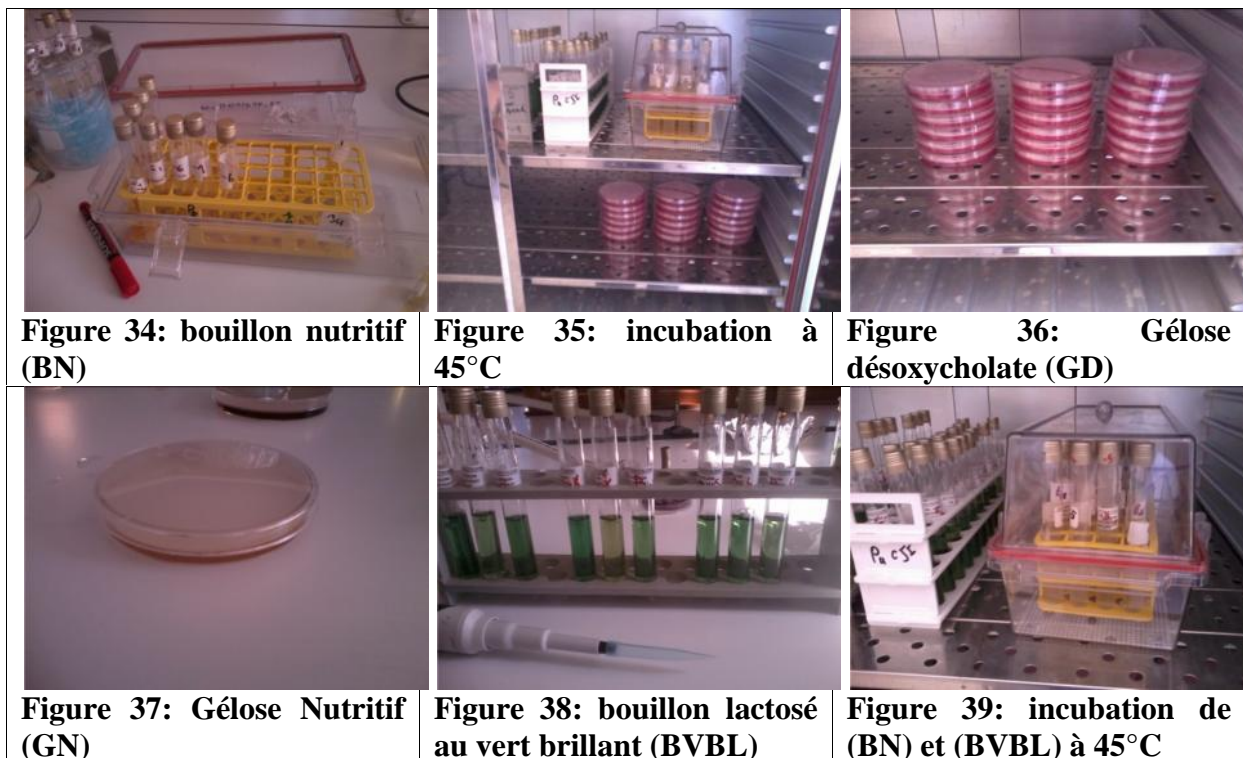
-A la surface et en stries sur gélose désoxycholate (GD) et la gélose de Chapman(GC).

-On a incubé la gélose de Chapman(GC) à 37°C.

-En profondeur dans la gélose (GN) selon les étapes suivantes : Après l'identification des boîtes, on dépose stérilement 1ml de chaque dilution. Ensuite on coule 15 ml de la gélose nutritive (GN) fondue et refroidie dans un bain marie à 47°C (surfusion). Après, on mélange en maintenant la boîte couverte sur la surface de la paillasse. On réalise 6 cercles de 150mm de diamètre environ dans le sens de l'aiguille d'une montre, puis 6 cercles dans le sens inverse, ensuite 6 cercles aller et retours de haut en bas tout en évitant la formation d'éclaboussures. Puis, on laisse refroidir. Une fois cette couche se solidifie, on rajoute la double couche. Enfin, on place les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 45°C pendant 24 à 48h.

-Pour le dénombrement la méthode du nombre le plus probable(NPP) a été utilisé. Pour se faire le bouillon lactosé au vert brillant (BVBL) a été ensemencé à raison de trois tubes par les trois dilutions choisies ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) pour l'eau de mine (1 et 2) et ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ) pour les boues activées. VOIR annexe méthode du NPP à raison de 1ml par dilution.

-Pour le bouillon nutritif (BN), on a ensemencé tous les dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  pour l'eau et jusqu'à  $10^{-7}$  pour les boues, c.-à-d. 19 tubes. On a introduit ces tubes dans des jarres en anaérobiose et les incubés à 45°C pendant 48h.



#### 4- Identification microscopique et biochimique

Cet examen a consisté à confirmer par étude microscopique l'aspect pariétal et morphologique à partir des cultures pures isolées. En effet, la coloration de Gram a été effectuée afin de nous orienter sur le groupe bactérien le plus fréquent. Aussi, quelques caractères d'identifications biochimiques ont été étudiés pour pouvoir déterminer cette microflore. Les tests étudiés ont été la recherche d'une oxydase cytochrome et la mise en évidence des tests du rouge méthyle (RM) et Voges Proskauer VP.

##### -Test de VP et RM

Dans ce test, on utilise le milieu Clark et Lubs. Ce milieu permet l'étude de la voie de la fermentation du glucose. Les étapes assurant ce test sont mentionnées dans le tableau 1 et les deux figures 9 et 10.

Pour ce test, on a utilisé les concentrations suivantes :

- $10^{-3}$  pour l'eau de mine 1.
- $10^{-4}$  pour l'eau de mine 2.
- $10^{-5}$  pour les boues activées.

Ces concentrations ont été ensemencées à partir des souches pures sur les boîtes de la gélose désoxycholate (GD).

**Tableau 8 : Les étapes de la réalisation du test VP et RM :**

<p><b>Ensemencement</b></p>	<p>L'ensemencement se fait à partir des boîtes positives de confirmation « GD » sur un milieu glucosé Clark et Lubs à l'aide d'une anse de platine.</p> <p>On incube 24h à 37°C.</p> <p>Test VP :</p> <p>On ajoute 3-4 gouttes d'alpha naphтол et le même volume de soude concentrée(ou de potasse).</p> <p>On incline les tubes pour permettre une bonne oxygénation. Puis, on attend quelque minute à 1 heure.</p> <p>Test RM :</p> <p>On ajoute 2-3 gouttes de rouge de méthyle. La lecture est immédiate.</p>
<p><b>Résultats</b></p>	<p>Test VP :</p> <p>VP<sup>+</sup> : couleur rouge. VP<sup>-</sup> : couleur jaune.</p> <p>Test RM :</p> <p>RM<sup>+</sup> : couleur rouge. RM<sup>-</sup> : couleur jaune.</p>



**Figure 40: Confirmation biochimique du test RM.**



**Figure 41: Confirmation biochimique du test VP.**

### -Test de l'oxydase (voir l'annexe)

Le but recherché par cet examen est de différencier les bacilles Gram - .

Sa présence chez une bactérie ne peut être mise en évidence que si la cellule possède ainsi le cytochrome c. ils auront la propriété d'oxyder le diméthyle ou le tétraméthyl paraphénylène diamine en une semi -quinone colorée en rouge.

Réactif réduit (incolore).

Réactif oxydé (rouge).

#### ► Technique :

- Sur une lame propre, on a déposé un disque préalablement imprégné d'une goutte d'eau distillée stérile.

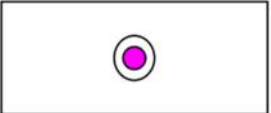

- on a Prélevé par la suite à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée une colonie à étudier et on l'a déposé sur le disque.

#### ► Lecture :

- La bactérie oxydase + : coloration rose au point du dépôt, qui vire au brun puis au noire : Bactéries aérobies strictes ou aérobies facultatives.

- Les bactéries oxydase - : Ne change pas la couleur du réactif : Bactéries aérobies facultatives ou anaérobies.

**Tableau 9: Lecture du test de l'oxydase**

Tâche rose violette	Pas de tâche rose violette
La bactérie possède l'activité oxydase, elle est dite :	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite :
Oxydase + 	Oxydase - 

## I-Résultats

### 1-Etude microscopique

A partir des frottis réalisés et l'observation au microscope de toutes les lames des différents prélèvements analysés de l'eau de mine ont montré la présence de bâtonnet et des cellules spiralées (incurvées vue la petite taille des bactéries). Pour l'aspect des parois, elles étaient toutes coloré en rose c'est à dire des Gram négatives (Figure 42). Néanmoins, quelques rares cellules ont apparues colorées en violet c'est-à-dire Gram positive.

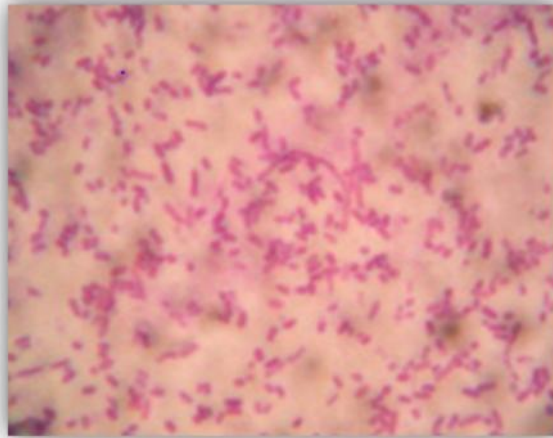


Figure 42: Observation microscopique (Gx100)

Concernant les souches pures (bactéries sous forme de colonies) observées après coloration de Gram, on a observé des cellules bacillaires colorées en rose donc bactéries Gram négative.

### 2-Résultats des isolements sur gélose nutritive (GN), gélose désoxycholoate (GD) et la gélose de Chapman

Les résultats ont montré une pousse bactérienne sur tous les milieux utilisés.

Sauf au milieu de gélose Chapman (figure 43)

On observé une petite poussée sur 2 boîte (eau de mine  $2 \cdot 10^{-5}$ , et les boues  $10^{-4}$ ), on peut dire que la première peut être dû à une contamination lors de manipulation. En ce qui concerne les boues vue à sa nature elle peut contenir des staphylocoques.



Figure 43: resultats sur la gélose Chapman



## Les résultats sur la gélose désoxycholoate (GD)

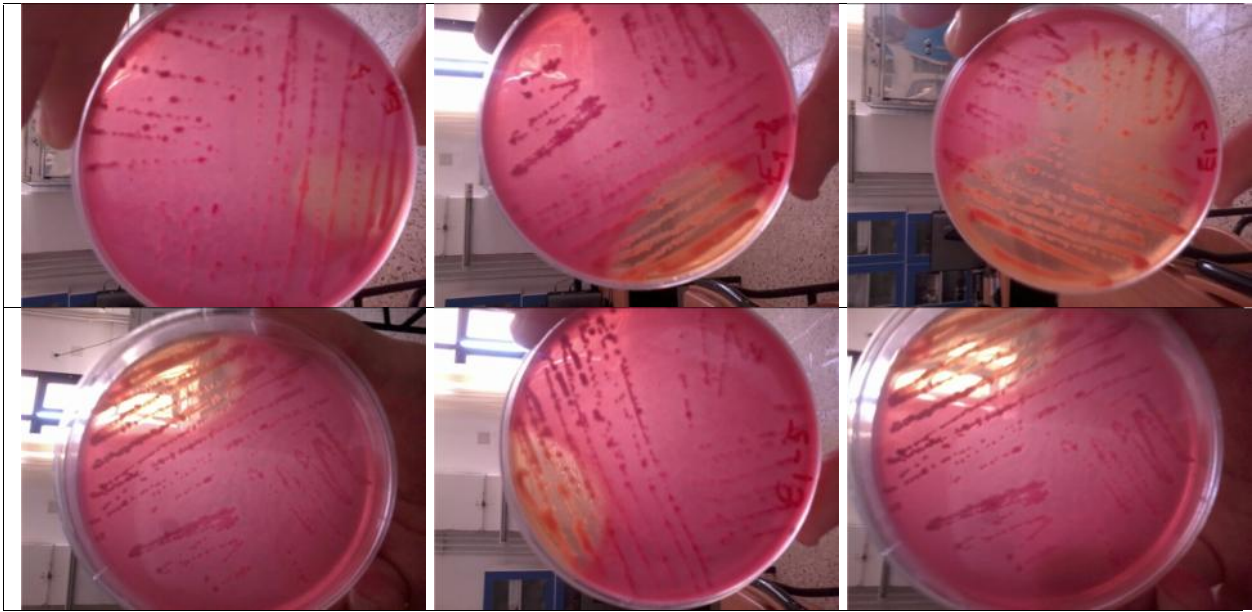


Figure 44: GD pour l'eau de mine 1

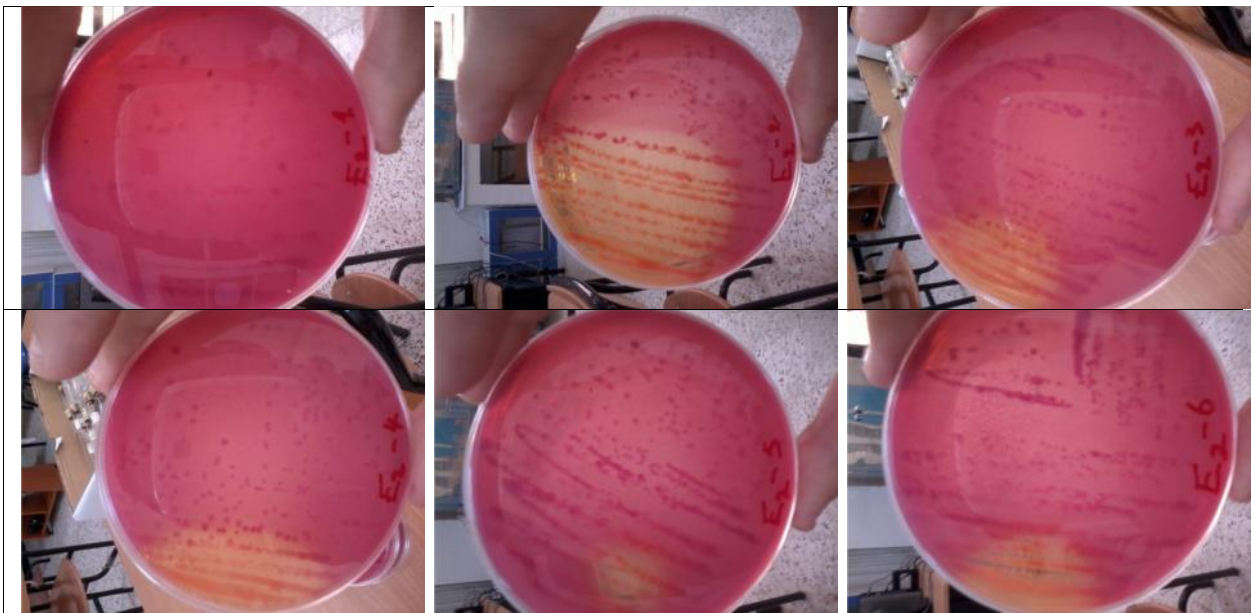


Figure 45: GD pour l'eau de mine



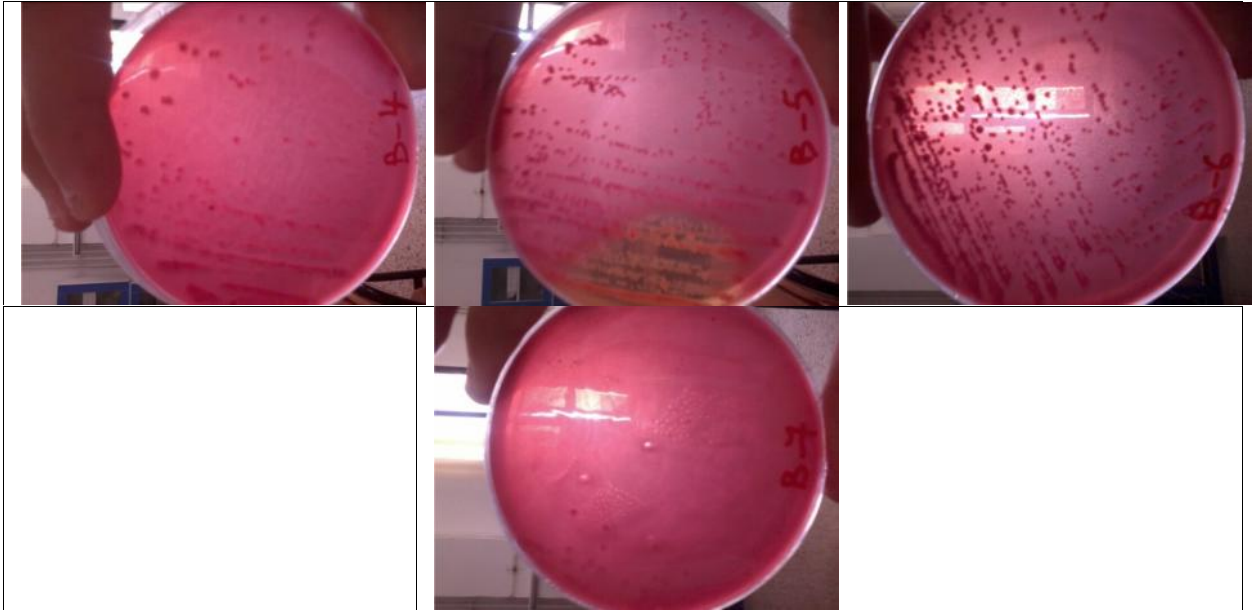


Figure 46: GD pour les boues activées

**Les résultats sur gélose nutritive (GN) :**

Pour l'eau de mine 1 :

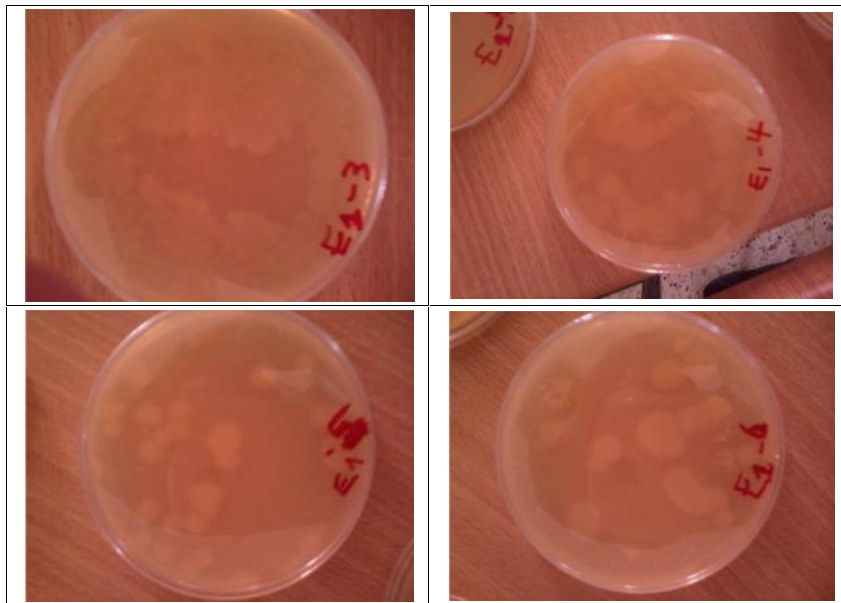


Figure 47: gélose nutritive (GN) pour l'eau de mine 1

Pour l'eau de mine 2 :





Figure 48: gélose nutritive (GN) pour l'eau de mine 2

Pour les boues activées :

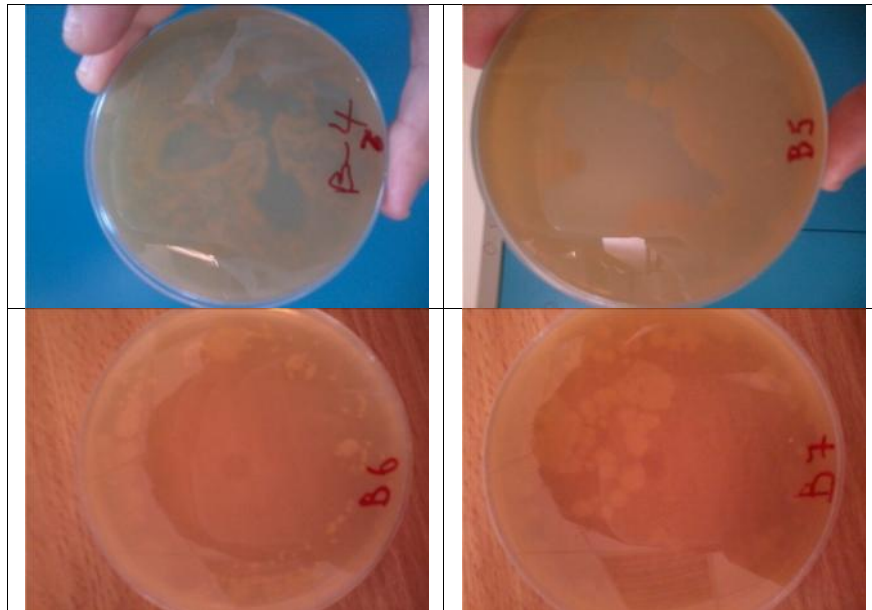


Figure 49: gélose nutritive (GN) pour les boues activées

### 3-Résultats sur les tubes à bouillon nutritif(BN) :

Il y a des troubles dans tous les tubes donc ces souches peuvent vivre en anaérobiose.



Figure 50: Résultats après 48h d'incubation à 45°C en anaérobiose

Commentaires :

On observe qu'il y a des colonies sur presque tous les boîtes de la gélose désoxycholoate (GD), et il y a un changement de couleur vers l'orange, qui nous renseigne sur la présence des bactéries qui ont acidifié ce milieu. Donc, si ces bactéries peuvent causer le drainage minier acide.

D'après ces résultats, les meilleures dilutions pour l'identification sont à partir de la seconde  $10^{-2}$  pour l'eau de mine et  $10^{-3}$  pour les boues activées.

Ces bactéries peuvent vivre en anaérobie.

#### 4- Résultats du dénombrement bactérien

Après interprétation sur table de MAC GRADY des chiffres caractéristiques obtenus, la méthode du nombre le plus probable (NPP) a révélé les chiffres suivants :



Figure 51: Troubles et formation de gaz

En déduire la concentration en micro-organismes par mL de produit pur N.

NPP= nombre le plus probable obtenu par lecture de la table de Mac Grady en UFT/ml (unité formant trouble /ML)

V inoculum= 1 mL

Fd= facteur de la dilution correspondant au chiffre des centaines du nombre caractéristique  $10^{-2}$

$$N = \text{NPP} / V \text{ inoculum} * Fd \quad \text{Équation 7}$$

Tableau 10: Résultats du dénombrement bactérien

Source		Eau de mine 1			Eau de mine 2			Boues activés		
Dilution	N° de dilution	1	2	3	1	2	3	1	2	3
$10^{-4}$	Résultats	0	1	0	0	0	1			
$10^{-5}$		0	0	0	1	1	1	1	1	1
$10^{-6}$		0	0	0	1	0	0	1	0	0
$10^{-7}$									0	0
Résultats finale		100			131			310		
NPP (UFT/ml)		0.4			1.61			4.5		
N(microorganisme/ml)		<b>36</b>			<b>161</b>			<b>450</b>		

On remarque qu'il y a des troubles, des changements de couleur dans certains tubes et la production de gaz surtout pour les boues activées

## 5-Résultats Test de VP et RM :

Tableau 11: Test VP et RM

Echantillons	Dilution	RM			VP		
		1	2	3	1	2	3
Eau de mine1	10 <sup>3</sup>	+	+	+	-	-	-
Eau de mine2	10 <sup>4</sup>	+	+	+	-	-	-
Boues activées	10 <sup>5</sup>	+	+	+	-	-	-

**RM<sup>+</sup>** montre que nos bactéries vivent dans les milieux acides

**VP<sup>+</sup>** affirme les résultats du **RM<sup>+</sup>** donc ces bactéries supportent les pH acides donc ils peuvent être des Thiobacillus qui causent le drainage minier acide.

## 6-Résultats de test d'oxydase :

Tableau 12: Test d'oxydase

Echantillons	Couleur observé	Resultats
Eau de mine1 10 <sup>-4</sup>	Rose, Violet	Oxydase positif (+)
Eau de mine2 10 <sup>-4</sup>	Rose, Violet	Oxydase positif (+)
Boues activées 10 <sup>-5</sup>	Rose, Violet	Oxydase positif (+)

Ces résultats montrent que nos souches bactériennes ne sont pas des entérobactéries, ils ne sont pas des Escherichia coli ni des Staphylococcus. Ce sont des bactéries aérobies strictes ou aérobies facultatives telque les Acidithiobacillus

## II-Discussion des résultats de l'analyse bactériologique:

### 1-Discussions Aspect méthodologique

La prise d'échantillonnage, 2 prélèvements sans répétition dans le temps ni dans l'espace, pourrait paraître insuffisant et donc la possibilité de sous-estimer la présence de certaine flore. La recherche par plusieurs types de milieu (milieu liquide et solide) nous a donc semblé justifiée.

Les bactéries rencontrées par numération directe étaient en général présentes en faible quantité par rapport celles retrouvées dans les boues. L'utilisation de milieu riche en matière minérale a été signalée par certains auteurs (Arias et al. 2003 ; Battaglia et al. 2006) pour la recherche de ce genre de bactéries. Ce taux faible peut être en relation avec le choix des milieux. Néanmoins, avec nos milieux à base de matière organique on a pu isoler les groupes les plus importants quant à la microflore de cette eau de mine.

## 2-Analyse bactériologique

Suite aux résultats de l'étude microscopique qui reste dans notre protocole la méthode d'orientation la plus fiable, vue aussi la morphologie des cellules bactériennes et le type de la paroi, nous pouvons déduire que ces bacilles droit et incurvés (spiralés) à paroi Gram négative appartiennent aux deux genres *Thiobacillus* et *Leptospirillum*. Ceci est comparable à de nombreux travaux qui ont signalés la présence de ces deux groupes surtout pour leur fréquence dans ce type d'eau de mine. En effet, Plusieurs études ont montré que les bactéries majoritairement présentes dans les bioréacteurs appartiennent aux espèces *Leptospirillum ferrooxidans*, *Leptospirillum ferriphilum*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus caldus* et au genre *Sulfobacillus* (Pizzaro et al., 1996 ; De Wulf-Durand et al., 1997 ; Rawlings et al., 1999a).

## **Conclusion Générale :**

Le présent travail a porté sur la biolixiviation de l'argent à partir de la galène et de l'application de la biolixiviation comme technique alternative au traitement des minerais sulfurés.

On peut utiliser les microorganismes qui engendrent le (DMA) pour la biolixiviation.

Les microorganismes de l'eau de drainage minier acide donnent les meilleurs résultats pour la biolixiviation par rapport aux boues activées.

On peut dire que la biolixiviation par procédés dynamique en bioréacteurs représente un espoir et une future prometteuse pour le secteur minier Algérien surtout en ce qui concerne les métaux stratégiques. Et peut répondre aux exigences environnement et technico-économiques pour le pays si on commence à exploiter d'aujourd'hui.

Cette étude initiale révèle la présence d'une microflore bacillaire et spiralée à Gram négatif. Cette morphologie et l'aspect pariétale des cellules observés au microscope optique nous a permis de conclure que les groupes fréquents colonisant l'eau sont le Thiobacillus et Leptospirillum, flores cités et étudiés par plusieurs travaux de recherches dans les eaux des mines.

Néanmoins, dans nos conditions expérimentales ces résultats préliminaires restent insuffisants et très précaires.

En outre, ils mériteraient d'être approfondis ultérieurement pour connaître l'identification et la caractérisation de la microflore des eaux de mines. En effet, plusieurs scientifiques anciens et récents décrivent le lien existant entre cette microflore et les phénomènes d'extraction de plusieurs minerais à savoir l'or, uranium ainsi que l'argent.

A notre connaissance, la composition de la microflore des minerais n'a pas été explorée en Algérie. Afin de bien évaluer cette flore il serait intéressant d'utiliser les avancées en biologie moléculaire qui ont permis le développement de méthodes quantitatives pour quantifier les populations bactériennes et les caractériser.

## Bibliographie :

1. **ATLAS RM AND BARTHA R. 1997.** Microbial Ecology: Fundamentals and Applications: Benjamin Cummings, 533 p.  
**BLAGODATSKAYA EV, BLAGODATSKY SA, ANDERSON TH AND KUZYAKOV Y. 2007.** Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. *Appl Soil Ecol* 37: 95-105.
2. **Rossi, G. (1990).** Biohydrometallurgy, Hamburg: McGraw-Hill.
3. **Arias, Y. M., & Tebo, B. M. (2003).** Cr(VI) reduction by sulphidogenic and non sulphidogenic microbial consortia. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 1847–1853.
4. **Battaglia-Brunet, F., Touze, S., Michel, C., & Ignatiadis, I. (2006).** Treatment of a chromate-polluted groundwater in a 200-dm<sup>3</sup> pilot bio-reactor fed with hydrogen. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81, 1506–1513.
5. **BERTHELIN J., KOGBLEVI A. & DOMMERGUES Y, 1974.** Microbial weathering of a brown-fore st soil : influence of partial sterilization. *Soil Biol. Biochem.*, 6, 393-400.
6. **Biomining theory, microbes and industrial processes Biotechnology intelligence unit.** Auteur **Douglas E. Rawlings,** Éditeur Springer, 1997, Original provenant de l'Université du Michigan, 302 pages
7. **Bosecker, K. 1986)** Bacterial metal recovery and detoxification of industrial waste. In: *Biotechnology and Bioengineering Symposium* 16, New York, John Wiley & Sons.
8. **Brooks, A.P. and Brierley, G.J. (1997)** Geomorphic responses of lower Bega River to catchment disturbance, 1851–1926. *Geomorphology* 18, 291–304.
9. **Cahier des charges pour la réalisation d'essais de traitement (guide méthodologique « traitabilité des sols pollués », ADEME, 2009)** [www.selecdepol.fr](http://www.selecdepol.fr) / En savoir plus
10. **D.BarrieJohnson 2013,** Development and application of biotechnologies in the metal Mining industry, Springer-VerlagBerlinHeidelberg2013, *EnvironSciPollutRes*(2013)20:7768–7776 DOI10.1007/s11356-013-1482-7
11. **GONZALEZ-TORIL ET AL 2011,** Geomicrobiology of La Zarza-Perrunal Acid Mine Effluent (Iberian Pyritic Belt, Spain)
12. **Hansford GS and Miller DM 1993.** Biooxidation of a gold-bearing pyrite-arsenopyrite concentrate. *FEMS Microbiology Reviews*, 11:175–182, 1993



13. **Mandl M, Caspari R, Jauch A, Boker T, Raschke H, Sengteller M, Propping P, and Friedl W (1996).** Familial adenomatous polyposis: A submicroscopic deletion at the APC locus in a family with mentally normal patients. *Hum Genet* 97: 204–208.
14. **MARJA RIEKKOLA-VANHANEN 2010,** TALVIVAARA SOTKAMO MINE – BIOLEACHING OF A POLYMETALLIC NICKEL ORE IN SUBARCTIC CLIMATE, Talvivaara Mining Company Plc., Talvivaarantie 66, 88120 Tuhkakylä, Finland
15. **Rawlings, D.E., ed. (1997).** *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes.* Springer Verlag, Berlin, Germany. 302 p.
16. **Tuovinen et Kelly 1974 :** Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. III. Influence of uranium, other metal ions and 2,4-dinitrophenol on ferrous iron oxidation and carbon dioxide fixation by cell suspensions. (1974)

## Annexes :

### 1. Méthode physique : dosage par étalonnage :

#### Méthode par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme (SAA)

La spectrométrie par absorption permet de doser une soixantaine d'éléments chimiques à l'état de traces (quelques mg/litre). L'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental, et on utilise à cet effet en général des solutions sauf dans le cas des hydrures. Une préparation est donc souvent nécessaire: dissolution d'un alliage par exemple.

La méthode est :

- quantitative
- relative : il faut donc faire une courbe d'étalonnage

Cette méthode présente de nombreux avantages :

- ✓ Elle est très sélective, il n'y pas d'interférences spectrales ou alors elles sont connues
- ✓ la technique est simple si on sait préparer les solutions initiales.

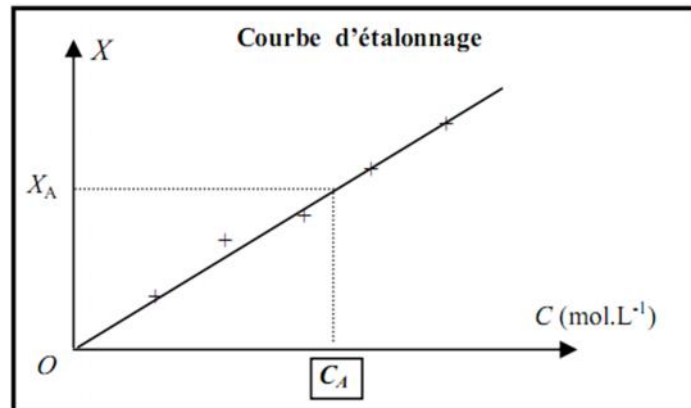


Figure 52: une courbe d'étalonnage

Cependant, on peut noter un certain nombre de limites :

- ✓ pour des raisons technologiques et non de principes, certains éléments, comme les gaz rares, les halogènes... ne peuvent être analysés par spectrométrie, leur énergie d'absorption n'étant pas comprise entre 180 et 1000 nm).
- ✓ les concentrations doivent être à l'échelle de traces afin de rester dans le domaine de linéarité de la loi de Beer-Lambert, car sa dynamique est limitée.
- ✓ l'aspect non qualitatif de la technique impose la connaissance des éléments à doser afin de choisir la source adaptée.
- ✓ les réglages préliminaires se basent sur des paramètres qui ne sont pas toujours indépendants.

Pour l'argent la mesure de l'absorbance au spectrophotomètre d'absorption atomique à la longueur d'onde de 328,1 nm dans une flamme air-acétylène.

Il faut d'abord établir de la courbe d'étalonnage en utilisant des solutions étalons puis on effectue les mesures au spectrophotomètre d'absorption atomique et on trace la courbe d'étalonnage avec les valeurs d'absorbance trouvées.

## 2. Annexe 2 : La méthode de Fajans

### L'utilisation des propriétés adsorbantes des précipités,

Principe :

La réaction de dosage est toujours la même que celle de dosage de Mohr. Indicateur de fin de réaction : fluorescéine

Cette détection est basée sur les propriétés adsorbantes du précipité AgX.

En présence d'un excès d'ions  $\text{Cl}^-$ , le chlorure d'argent adsorbe les ions  $\text{Cl}^-$ , les grains de précipité sont alors chargés négativement et tendent à attirer les ions chargés positivement se trouvant dans le milieu,  $\text{Na}^+$  par exemple. (fig.5.a). En présence d'un excès d'ions  $\text{Ag}^+$ , le chlorure d'argent adsorbe les ions  $\text{Ag}^+$ , les grains de précipité sont alors chargés positivement et tendent à attirer les ions chargés négativement se trouvant dans le milieu,  $\text{NO}_3^-$  par exemple.

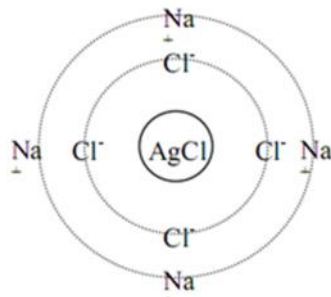


Fig 5.a

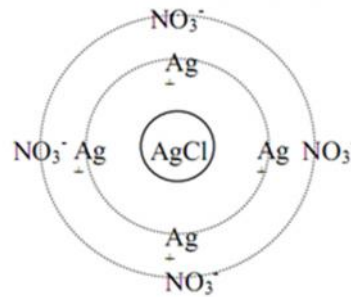


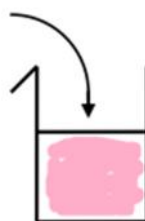
Fig 5.b

### Figure 53: les propriétés adsorbantes du précipité AgX

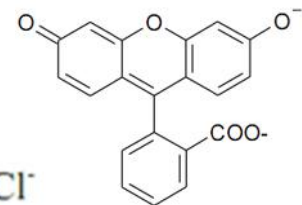
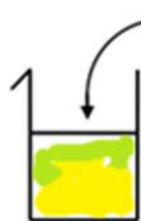
Les ions de la couche secondaire peuvent être remplacés par d'autres ions ou molécules polaires. Ces phénomènes d'adsorption s'accompagnent souvent d'un changement de couleur et parfois de fluorescence. Dans le cas de  $\text{Cl}^-$ , on utilise la fluorescéine ou la dichlorofluorescéine (0,1 g/L d'éthanol à 70 % en volume).

Condition : pH env. 7 milieu neutre ou légèrement basique

AgCl + excès  $\text{Ag}^+$   
+ fluorescéine  
rose



AgCl + excès  $\text{Cl}^-$   
+ fluorescéine  
jaune - vert



Fluorescéine

Figure 54: méthode de Fajans

La **fluorescéine** : ( $C_{20}H_{10}Na_2O_5$  ou 3H-xanthene-3-one) est une substance chimique complexe composée de deux molécules de phénols liées à un cycle pyrane lui-même relié à un acide benzoïque. Cette substance dérivée du xanthène, acide, de couleur rougeâtre vue en transparence, est verte-fluo vue par réflexion de la lumière du jour, émet une lumière réfléchie de fluorescence lorsqu'elle est excitée sous les ultraviolets.

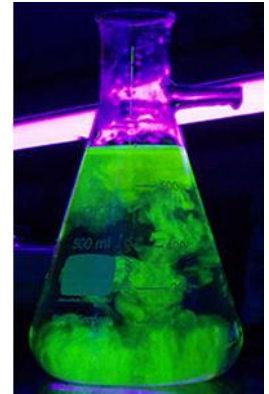


Figure 55 : Fluorescence de la fluorescéine mise en évidence avec une lampe ultra-violette.

### 3. AFNOR., (1987). Association Française de Normalisation.

### 4. BOURGEOIS. C. M et LEVEAU.J.Y., (1991).

Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition. Technique et documentation Lavoisier. Le contrôle microbiologique. Tome 3

### 5. LARPENT. J.P., (2000) Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Edition Technique et Documentation.

### 6. Préparation des échantillons sous forme solide pour l'étalonnage par la SAA

On pèse 5g de du minerais, on les met dans des Erlenmayer de 250ml puis on l'attaque avec de l'eau régale pour nos échantillons nous avons pesé 5g pour chaque produit

N°	Produit	Masse(g)
E1	Galène d'El Abed concassé	5.0007
E2	Produit semi fini de cellule de folottation	5.0007
E3	Produit fini de cellule de folottation	5.0007

L'eau régale : 1 volume de  $HNO_3$  (3

0ml) + 3 volumes de HCl (90ml)

Le procédé :

Etape1 : Attaque avec l'eau régale du solide jusqu'à sec pour former des nitrates de métaux dissous

Etape 2 : on ajout 10ml de HCl et on evapore à sec, puis on attaque encore une fois avec 20ml de HCl et on chauffe pour 10 minutes

On filltre dans des fioles de 100ml et on juge à 100ml. et on étalonne avec la SAA.

## Table des matières

<b>Introduction générale :</b> .....	1
<b>Chapitre 1 : Bibliographie</b> .....	2
<b>Introduction :</b> .....	2
Terminologie : .....	3
<b>LES DRAINAGES MINIERS ACIDES</b> .....	4
Définition et origine .....	4
Mécanismes de formations .....	5
<b>Mécanismes physiques : importance des activités humaines</b> .....	5
<b>Mécanismes chimiques : importance de l'environnement naturel</b> .....	6
<b>Mécanismes biologiques: importance des <i>microorganismes</i></b> .....	7
Facteurs influençant la formation du DMA .....	8
<b>Les facteurs primaires</b> .....	8
<b>Les facteurs secondaires</b> .....	8
<b>Mécanismes d'atténuation</b> .....	9
<b>Précipitation</b> .....	9
La production de sulfures métalliques .....	9
La co-précipitation .....	9
Séquestration .....	10
<b>La séquestration extracellulaire</b> .....	10
<b>La séquestration intracellulaire</b> .....	10
<b>LES FONDEMENTS DE LA DIVERSITÉ ET DE L'ÉCOLOGIE MICROBIENNE</b> .....	10
<b>Les microorganismes, source de diversité génétique</b> .....	11
<b>Les microorganismes, acteurs des processus environnementaux</b> .....	12
Le cycle du carbone .....	12
Le cycle de l'azote .....	13
Le cycle du soufre .....	14
<b>Les microorganismes et leurs rôles dans la transformation des éléments traces métalliques</b> .....	16

<b>Biolixiviation de minerais sulfurés :</b> .....	16
Principe des mécanismes d'action bactérienne :.....	16
Microorganismes associés.....	17
Bactéries oxydent les métaux.....	18
Bactéries productrices d'acide sulfurique .....	19
Bactéries hétérotrophes.....	20
<b>Procédés de la bilixiviation</b> .....	21
Les procédés statiques.....	21
<b>Biolixiviation en réacteur agité</b> .....	22
<b>Les bioréacteurs aux échelles de laboratoire, pilote, industriel :</b> .....	23
<b>Économie des procédés de biolixiviation des matières sulfurées</b> .....	23
<b>Chapitre 2 : Biolixiviation de l'argent :</b> .....	26
<b>PROCEDE DE Biolixiviation</b> .....	27
L'échantillonnage :.....	27
Réalisation de l'échantillonnage: .....	27
Objectifs :.....	29
<b>Essais de biolixiviation de l'argent</b> .....	31
<b>Principe :</b> .....	31
<b>Procédés de biolixiviation</b> .....	31
<b>Procédé statique</b> .....	31
<b>Cinétique de la biolixiviation d'argent</b> .....	33
<b>Interprétation : la biolixiviation d'argent augmente en fonction du temps</b> 34	
<b>Procédé dynamique</b> .....	34
<b>Résultats et interprétation</b> .....	34
L'estimation de la quantité d'argent dans chaque phase : .....	38
<b>Dans la phase vivante:</b> .....	38
<b>L'argent dans la phase solide :</b> .....	39
L'attaque par le HCl concentré : .....	40
<b>But :</b> .....	40
<b>Conclusion :</b> .....	42
<b>Chapitre 3 : Analyses microbiologiques sur les bactéries de l'eau de l'exhaure de la mine d'El Abed</b> .....	43

<b>Analyse microbiologique.....</b>	<b>43</b>
<b>I-Objectif .....</b>	<b>43</b>
<b>I-Lieu et période d'étude.....</b>	<b>43</b>
<b>II-Echantillonnage et prélèvement.....</b>	<b>43</b>
<b>III-Matériel de laboratoire .....</b>	<b>44</b>
<b>IV- Protocole d'analyses bactériologiques de l'eau de mines et des boues .....</b>	<b>45</b>
1-Etude microscopique.....	45
2-Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales .....	45
3-Recherche et dénombrement des flores dominantes.....	46
4- Identification microscopique et biochimique .....	47
<b>I-Résultats .....</b>	<b>50</b>
1-Etude microscopique.....	50
2-Résultats des isollements sur gélose nutritive (GN), gélose désoxycholoate (GD) et la gélose de Chapman .....	50
3-Résultats sur les tubes à bouillon nutritif(BN) : .....	53
4- Résultats du dénombrement bactérien.....	54
5-Résultats Test de VP et RM : .....	55
6-Résultats de test d'oxydase : .....	55
<b>II-Discussion des résultats de l'analyse bactériologique: .....</b>	<b>55</b>
1-Discussions Aspect méthodologique .....	55
2-Analyse bactériologique.....	56
<b>Conclusion Générale : .....</b>	<b>57</b>
Bibliographie : .....	58
Annexes : .....	60