

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار - عنابة

Faculté des sciences

Année 2001

Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER

Contribution à l'étude de l'adsorption du mercure
par *Aspergillus clavatus* (Biomasse industrielle)
en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux
Contaminés

Option

Pathologie des écosystèmes

Par

M^{me} BOUTABIA -TREA SALIHA

DIRECTEUR DE MEMOIRE : DJAMILA KIRANE MAITRE DE CONFERENCES UNIVERSITE
BADJI MOKHTAR-
ANNABA

DEVANT LE JURY

PRESIDENT : AMMAR SEMADI PROFESSEUR UNIVERSITE BADJI
MOKHTAR-ANNABA

EXAMINATEURS : MED REDA DJEBAR PROFESSEUR UNIVERSITE BADJI
MOKHTAR-ANNABA

TAREK MERADE CHARGE DE COURS UNIVERSITE BADJI
MOKHTAR-ANNABA



DEDICACE

**A MES PARENTS
LEURS SACRIFICES LEURS ENCOURAGEMENT ET LEUR
AFFECTION ONT ETE TOUTES MES MOTIVATIONS**

**A MON MARI
POUR SON AIDE ET SON SOUTIEN**

**A MON FILS OUSSAMA
QUI PAR SON SOURIR M'APPORTE FORCE ET JOIE**

A MON FRERE ET A MES SŒURS

A MON BEAU FRERE ET MA BELLE FAMILLE

A TOUS MES AMIS

JE DEDIE CE TRAVAIL.

SALIHA





REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements :

* A M^{elle} KIRANE D. , Maître de conférence , université de Annaba , pour ses orientations , ses nombreux conseils qui m'ont bien guidée dans l'élaboration de ce travail .

* A M^r SEMADI A. , Professeur au département de biologie université de Annaba qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.

*A M^r DJEBAR M.R. , Professeur au département de biologie université de Annaba pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner mon travail .

*A M^r MERADE T. , Chargé de cours département de BMC université de Annaba pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner mon travail .

Je remercie vivement aussi ,

Mon beau frère KHEIRELINE pour son aide si précieuse et sa patience .

Toute l'équipe de B.E.C informatique pour la réalisation de ce document (Mounia et Nadjib) .



RESUMES

المخلص

زيادة على أن الزئبق ذو حياة طويلة في المحيط، إلا أنه متواجد وبكثرة في المياه الطبيعية .

البعض من الفطريات الخيطية (*Aspergillus Clavatus*) أثبت قدرتها على إدمصاص كمية كبيرة من هذا العنصر. هذه الفطريات عبارة عن فضالة مزعجة للبيئة، ناتجة عن مخلفات للوحدات التحويلية للمواد الغذائية.

المياه القذرة لمصنع الحليب ومشتقاته "ORELAIT" تحتوي على عدد كبير من أصناف الفطريات والتي نستطيع استعمالها لهذا الغرض منها الصنف *Aspergillus Clavatus* المتواجد ضمن الفطريات الموجودة في هذه المياه القذرة .

أوساط التغذية : Czapeck و MBS تمكن النوع *Aspergillus Clavatus* من النمو بصفة جيدة. تراكيز الزئبق الموضوعة داخل الوسطين على الساعة الصفر تؤثر بصفة كبيرة على كمية الزئبق التي يقوم بإدمصاصها *Aspergillus Clavatus* في الوسط MBS ، *Aspergillus Clavatus* يدمص 90% من الزئبق وهذا من خلال تركيز أولي بـ $10 \mu\text{g/l}$ خلال 72 ساعة ومن تركيز أولي بـ $1.10^3 \mu\text{g/l}$ من الزئبق ثم إدمصاص 99,48% منه خلال 48 ساعة pH هذا الوسط يتراوح بين 4,26 و 6,23، التوصيلية الكهربائية تتراوح بين 7,83 و 11,63 $\mu\text{hos/cm}$ والوزن الجاف من 0,115 غ/ل إلى 0,204 غ/ل .

في الوسط *Aspergillus Clavatus* Czapeck يستطيع إدمصاص 99,99% من الزئبق بعد 48 سا وهذا من خلال تركيز أولي عالي (من 2.10^3 إلى $5.10^3 \mu\text{g/l}$) pH هذا الوسط يساوي 8 ، التوصيلية الكهربائية تكون بين 1,94 و 2,28 $\mu\text{hos/cm}$ وأخيرا الوزن الجاف بين 0,613 و 1,081 غ/ل.

استطعنا من خلال هذه التجارب إظهار قدرة *Aspergillus Clavatus* على إدمصاص 99,99% من الزئبق انطلاق من تركيز أولي مقدر بـ $5000 \mu\text{g/l}$ من الزئبق وهذا باستعمال 5.10^6 بوع/مل من صنف *Aspergillus Clavatus* .

وعلى هذا الأساس، نستطيع إنشاء تقنية لتصفية المياه الملوثة بالمعادن الثقيلة الناجمة عن المصانع والمناجم .

ABSTRACT

Mercury besides its remance in the environment is often in the natural waters.

However some filamentous fungi (*Aspergillus clavatus*) were revealed capable of adsorbed a big part of been compoed .These filamentous fungi constitute garbage cluttering for the environment following their rejects from units of agro –food tranformation.

The waste waters of Orelait factory ,contain a big number of species fungous that can be to use in this goal , *Aspergillus clavatus* makes part of the mycoflore of these dismissals.

Middels of culture czapek and MBS offers a good growth of speice fungous *Aspergillus clavatus*.

Concentrations of mercury bet in the two surroundings of culture to presents a big influence on the rate of mercury adsorption by *Aspegillus clavatus*.

In MBS middle *Aspergillus clavatus* adsorbed 90% of mercury from an initial concentration of 10 μ g/ l of Hg about of 48 hours of contact .The pH of this middle varies between 4 ,26 and 6,23, the electric conductivity varies between 7,83 and 11,63 μ mhos /cm and a dry weight of 0,115 to 0,204 g/l .

In middle czapapek ,the *Aspergillus calvatus* adsorbed more of mercury with a rate of 99,99% at the end of 24 hours of contact with the elevated initial concentration of Hg . The pH of the middle is 8 , electric conductivity of values between 1.94 and 2.28 μ mhos /cm and adry weight of 0,613 to 1,081 g/l .

We led to the adsorption of 99,99% of mercury from a concentration of 5000 μ g/l of mercury with an inoculum of $5 \cdot 10^6$ spores/ ml of *Aspergillus clavatus* .

On this principle ,a process of aqueous industrial sewage purification by this boisorbant and reasonably foreseeable.

Words clés: Mercury ,biologic dépollution ,adsorption ,*Aspergillus clavatus* ,waste water, tndustrys.

Résumé

Le mercure de plus sa rémanence dans l'environnement se trouve souvent dans les eaux naturelles.

Or certains champignons filamenteux (*Aspergillus clavatus*) se sont révélés capables d'adsorber une grande partie de ce composé. Ces champignons constituent des déchets encombrants pour l'environnement suite à leur rejet à partir des unités de transformation agro-alimentaire.

Les eaux usées d'orelait, renferme un grand nombre d'espèces fongiques qui peuvent être utilisées dans ce but. Notre choix s'est porté sur *Aspergillus clavatus* laquelle fait partie de la mycoflore de ces rejets.

Les milieux de culture Czapek et MBS offrent une bonne croissance de l'espèce fongique *Aspergillus clavatus*.

Les concentrations de mercure mises dans les deux milieux de culture à ce jour ont une grande influence sur le taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus*.

En milieu MBS, l'*Aspergillus clavatus* adsorbe 90% de mercure à partir d'une concentration initiale de 10 µg/l de Hg au bout de 48 heures de contact. Le pH de ce milieu varie entre 4,26 et 6,23, la conductivité électrique varie entre 7,83 et 11,63 µhos/cm et un poids sec de 0,115 à 0,204 g/l.

En milieu Czapek, l'*Aspergillus clavatus* adsorbe plus de mercure avec un taux de 99,99 % au bout de 24 heures de contact avec des concentrations initiales élevées de Hg. Le pH du milieu est de 8, la conductivité électrique présente des valeurs entre 1,94 et 2,28 µhos/cm et un poids sec de 0,613 à 1,081 g/l.

Nous avons abouti à l'adsorption de 99,99 % de mercure à partir d'une concentration de 5000 µg/l de mercure avec un inoculum de $5 \cdot 10^6$ spores/ml d'*Aspergillus clavatus*.

Sur ce principe, un procédé d'épuration d'effluents industriels aqueux par ce biosorbant est raisonnablement envisageable.

Mots clés : Mercure, dépollution biologique, adsorption, *Aspergillus clavatus*, eaux résiduaires, industries.

LISTE DES TABLEAUX

Tab	Titre	Page
01	Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement	05
02	Classification des métaux selon leur toxicité	07
03	Normes algériennes pour la qualité des rejets industriels (valeurs limitent maximales).	08
04	Teneurs admissibles des principaux polluants des eaux de surfaces.	08
05	Les propriétés physiques du mercure	11
06	Teneurs naturelles en mercure des milieux naturels	13
07	Teneurs en mercure dans l'atmosphère	18
08	Teneurs en mercure dans les eaux	19
09	Métabolisme et toxico-cinétique des différents composés du mercure	23
10	Quelques exemples de micro-organismes accumulateurs de métaux lourds et radionucléides	35
11	La composition chimique de la paroi cellulaire de champignon sélectionné en % par poids sec de la paroi	40
12	Confrontation des procédés de biosorption et accumulation active	42
13	Principaux caractères d'identification des moisissures	47
14	Paramètres physico-chimiques des rejets de l'ORELAIT	57
15	Variation du nombre des moisissures en fonction de la température.	58
16	Liste des souches identifiées dans les rejets de l'ORELAIT	59
17	Répartition de la mycfllore isolée en genre .	60

LISTE DES FIGURES

Fig	Titre	Page
01	Cycle naturel du mercure dans l'environnement	15
02	Modèle de transport et d'accumulation cérébrale du méthyl-mercure	24
03	Présentation des mécanismes d'accumulation des métaux par les micro-organismes	33
04	Représentation schématique des principaux polysaccharides responsables de la biosorption des métaux par les parois fongiques	36
05	Description des étapes de préparation de la suspension de spores	50
06	Schéma de l'appareil MAS -50	55
07	Description de l'aspect morphologique d' <i>Aspergillus clavatus</i>	61
08	Variation du pH des milieux en fonction du temps d'incubation	63
09	Variation du pH des milieux en présence de 10 µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	64
10	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	64
11	Variation du pH des milieux en présence de 5. 10 ² µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	65
12	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	65
13	Variation du pH des milieux en présence de 1. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	66
14	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	66
15	Variation du pH des milieux en présence de 2. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	68
16	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	68
17	Variation du pH des milieux en présence de 3. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	69

Tab	Titre	Page
18	Variation du taux d'adsorption du mercure par <i>Aspergillus clavatus</i> . après 24 h d'incubation .	73
19	Conversion de la conductivité électrique en salinité .	74
20	Variation du taux d'adsorption du mercure par <i>Aspergillus clavatus</i> . après 48 h d'incubation .	76
21	Variation du taux d'adsorption du mercure par <i>Aspergillus clavatus</i> . après 72 h d'incubation .	77
22	Variation du taux d'adsorption du mercure par <i>Aspergillus clavatus</i> . après 96 h d'incubation .	79
23	Croissance d' <i>Aspergillus clavatus</i> sur milieu czapek en fonction du temps de contact et des concentrations initiales du mercure .	81
24	Croissance d' <i>Aspergillus clavatus</i> sur milieu MBS en fonction du temps de contact et des concentrations initiales du mercure.	82

LISTE DES FIGURES

Fig	Titre	Page
01	Cycle naturel du mercure dans l'environnement	15
02	Modèle de transport et d'accumulation cérébrale du méthyl-mercure	24
03	Présentation des mécanismes d'accumulation des métaux par les micro-organismes	33
04	Représentation schématique des principaux polysaccharides responsables de la biosorption des métaux par les parois fongiques	36
05	Description des étapes de préparation de la suspension de spores	50
06	Schéma de l'appareil MAS -50	55
07	Description de l'aspect morphologique d' <i>Aspergillus clavatus</i>	61
08	Variation du pH des milieux en fonction du temps d'incubation	63
09	Variation du pH des milieux en présence de 10 µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	64
10	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	64
11	Variation du pH des milieux en présence de 5. 10 ² µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	65
12	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	65
13	Variation du pH des milieux en présence de 1. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	66
14	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	66
15	Variation du pH des milieux en présence de 2. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	68
16	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	68
17	Variation du pH des milieux en présence de 3. 10 ³ µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	69

Fig	Titre	Page
18	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	69
19	Variation du pH des milieux en présence de $4 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	70
20	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	70
21	Variation du pH des milieux en présence de $5 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i>	71
22	Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d' <i>Aspergillus clavatus</i> .	71

LISTE DES SYMBOLES

A. clavatus	: <i>Aspergillus clavatus</i>
Ag	: Argent
Cd	: Cadmium
Ch	: Champignon
Cu	: Cuivre
cz	: Czapek
Fe	: Fer
g	: Gramme
h	: Heure
Hg	: Mercure
Kg	: Kilogramme
l	: Litre
MBS	: Milieu base salin
ml	: Mililitre
Ni	: Nickel
Pb	: Plomb
Zn	: Zinc
µg	: Micro-gramme
%	: Pour-cent

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
--------------	---

Première partie : la pollution par le mercure et la biosorption

Chapitre 1 : la pollution des eaux par les métaux lourds

1- Définition de la pollution	4
2- Sources de la pollution par les métaux	4
2-1- les sources naturelles	4
2-2- les sources anthropogènes	4
3- Répartition, itinéraire et devenir des métaux lourds dans l'écosystème aquatique	5
4- Concentration des métaux lourds dans les différents compartiments de l'environnement	6
4-1- Concentration des métaux lourds dans l'eau	6
4-2 -Concentration des métaux lourds dans les sédiments	6
4-3- Concentration des métaux lourds dans la faune aquatique	6
4-4- Concentration des métaux lourds dans la flore aquatique	6
5- Aspect toxicologique et normes	7
6-Toxicité des métaux lourds	9

Chapitre 2 : la pollution des eaux par le mercure.

1- Le mercure	11
1-1- Etat naturel	11
1-2- Propriétés physico-chimique	11
1-2-1- Propriétés physiques	11
1-2-2- Propriétés chimiques	12
2- Sources de contamination de la biosphère par le mercure	12
3- Cycle bio-géochimique du mercure	13
3-1-Transformation	16
3-2- Adsorption et accumulation	17
4- Concentration du mercure dans les différents milieux	17
4-1- Concentration du mercure dans le milieu biotique	17
4-2- Concentration du mercure dans le milieu abiotique (air , eaux, et sol)	18
4-2-1- Concentration du mercure dans l'air	18
4-2-2- Concentration du mercure dans l'eau	19
4-2-3- Concentration du mercure dans le sol	20
5-Toxicologie du mercure	20
5-1- Modes de pénétration dans l'organisme	20
5-2- Influences des facteurs écologiques sur la manifestation de la toxicité	21
5-2-1- Les facteurs intrinsèques biologique	21
5-2-2- Les facteurs extrinsèques du milieu	21
6- Etude métabolique et mécanisme d'action mercure	21
6-1- Effets génotoxiques du mercure et des organo-mercuriels	21
6-1-1- Effets mutagènes et clastogène	21
6-1-2- Effets cancérigène	22
6-2- Effets toxiques majeurs du mercure et du méthylmercure chez l'animal et l'homme	22

7- Procédés de lutte contre la pollution mercurielle	24
7-1- Procédés physico-chimiques	24
7-1-1- L'ultrafiltration	24
7-1-2- Echange d'ions	24
7-1-3- L'adsorption	25
7-2- Les procédés biologiques	25
7-2-1- Les algues microscopiques	26
7-2-2- Les bactéries	26
7-2-3- Les champignons	27

Chapitre 3 : La pollution organique et procédés de traitements

1- Origine et conséquence de la pollution organique	29
1-1- Rejets urbains	29
1-2- Rejets industriels	29
2- Lutte contre la pollution organique	30
2-1- Epuración biologique	30
2-1-1- Principe	30
2-1-2- Technique	30
3- Valorisation des rejets industriels	31

Chapitre 4 : La biosorption et les champignons filamenteux

1- Interaction entre les micro-organismes et les métaux lourds	32
1-1- Interaction dépendante du métabolisme	32
1-1-1- Accumulation intracellulaire, compartimentation ou excrétion	32
1-1-2- Précipitation et complexation extra-cellulaire	34
1-2- Interaction indépendante du métabolisme	34
2- les mécanismes de biosorption sur les champignons filamenteux	36
2-1- La biosorption	36
2-2- Adsorption sur des biomasses microbiennes	37
2-3- Les moisissures	38
2-4 - La paroi mycélienne	39
3- Intérêt biotechnologique	41

Deuxième partie : Matériels et méthodes

Chapitre 1 : Matériel biologique

1- Description du site de prélèvement	43
1-1- Laiterie de l'Edough (Orelait- Annaba)	43
1-1-1- Localisation	43
1-1-2- Activités	43
1-1-3- Consommation en eau	43
2- Evaluation qualitative des rejets	43
2-1- Microflore isolée à partir des rejets d'Orelait	44
2-1-1- Prélèvement des échantillons	44
2-1-2- Préparation des échantillons	44
2-1-3- Technique d'isolement et comptage de la mycoflore total	44
2-1-4- Technique d'identification	45

2-1-5- Purification des souches	46
2-1-6- Identification des souches	46
2-1-7- Conservation des souches	47

Chapitre 2 : La biosorption du mercure

1- Préparation des milieux de culture liquide	48
1-1- Milieu Czapek	48
1-2- Milieu M . B.S	48
2- Préparation de la suspension de spore	49
2-1- Séparation des spores du mycelium	49
2-2- Etalonnage et conditionnement de la suspension de spores	49
3- Etude de la croissance d' <i>Aspergillus clavatus</i> et de sa biosorption en présence de différentes concentrations de mercure	49
3-1- Protocole expérimental	49

Chapitre 3 : Méthodes de dosage

1- Mesure du pH	52
2- Mesure de la conductivité	52
3- Détermination du poids sec (biomasse)	52
4- Détermination de la viabilité du champignon	52
5- Dosage de l'oxygène dissous	52
6- Détermination des matières en suspension	53
7- Dosage du mercure	53
7-1-Technique de dosage	53
7-2- Minéralisation de l'échantillon	53
7-3- Principe de dosage du mercure	54
7-4- Description de l'appareil (MAS 50)	54
7-5- Etalonnage de l'appareil (MAS 50)	54
7-6- Dosage du mercure dans l'échantillon	56

Troisième partie : résultats et discussions

Chapitre 1 : Moisissures isolées et identifiées à partir des rejets de l'Orelait

1- Analyses physico-chimique des eaux du rejet de l'Orelait	57
2- Nombre de souches fongiques isolées à différentes températures	57
3- Moisissures isolées identifiées	58
3-1- <i>Aspergillus clavatus</i>	60

Chapitre 2 : Etude de la biosorption du mercure par *Aspergillus clavatus*

1-La biosorption du mercure à pH libre	62
2-Influence de la conductivité électrique, la salinité et le poids sec sur l'adsorption du mercure au cours du temps.	72
3-Teste de viabilité.	80
Conclusion	83
References bibliographiques	85

INTRODUCTION

Introduction

La croissance de la production industrielle est largement responsable de l'augmentation de la pollution de l'eau.

Les problèmes inhérents au développement des métaux lourds dans l'environnement ont été longuement étudiés.

la plupart des métaux ont en commun un certain nombre de caractéristiques qui les rendent dangereux pour les systèmes vivants :

- les métaux lourds sont non biodégradables même si une certaine auto-épuration naturelle biotique ou abiotique existe,
- ils sont toxiques à de très faibles concentrations ,
- ils ont tendance à s'accumuler dans les systèmes vivants et à se concentrer au cours des transferts de matières dans les chaînes trophiques.

Les eaux usées industrielles déversées dans l'environnement (égouts, rivières, étangs, lacs,....) contiennent de quelques milligrammes à quelques dizaines de milligrammes de métaux lourds par litre. Ces concentrations bien que trop faibles pour justifier économiquement une récupération par les procédés classiques.

En plus les procédés physiques et chimiques pour le traitement de ces polluants souffrent de la grande dilution des composés (métaux lourds) à traiter.

La voie biologique semble appropriée à la récupération de ces métaux lourds.

Cette technologie est généralement considérée comme assez fiable, sans effet sur l'environnement et moins onéreuse que les méthodes d'épuration classiques.

Depuis une dizaine d'années, plusieurs équipes de recherche en microbiologie tentent de mettre au point des procédés utilisant les propriétés naturelles des composés biologiques (biomasse) vis à vis des métaux lourds pour épurer économiquement et efficacement des effluents industriels contaminés (Karamushka v.i. , Sayer j.a., et Gadd g.m. , 1996) . L'extraordinaire diversité de la faculté de renouvellement de ces composés se font une excellente ressource pour le développement de telle technologie.

De plus, certaines de ces biomasses sont rejetées en quantités importantes par les industries de fermentation dans les effluents et constituent un sous-produit à valoriser.

En Algérie, les résidus des industries agro- alimentaires et surtout des laiteries sont rejetées dans la nature sans traitement, polluant ainsi les cours d'eaux. Alors que ces derniers (résidus) peuvent être valorisés.

Des études très intéressantes, ont été menées pour étudier les potentialités de populations naturelles et les intégrer dans les procédés de décontamination. Les stratégies développées intègrent les connaissances actuelles du métabolisme microbien (Bourquin W., 1990 ; Roux J.C., 1993).

Dans tous les cas de sélection de micro-organismes performants, résistants et peu exigeants est une étape importante à privilégier lors de la mise au point d'un traitement biologique. C'est entre autre sur elle que repose la fiabilité du système.

Le but de nos travaux est de sélectionner et de déterminer les souches fongiques (surtout moisissure) capables d'une bonne biosorption.

L'utilisation de matériaux « biosorbants » pour purifier les effluents contaminés par les métaux lourds est en particulier le mercure, suscite pour cela un intérêt croissant de la part des chercheurs en biotechnologie .

En effet, les parois de nombreux micro-organismes, tel que : les bactéries, les levures, les champignons filamenteux ou les algues (Gadd, 1993), sont capables d'accumuler des quantités importantes de métaux lourds en solution dans l'eau.

L'utilisation de ces biomasses microbiennes dans des procédés d'épuration d'effluents industriels contaminés par les métaux lourds (Fourest E., 1993), nécessite cependant une étude approfondie sur le comportement des micro-organismes vis à vis de l'état physico-chimique de l'effluent à traiter.

En effet, les contraintes inhérentes au développement de ces biomasses (sources de carbone et d'azote, pH, température, ...) sont incompatibles avec les exigences du traitement des eaux usées (toxicité des métaux lourds, variations des concentrations, pH, présence d'agent inhibiteur,....).

Les industries agro-alimentaires rejettent en masse des micro-organismes lors de leur processus de fabrication ou de transformation. Cette biomasse constitue un déchet encombrant et polluant pour l'environnement qui peut être valorisé grâce à sa capacité de biosorption des métaux lourds. Ce biomatériau complexant disponible est très varié.

Plusieurs espèces fongiques peuvent être isolées. Chacune présente un pouvoir biosorbant différent de l'autre du point de vue capacité et résistance.

Le mercure compte parmi les principaux métaux lourds qui polluent le réseau hydrographique de la région de Azzaba, lieu de gisement de ce métal et l'implantation du complexe « ISMAIL » où réside une grande pollution de l'eau et du sol .

Ce sujet de thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche et de développement soutenu par l'Agence Nationale de Développement de la Recherche Universitaire (ANDRU) .

L'objectif de ce travail est de sélectionner, déterminer à partir de biomasse fongique d'origine industrielle (pollution organique importante) les seuils d'adsorption de mercure en vue d'utilisation de ce phénomène dans le développement d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés par les métaux lourds.

Méthodologie générale :

Tout d'abord il a fallu isoler et identifier les souches fongiques existantes dans les eaux usées de l'usine « ORELAIT » puis prendre une seule espèce *Aspergillus clavatus* reconnue pour son affinité au mercure (Seigle S.M. et al., 1990) et la tester sur plusieurs concentrations inhibitrices ou non inhibitrices de l'espèce. L'utilisation de deux milieux différents : un milieu de culture classique (czapek) pour les moisissures et un autre milieu pauvre et salin (M B S).

PREMIERE PARTIE

La pollution par le mercure
Et la biosorption

CHAPITRE 1

la pollution des eaux par les métaux lourds

1-Définition de la pollution

L'organisation Mondiale de la santé (OMS) a fourni en 1961, la définition suivante de la pollution des eaux douces :

" Un cours d'eau est considéré comme étant pollué lorsque la composition ou l'état des eaux est directement ou indirectement modifiées du fait de l'activité de l'homme dans une mesure telle que celles-ci se prêtent moins facilement à toutes les utilisations aux quelles pourraient servir à leur état naturel ou à certaines d'entre elles."

D'après Ramade (1978), le terme pollution désigne l'ensemble des rejets de composés toxiques que l'homme libère dans l'écosphère mais aussi les substances qui sans être vraiment dangereuses pour les organismes, exercent une influence perturbatrice sur l'environnement.

2-Sources de la pollution par les métaux

2.1- Les sources naturelles

Les métaux lourds proviennent de l'érosion des roches et sont présents dans le milieu naturel en très petites concentrations. Provenant aussi de l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts (Maas G., 1987).

Les principales sources de mercure atmosphérique, par exemple, proviennent du dégazage des terres et des océans (Biney A. T. et al., 1994).

Tous comme les sels minéraux, les métaux lourds doivent être appréciés par-rapport à la composition chimique naturelle, la texture et la minéralogie de chaque cours d'eau qui varie d'un type à l'autre (Karen A., et al., 1996).

2.2- Les sources anthropogènes

Les métaux lourds comme Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb et Zn sont des particules présentes dans les eaux industrielles, agricoles et domestiques. Quand chacune de ces eaux apporte aux différents écosystèmes des concentrations croissantes de métaux lourds, cela porte préjudice à l'activité écologique des populations micro-et macroscopique qui est affectée sur des voies spécifiques (Dubey R. C. et al., 1988) .

Les sources anthropogènes sont les suivantes :

- 1-effluents d'extractions minières,
- 2-effluents industriels,
- 3-effluents domestiques et ruissellements orageux urbains,
- 4-lessivage de métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides,
- 5-apports de métaux provenant de zones rurales, par exemple : métaux contenus dans les pesticides,
- 6-sources atmosphériques, par exemple combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émissions industrielles,
- 7-activités pétrochimiques.

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

Tableau 1 Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Dubey R.C. et al. , 1988)

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

3- Répartition, Itinéraires et devenir des métaux lourds dans l'écosystème aquatique

Une fois arrivée dans l'écosystème aquatique, les métaux se répartissent entre ces différents compartiments (l'eau, les solides en suspension, les sédiments et le biote).

Les métaux présents dans l'environnement aquatique peuvent exister sous forme de complexes, de particules ou en solution.

Les principaux processus qui gouvernent la distribution et la répartition des métaux lourds sont la dilution, l'advection, la dispersion, la sédimentation et l'adsorption/désorption.

Dans l'environnement aquatique, les métaux lourds subissent de nombreuses transformations: réduction par processus biochimiques interposés, méthylation , déméthylation et oxydation d'espèces de métaux isolées .Des réactions rédox peuvent aussi faciliter certaines transformations .Les processus biochimiques sont effectués par des micro-organismes et par des algues microscopiques.

Les métaux lourds sont absorbés tant par la faune que par la flore. Cette adsorption pourrait provoquer une augmentation de la concentration du métal dans l'organisme si la phase d'excrétion est lente, il peut résulter un phénomène d'accumulation biologique. Il a été démontré que quelques métaux comme le mercure, subissent une amplification biologique au cours de leur progression dans la chaîne alimentaire (Dubey R.C. et al. , 1988)

4-Concentration des métaux lourds dans les différents compartiments de l'environnement

4.1-Concentration des métaux lourds dans l'eau

Dans les rivières, on remarque que la concentration des métaux lourds est moins élevée que celle relevée dans les sédiments, cela est dû aux différents processus hydrodynamiques : la dilution des contaminants par le biais du passage de l'eau chargée par des sédiments non contaminés, abrasion, le triage hydraulique et les réactions chimiques.

4.2- Concentration des métaux lourds dans les sédiments

L'enrichissement en métaux lourds des sédiments est en grande partie d'origine anthropogène, et met en cause le déversement par ruissellement d'effluents urbains et industriels dans les lagunes côtières ou la circulation d'eau se fait mal (Dubey R.C. et al. , 1988)

L'accumulation des traces de métaux lourds dans les sédiments aquatiques a été intensivement étudiée dans les années 70. il a été bien mis en évidence par Forstner U. et Wittmann G. (1981) et Forstner U. (1989) que la fraction de métaux lorsqu'elle est introduite dans l'environnement aquatique et directement associé avec les sédiments en suspension.

4.3- Concentration des métaux lourds dans la faune aquatique

a l'appui de ce qui a été rapporté par Biney A.T. et al (1994) que dans les travaux de Hella W., 1986 ; Kakuler et Osibanjo, 1986 ; Kakuler et al, 1987 les mollusques contenaient de plus fortes concentrations de la plupart des métaux lourds.

Dans Paracentrotus lividus les concentrations les plus élevées en métaux lourds sont mesurés dans la paroi du tube digestif excepté le Zn et le Pb qui, eux sont repartie comme suit: le Zn est accumulé dans les glossaires et le Pb dans l'épiderme (Warman M. et al. , 1995) .

Les concentrations les plus élevées de cadmium, de cuivre et de zinc ont été trouvées dans Crassostrea sp., qui présente une grande capacité d'accumulation les contaminants donc il a été considéré comme indicateur de pollution .

Les crustacés tel que : Norway lobster et Nephrops norvegicus accumulent des quantités importantes de mercure et cadmium soit a travers l'eau contaminée soit par ingestion d'aliment contaminée par ces deux métaux lourds (Canli M. et al . , 1995)

Les amphipodes peuvent accumuler des concentrations élevées de métaux lourds par ingestion ou au contact avec les sédiments comparé à son exposition à l'eau.

Le cuivre est élevé dans Hyaella azteca après une semaine d'exposition (Chris G., et al. , 1994).

4.4- Concentration des métaux lourds dans la flore aquatique

Il a été démontré que les végétaux aquatiques accumulent des métaux lourds dans leurs tissus et c'est pourquoi ils ont été utilisés comme indicateurs biologiques pour le suivi de la pollution par les métaux lourds dans l'écosystème aquatique (Biney A. T. et al. , 1994).

D'une manière générale, les niveaux trouvés dans les végétaux aquatiques provenant des eaux intérieures (oueds et rivières) sont plus élevés que ceux qui ont été observés dans les échantillons provenant des eaux côtières, exemple : dans *Posidonia oceanica*, le Zn et le Cu sont significativement plus concentrés dans le complexe feuille-épiphyte (Warman M., 1995).

5-Aspect toxicologique et normes

La vie est aussi bien organique que minérale et selon leur importance pour les organismes vivants, les éléments chimiques peuvent se classer en deux groupes : essentiels et non essentiels.

Il est généralement connu que le sodium, potassium et calcium sont essentiels pour le soutien de la vie biologique.

Le manganèse, fer, cobalt, cuivre, zinc et molybdène sont aussi essentiels mais moins connus que les premiers, seuls les traces de ces derniers participent dans les fonctions biologiques nécessaires pour la vie, formant des liaisons stables avec des positions fixées des molécules immobiles des protéines ou ils fonctionnent la plus part du temps comme des catalyseurs de l'activité biologique.

Mais l'ensemble des métaux en trace deviennent toxiques s'il se trouve en quantités excessives dans l'organisme.

Les métaux qui ne servent pas à des fonctions biologiques positives dans l'organisme sont considérés comme non essentiels. Il n'y a aucun doute, tous les métaux sont dangereux pour les organismes vivant même s'ils ne sont pas présents en grandes quantités.

Du point de vue pollution de l'environnement les métaux peuvent être classés en trois groupes : non toxiques, toxiques, et très toxiques.

Tableau 2 Classification des métaux selon leur toxicité.

Non Toxiques			Toxiques			Très Toxiques			
Na	Fe	Al	Ti	La	Ba	Hg	Se	Pb	Sn
K	Li	Si	Zn	Os	Ni	As	Te	Cr	Pt
Mg	Rb		Nb	Rh	Co	Cd	Nd	Bi	Au
Ca	Sr		Re	Ir	Mn	Sb	Ag	Ti	

**Tableau 3 Normes algériennes pour la qualité des rejets industriels
(Valeurs limites maximales) (J.O ,93)**

Paramètres	Valeurs maximales
Température	30 °C
pH	5,5 à 8,5
M.E.S	30 mg/l
D.B.O ₅	40 mg/l
D.C.O	120 mg/l
Phosphates	2 mg/l
Fer	5 mg/l
Mercure	0,01 mg/l
Plomb	1 mg/l
Phénols	0,5 mg/l

M.E.S : Matière en suspension.

D.B.O₅ : Demande biologique en oxygène pendant 5 jours.

D.C.O : Demande chimique en oxygène.

**Tableau 4 Teneurs admissibles des principaux polluants
des eaux de surfaces.**

Eléments	Valeur indiquée [mg/l]
Arsenic	0,05
Cadmium	0,005
Chrome	0,05
Cyanures(en Cn ⁻)	0,1
Fluore (en F ⁻)	1,0
Chlorure (en Cl ⁻)	< 250
Sulfocyanure en (SCn ⁻)	0,20
Mercure	0,001
Plomb	0,05
Sélénium	0,01
Sulfures (en H ₂ S)	< 250
Sulfates(en So ₄ ⁻²)	0,005
Manganèse	0,1
Phénols	50

**Tableau 3 Normes algériennes pour la qualité des rejets industriels
(Valeurs limites maximales) (J.O ,93)**

Paramètres	Valeurs maximales
Température	30 °C
pH	5,5 à 8,5
M.E.S	30 mg/l
D.B.O ₅	40 mg/l
D.C.O	120 mg/l
Phosphates	2 mg/l
Fer	5 mg/l
Mercure	0,01 mg/l
Plomb	1 mg/l
Phénols	0,5 mg/l

M.E.S : Matière en suspension.

D.B.O₅ : Demande biologique en oxygène pendant 5 jours.

D.C.O : Demande chimique en oxygène.

**Tableau 4 Teneurs admissibles des principaux polluants
des eaux de surfaces.**

Eléments	Valeur indiquée [mg/l]
Arsenic	0,05
Cadmium	0,005
Chrome	0,05
Cyanures(en Cn ⁻)	0,1
Fluore (en F ⁻)	1,0
Chlorure (en Cl ⁻)	< 250
Sulfocyanure en (SCn ⁻)	0,20
Mercure	0,001
Plomb	0,05
Sélénium	0,01
Sulfures (en H ₂ S)	< 250
Sulfates(en So ₄ ⁻²)	0,005
Manganèse	0,1
Phénols	50

6-Toxicité des métaux lourds

D'une manière générale, de nombreux facteurs ont une influence sur la toxicité des éléments métalliques vis à vis des organismes aquatiques, ce qui rend souvent délicates les comparaisons entre les résultats des tests de toxicité. Citons notamment : la forme du métal dans l'eau, l'anion associé, les effets antagonistes ou synergiques des autres cations, le pH, la dureté de l'eau, la température, la concentration en oxygène dissous, en gaz carbonique, le temps d'exposition et enfin l'organisme exposé lui-même et son stade de développement.

Parmi les métaux les plus préoccupants à l'heure actuelle, outre le mercure, on trouve le plomb, le cadmium et le titane ; on peut aussi ajouter le zinc, l'aluminium et le cuivre. Mais ces derniers sont encore mal connus et paraissent pour l'instant moins dangereux à des doses comparables aux précédents. Néanmoins, il faut faire extrêmement attention pour ne pas se laisser surprendre à leur égard, surtout dans les cas d'intoxication latente.

La nature des combinaisons chimiques dans laquelle entrent ces substances, influe de façon importante sur le degré de toxicité. Les passages successifs des substances chimiques à travers les maillons de la chaîne alimentaire, aboutissent fatalement chez l'homme (phytoplancton, zooplancton, poisson → homme) (Forstner U. et al., 1981).

Le danger est donc certain, car les études physiopathologiques poursuivies sur les animaux supérieurs ont montré des effets toxiques sur leurs organismes. Les mesures du taux de toxicité directe réalisée sur la flore et la faune aquatique permettent de chiffrer la chute de la production du milieu océanique.

Alors que la toxicité induite traduit la menace ou le dommage vis à vis de l'homme et de ses intérêts (Jung K. et al., 1996).

Les métaux lourds inhibent la croissance des algues tel que Daphnia magna (John T. et al., 1996) La concentration en ion métallique qui occasionne une réduction de la croissance chez Chlorella sorokiniana de 50% après trois jours d'exposition est de 7 mg/l pour le zinc alors qu'elle n'est que de 1 mg/l pour le cadmium (Jung K. et al., 1996).

Chez les micro-organismes il a été déterminé que le zinc, à des concentrations de l'ordre de 50 ppb, réduisait notablement l'activité hétérotrophique de la microflore des cours d'eau sans toute fois réduire le nombre de micro-organismes.

L'épandage des boues activées sur les terres agricoles, est une source de contamination des sols par les métaux lourds. Plusieurs études rapportent une réduction dans la taille de la biomasse microbienne du sol, réduction dans le nombre d'organisme spécifique et même une réduction dans la diversité génétique à l'intérieur d'une espèce. Ces métaux lourds présents dans le sol peuvent être accumulés par les cultures, nous citons le cas des champignons comestibles qui sont à l'origine des intoxications aiguës par le mercure dans la région parisienne (Michelot D., 2000).

En ce qui concerne les invertébrés, plusieurs études ont été faites sur l'effet toxique du zinc sur les huîtres et les escargots de rivière (Carassostrea gigas et Biomphalaria glabrata) (Leveque L., 1978).

Chez les poissons, l'exposition à long terme à des concentrations létales de métaux lourds a pour conséquence une diminution du poids, de leur reproduction qui est affectée par la réduction du nombre d'œufs arrivant jusqu'à l'éclosion (0,01 mg/l de zinc et 10 mg/l de cadmium).

Chez l'homme chacun des éléments métalliques présente un effet spécifique ; le Cadmium par exemple se greffe aux protéines et modifie l'activité enzymatique des enzymes suivants :

- Phosphorylase oxydative.
- Anhydrase carbonique.
- 5 nucléotidase.
- ATPase.
- Peptidases (carboxypeptidase , Leucineaminopeptidase).
- Déshydrogénase.

En plus, Chebli, 1977 ; cite les effets sur le système hématopoïétique cardiovasculaire , les os , le foie , les testicules , les poumons et les effets carcinogènes et mutagène - tératogène . Par contre le titane apporte des perturbations métaboliques et biochimiques au niveau du cycle de krebs ce qui entraîne lictère et l'anurie (Chebli L., 1977).

Pour le mercure, les effets toxiques varie selon le temps d'exposition : des troubles digestifs, des manifestations cutanées sont observées lors d'une intoxication aiguë. Par contre, pour une exposition à long terme (exposition professionnelle), le mercure est un poison cumulatif provoquant des troubles nerveux, des irritations pulmonaire, des asthénies, perte de poids, salivation, troubles sensorielles, démarche hésitante et des troubles psychiques. Les organo-mercuriels ($\text{CH}_3 \text{Hg}^+$) passent la barrière placentaire et provoquent des effets tératogènes et foetotoxiques (Chebli L., 1977).

CHAPITRE 2

la pollution des eaux par le mercure

1-Le mercure

1.1- Etat naturel

Le mercure est présent dans l'écorce terrestre sous deux états :

- état natif, très rare.
- état combiné dont les principales formes sont : le sulfure ou cinabre de mercure et les oxydes de mercure.

Le cinabre constitue le principale minerai à partir duquel est extrait le mercure et peut contenir jusqu'à 70% de celui-ci.

Les principaux gisements de mercure dans le monde sont localisés en ex-URSS, USA, ALGERIE, ASIE centrale, MEXIQUE, YOUGOSLAVIE et en ESPAGNE.

1.2- Propriétés physico-chimiques

1.2.1-Propriétés physiques

Le mercure est le seul métal liquide à la température ordinaire .Il se présente sous forme d'un liquide blanc argenté, brillant, très mobile . Il est pratiquement insoluble dans les solvants organiques usuels.

Sa solubilité dans l'eau est également très faible (0,02 mg/L à 20°C), elle augmente légèrement avec la température.

Tableau 5 Les propriétés physique du mercure

Propriété physique	Valeur
Masse molaire	200,59
point de fusion	-38,87°C
Point d'ébullition	356 ,9°C
Température critique	1677°C
Pression critique	732 Bars
Densité	13 ,546
Densité de vapeur (air =1)	6,93

- Tension de vapeur

0.000490	mm de mercure à 10 °C
0. 001201	mm de mercure à 20 °C
0.002777	mm de mercure à 30 °C
0.006079	mm de mercure à 40 °C
0.01267	mm de mercure à 50 °C

Le mercure est volatile à température ordinaire et sa tension de vapeur variée selon la température (Benali ,1979 ; Long , Scott et Thompson , 1973 ; Weil ,1975).

Malgré une tension de vapeur très faible dès la température ordinaire, le mercure émet des vapeurs en quantité appréciable.

1.2.2. Propriétés chimiques

A la température ordinaire et à sec, le mercure est un produit stable. En présence d'humidité, le métal s'oxyde lentement.

Le soufre et les halogènes se combinent facilement avec le mercure et la température ordinaire.

Le métal n'est pas attaqué à froid par les acides chlorhydrique et sulfurique, à chaud, ce dernier le transforme en sulfate en dégageant de l'oxyde de soufre.

De nombreux métaux donnent des amalgames avec le mercure.

Les formes les plus importantes du mercure du point de vue risque pour la santé humaine sont la vapeur de mercure élémentaire et les alcool-mercures à courte chaîne (O.M.S., 1977 et Schroder W. H., 1987).

2- Sources de la contamination de la biosphère par le mercure

2.1-Sources naturelles.

Les formes principales sous lesquelles se trouve le mercure dans la nature subissent des altérations qui entraînent la mobilisation d'ions mercuriques Hg^{2+} dans les eaux souterraines et de surfaces. Ainsi, l'érosion hydrique, par lessivage, entraîne dans les cours d'eaux des quantités de mercure contenus dans les roches (Korringa et Habel, 1974) et les sols jusqu'aux mers et les océans. C'est l'une des deux principales voies de transports du mercure vers les différents points d'eau, l'autre étant l'atmosphère.

Le passage d'une partie du mercure aux surfaces d'eau directement par l'atmosphère est dû à la volatilité du mercure natif et de beaucoup de ses composés. Outre cette volatilisation, le mercure pénètre aussi dans l'atmosphère à partir de sources volcaniques et géomorphologiques locales et ceci sous forme de retombées sèches ou humides (Tableau 6).

Tableau 6 : Teneurs naturelles en mercure des milieux naturels (O.M.S, 1977)

Résultats globaux	Teneur en Hg (µg/l)	
- Atmosphère	$0,5 \cdot 10^{-12}$	à 10^{-11}
- Hydrosphère	10^{-11}	à $2 \cdot 10^{-10}$
- Lithosphère	$2 \cdot 10^{-8}$	à 10^{-6}
Résultats détaillés		
-Atmosphère		
au dessus des océans	$0,5 \cdot 10^{-12}$	à 10^{-12}
au dessus des continents	10^{-12}	à 10^{-11}
-Hydrosphère		
Océans	10^{-11}	à $2 \cdot 10^{-10}$
Pluies	$5 \cdot 10^{-11}$	à $2 \cdot 10^{-10}$
Eau de surface	10^{-11}	à $2 \cdot 10^{-10}$
Eau souterraines	$5 \cdot 10^{-11}$	
-Lithosphère		
Sédiments	$5 \cdot 10^{-8}$	à $5 \cdot 10^{-7}$
Roches	$2 \cdot 10^{-8}$	à 10^{-7}
Sols	$2 \cdot 10^{-8}$	à 10^{-7}
Pétrole	$5 \cdot 10^{-8}$	à 10^{-7}
Charbon	10^{-7}	à 10^{-6}
Gaz naturel	10^{-4}	à 10^{-5}

3-Cycle biogéochimique du mercure

Le cycle biogéochimique du mercure est à prédominance sédimentaire bien qu'il s'effectue entre la lithosphère et l'atmosphère.

Le mercure provenant de ses sources naturelles (éruptions volcaniques et érosion hydrique par l'exiviation des roches superficielles) pénètre dans les eaux de mer ou océaniques de surface par l'atmosphère ou par les cours d'eau et se répartit en phase "dissoute" et "particulaire" (Joensuu O. L., 1971).

Des études ont montrés que, quantitativement, le mercure se présente surtout sous forme de particules qui finissent par se déposer dans les sédiment marins (Chantal D. G., 1973).

Le rejet du mercure dans l'environnement, comme celui de tout agent polluant, est un phénomène complexe. Les substances libérées dans la biosphère émigrent loin de lieux d'émission, leur circulation dans l'air, les eaux et les sols les dispersent dans l'ensemble de l'écosystème (Ramade F., 1978).

La distribution du mercure dans les différents écosystèmes dépend des concentrations des composés mercuriels présentes et de leurs propriétés thermodynamiques.

L'atmosphère joue un rôle prépondérant dans la dispersion globale du mercure, ce dernier peut s'évaporer directement de la surface du sol à proximité des gisements, se volatiliser et passer dans l'atmosphère par deux réactions principales :

- l'oxydoréduction est une simple réduction chimique de sa forme élémentaire.
- la méthylation est une simple réduction due aux activités microbiennes (Airey, 1982 ; Lindqvist, 1985).

Le cycle naturel du mercure dans les écosystèmes est représenté par la figure 1. Afin de connaître les mécanismes de la pollution par le mercure, il est impératif de connaître les voies par lesquelles il circule dans le milieu naturel.

- La voie physique consiste à un transport par l'eau, et un transport par le vent sous forme particulaire, ionique ou élémentaire.
- La voie chimique sous forme de réactions chimiques.
- La voie biologique qui se fait par le déplacement et la circulation des organismes vivants.

L'ensemble de ces voies constitue le cycle biogéochimique de mercure que nous présentons sur la figure 1. Il s'accomplit entre les trois compartiments de l'écosphère : atmosphère, hydrosphère et lithosphère.

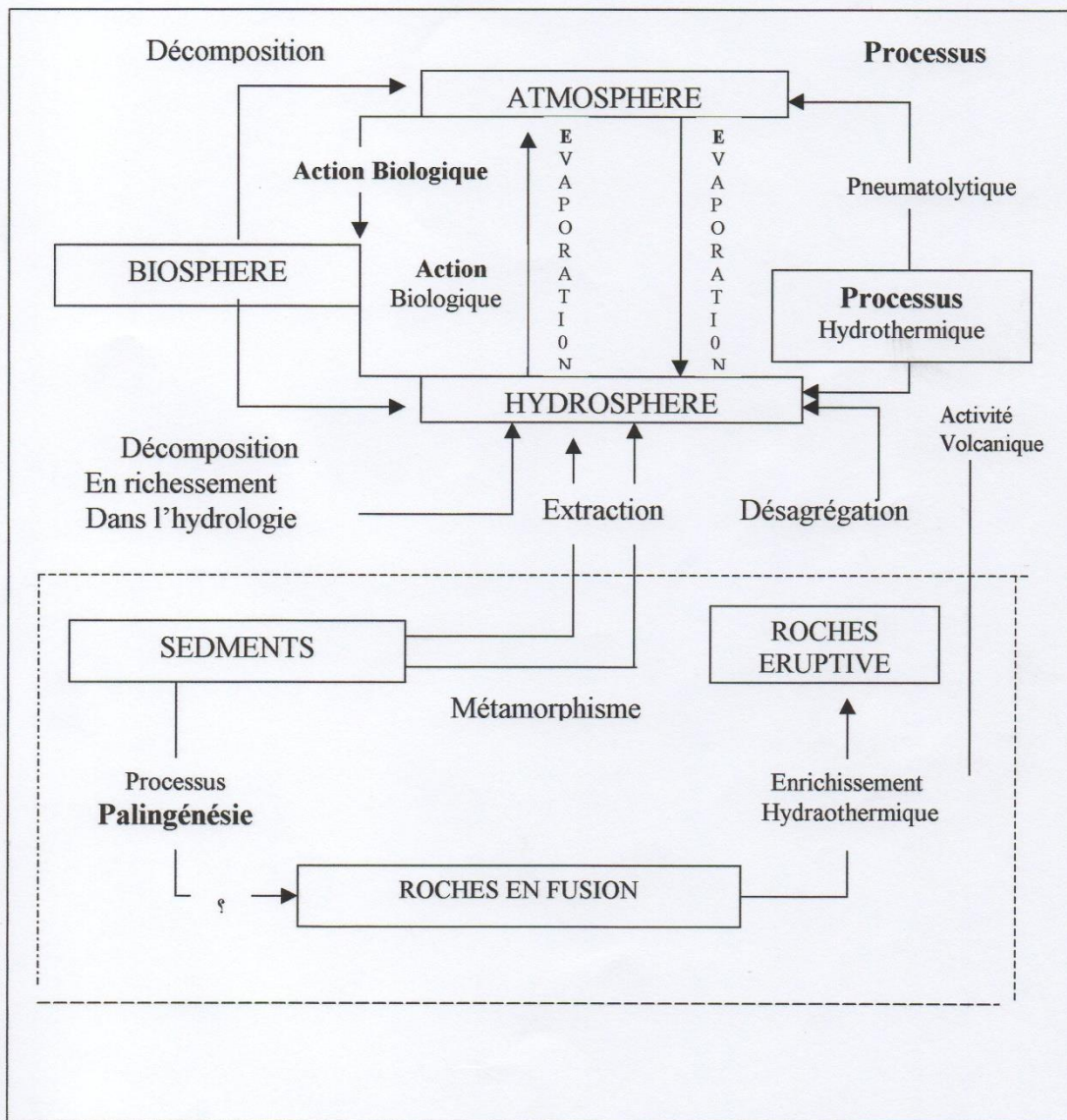
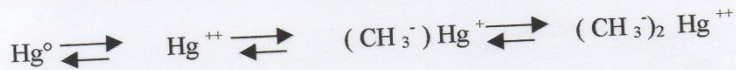


Figure 1 : Cycle naturel du mercure dans l'environnement (Mirta ,1986)

Les éruptions volcaniques et l'érosion hydrique sont les deux origines du mercure présent dans les divers écosystèmes. Par lessivage, le mercure est entraîné dans les cours d'eau pour aboutir dans les océans. Le mercure se sublime facilement et passe dans l'air en des formes très volatiles tel que le diméthylmercure qui se forme par biotransformation microbienne du mercure minérale accumulé dans les sédiments.

Le schéma réactionnel de cette biotransformation est le suivant :



Ce processus de méthylation est très lent en milieu aquatique puis il ne concerne que 1% du mercure contenue dans les sédiments. Mais du point de vue écotoxicologique, il constitue la principale voie des contaminations de l'atmosphère, de certaines étendue d'eau non exposées aux rejets d'effluents contenant ce métal (Ramade, 1982). Contrairement au diméthylmercure ((CH₃)₂Hg⁺⁺), qui est la forme mercurielle volatile, le monométhylmercure (CH₃Hg⁺) restant dissous dans le milieu aquatique s'incorpore dans les chaînes trophiques. Lorsque les végétaux et les animaux qui en sont contaminés, le mercure est restitué aux sédiments.

Les temps de séjour du mercure dans les différents compartiments sont très variables (Nriagu, 1979).

-11 Jours	dans l'atmosphère.
-100 ans	dans les sols.
-2100 ans	dans les océans.
-2.5 10 ⁸ ans	dans les sédiments.

3.1-Transformation

Durant le transport physique du mercure en solution et en association avec les matières en suspension dans les cours d'eau et les eaux souterraines. L'une d'entre elles est la méthylation du mercure qui se produit dans l'environnement terrestre, lacustre et marin.

Les composés mercuriels peuvent suivre trois voies d'évolution :

- 1- Ils se transforment au niveau des supports (phase aqueuse, sédiments, matière organique dissoutes et particules en suspension).
- 2- Ils s'adsorbent, après transformation préalable ou non, sur ces mêmes supports.
- 3- Ils s'absorbent, après une transformation préalable ou non, par les organismes aquatiques.

Ces voies d'évolution dépendent : des potentiels d'oxydoréduction, de la température, de la lumière, de la teneur en oxygène et surtout de l'activité microbiologique. Ces derniers jouent un rôle clé dans la transformation du mercure inorganique en mercure organique (méthylmercure CH₃Hg⁺) puis en diméthylmercure ((CH₃)₂Hg⁺⁺). Le diméthylmercure est très volatil, passe dans l'atmosphère puis sous forme de retombées, il se trouve incorporé aux chaînes alimentaires selon le processus classique. Il est d'abord absorbé par le phytoplancton, puis par les divers consommateurs de l'écosystème (Mathew C. et al., 1976).

Lorsque les plantes et/ou les animaux meurent, le méthylmercure est restitué aux sédiments et le cycle recommence.

3.2- Absorption et accumulation

Le mercure est presque exclusivement présent sous forme de méthylmercure (CH_3Hg^+) dans le milieu marin (Ramade F., 1982).

La teneur en méthylmercure croît avec le niveau trophique de l'espèce et de son poids. Des petits poissons pélagiques comme l'anchois et la sardine, dont la nourriture est constituée principalement de zooplancton, présentent des niveaux d'accumulation plus faibles que le maquereau qui se nourrit de plancton mais aussi de petits poissons. La raie et la roussette, qui sont des carnassiers se nourrissant de mollusques et de petits poissons, présentent des teneurs en mercure plus élevées et enfin, les prédateurs océaniques de grande taille comme le thon, l'espadon, le marlin, le requin ou des poissons à croissance lente comme le flétan exhibent souvent des teneurs en méthylmercure supérieur à 1000 mg / kg (1000 ppb) (Boisset M. et al., 1996). Une conséquence de la forte affinité du méthylmercure aux protéines donc peut se trouver dans les matières organiques mortes ou vivantes.

Le méthylmercure est non stable dans l'environnement, et cette caractéristique présente une grande importance dans le cas de la régénération d'un milieu pollué par le mercure (la matière organique une fois décomposée, va restituer son méthylmercure au milieu physique est comme se composé est d'une grande affinité aux protéines, en le retrouve dans les organismes qui vont naître).

4-Concentration du mercure dans les différents milieux

4.1- concentrations du mercure dans le milieu biotique

Les organomercurels, notamment le méthylmercure, ont fortement tendance à s'accumuler dans les organismes vivants.

Le méthylmercure est très bien absorbé à travers les membranes biologiques. Chez les mammifères, l'absorption du méthylmercure est plus importante aux niveaux trophiques supérieurs des chaînes alimentaires naturelles.

Dans les chaînes alimentaires terrestres, le méthyle mercure est principalement dû à l'usage des fongicides pour le traitement des graines de semence (D'itri, 1974)

Les graines sont consommées par les oiseaux et les rongeurs granivores, ces derniers étant souvent, eux même, la proie de gros oiseaux prédateurs.

-L'accumulation du composé méthyle mercure dans les chaînes alimentaires aquatiques est beaucoup plus complexe que celle des chaînes terrestres. Après s'être diffusé dans l'eau à partir de la particule sédimentaire, le méthyle mercure s'accumule rapidement dans les organismes vivants, végétaux et animaux qui possèdent des membranes permettant un échange gazeux avec leur environnement aquatique (Gavis et Ferguson, 1973). Cette accumulation s'explique par un processus en trois étapes :

-Accumulation par la faune profonde à proximité des couches sédimentaires actives ou se forme le méthylemercure.

-Accumulation chez les petits poissons consommateurs de plancton.
 -Accumulation chez les gros prédateurs marins (Espadon, Thon). Gras et Mondain, 1981 ont trouvé des taux remarquablement élevés de mercure, imputables à plusieurs facteurs :

- Ces poissons sont de gros carnivores se trouvant à l'extrémité d'une chaîne alimentaire.
- Ils ont une longévité plus grande que d'autres espèces.
- Ce sont des poissons très actifs.
- En raison de leur activité, de grandes quantités d'eau de mer traversent les membranes de leurs branchies.

L'accumulation du mercure dans les chaînes alimentaires terrestres et aquatiques crée des risques pour l'homme surtout lorsqu'il consomme du gibier à plumes dans les régions où l'on utilise des fongicides mercuriels ou du poisson issu d'eaux contaminées.

4.2- Concentration du mercure dans les milieux abiotiques (air, eaux et sédiments)

4.2.1- Concentration du mercure dans l'air

La croissance de l'usage du mercure et de ses composés, fait que de nombreuses études ont été faites pour déterminer les teneurs naturelles et anthropogènes des milieux en mercure.

La concentration atmosphérique de mercure total dans les surfaces non polluées est généralement dans une fourchette de 1 à 10 ng / m³ d'air (Schroeder, 1987). La teneur de fond des particules de mercure est de 0,03 ng / m³, mais dans le secteur industriel le taux de mercure en aérosol peut atteindre des valeurs plus élevées : 7,9 ng / m³ (OMS, 1977).

Le tableau 7 nous permet d'établir les teneurs en mercure suivant le degré de pollution et dans différentes zones.

Tableau 7 Teneurs en mercure dans l'atmosphère (OMS, 1977)

Zone de pollution	Teneur en mercure
* En l'absence de pollution - Au-dessus des océans. - Au-dessus des continents.	0,5 à 1,0 ng/m ³
* En présence d'une pollution - faible ou moyenne (naturelle, industrielle ou urbaine)	10 à 200 ng/m ³
* En présence d'une pollution - forte, naturelle ou industrielles.	1,0 à 20 ng/m ³
* En présence d'une pollution très forte (mine, ateliers, effluents gazeux industriels).	Quelques centaines de µg/m ³

4.2.2- Concentration du mercure dans l'eau

Le mercure présent dans la phase aquatique du milieu naturel provient essentiellement de l'érosion hydrique des sols et de l'atmosphère par le biais des précipitations en plus des effluents mercuriels rejetés dans les cours d'eau, les lacs et enfin les mers.

D'une manière générale, la concentration en mercure dans l'eau est très faible (Tableau 8).

Le taux normal du mercure dans l'eau est évalué à 0,1 µg/l à l'état dissous et à 0,5 µg/l si l'on considère que le mercure total dans les eaux douces continentales et 0,3 µg/l pour les eaux de mer et cela dans le rapport de l'association française pour l'étude des eaux.

**Tableau 8 Teneur en mercure dans les eaux
(Giraud et Guillet, 1972)**

Type d'eau ou localisation	Teneur en Hg en ppb
Eaux de pluie, neige	0,05 - 0,5
- Eaux de surface. - Non pollués. - Peu pollué.	0,01 - 0,5 0,05 - 0,2
- Eaux de surface naturelles polluées. - Minéralisées. - Au voisinage de gisements.	0,05 - 2 1 - 150
- Eaux de surface moyennement polluées. - Eaux de surface polluées.	0,2 - 1,5 1,5 - 5
- Effluents industriels. - Effluents mercuriels. - Avant traitement. - Après traitement.	Jusqu'à 20 ppm 100 - 500
- Effluents généraux. d'usines - Canaux industriels.	50 - 100 5 - 50
- Eaux souterraines. - Non pollué. - Polluées. - A proximité de gisements.	0,05 Quelque ppb 1 - 1000
- Eaux des mers et océans. - Non pollué. - Polluée	0,01 - 0,2 > 0,2

4.2.3- Concentration du mercure dans le sol

La surface des sols est exposée aux retombées des métaux lourds rejetés dans l'atmosphère sous forme d'aérosols (plomb, mercure, cadmium, molybdène...etc) . Dans un cas comme dans l'autre ces éléments sont ramenés au sol par les précipitations (Airey D., 1997).

Concernant le mercure, la plus part des molécules déposées sur le sol sont immobilisées par la matière organique et accumulées dans les couches les plus profondes des horizons du sol seulement un faible pourcentage (< 0,1%) du Hg est transporté annuellement par les ruissellements vers la surface de l'eau .

Dans le sol le mercure est lié grâce à des liaisons rigides aux matières organiques et aux particules (Yujun Y. et al. , 1997) . Sa mobilisation est soumise à plusieurs facteurs dont : le pH , la nature , la texture et le relief du sol .

La matière humique est la seule voie de transport du mercure du milieu terrestre vers l'écosystème aquatique et c'est aussi la principale cause de bioaccumulation dans la chaîne trophique aquatique. (Boisset M., 1996).

Benderradji M.,1998 , dans son étude sur la pollution mercurielle de la région d'Azzaba , à mis en évidence que le sol se trouvant à proximité du complexe mercurifère d'Ismail renferme des concentrations élevées en mercure par rapport à l'eau et l'air exemple :

- eau superficielles : Oued Ain Zebda (400 m de l'usine) 96 ppb de Hg,
- air : Menzel Bendiche (4700 m de l'usine) 0,12 ppb de Hg,
- sol : Oued Fendek (1400 m de l'usine) 7000 ppb de Hg,
Zebda (47 m de l'usine) 21250 ppb de Hg .

5- Toxicologie du mercure

5.1- Modes de pénétration dans l'organisme

Le mercure et ces composés sont absorbés par :

- le contact
- l'ingestion
- l'inhalation

Bien que faible, l'absorption cutanée de mercure métallique et de certains composés non ionisés puisse se produire de façon accidentelle.

L'inhalation constitue le mode de pénétration le plus fréquent (Clarkson T.W., 1987).

Le mercure s'évapore à la température ordinaire; chaque fois qu'il est exposé à l'air, il contamine l'air ambiant .

La concentration est dépendante de:

- la température ambiante
- la surface du mercure exposée
- le degré de ventilation du milieu

5.2- Influences des facteurs écologiques sur la manifestation de la toxicité

Les facteurs écologiques qui conditionnent l'action des substances toxiques sur les êtres vivants peuvent être classés en deux (2) catégories :

5.2.1- Les facteurs intrinsèques biologiques

On retrouve dans cette catégorie les caractères biologiques propre à l'espèce considérée ainsi que ceux qui se rapportent à la souche ou lignée qui est définie comme un groupe d'individus possédants un pool de gènes communs; les caractères particuliers à chaque échopase (stade du cycle vital caractérisée par les exigences écologiques spécifiques).

Ainsi chez les vertébrés, les jeunes et à fortiori les embryons sont beaucoup plus vulnérables que les adultes à l'action de tous les polluants.

L'état physiologique (normal ou malade) propre à l'individu soumis à l'influence de ce polluant (mercure).

5.2.2- Les facteurs extrinsèques du milieu

Les divers polluants rejetés dans le milieu naturel, vont être exposés à l'action des facteurs écologiques abiotiques (température, eau, lumière) et biotiques (micro-organismes décomposeurs).

Il peut se produire des réactions entre les polluants avec des facteurs biogéochimiques, ou des interactions des polluants entre eux et enfin à des interférences de types polluants bactéries.

Toutes ces réactions peuvent conduire à l'apparition de composés dont la toxicité peut être égale et même supérieure à celle du polluant initial.

6- Etude métabolique et mécanisme d'action du mercure

6.1- Effets génotoxiques du mercure et des organo-mercuriels

6.1.1- Effets mutagènes et clastogène

Les tests de mutagenèse bactérienne ne donnent pas de résultats positifs avec le mercure (Hg^{2+}) et les dérivés alkylés du mercure (R-Hg-X). Bien que ces composés soient susceptibles, en tant qu'accepteurs "mous", de se lier aux sites nucléophiles des bases puriques et pyrimidiques (Jacobson K.B. et al., 1980). Les divers tests de mutagénicité sur les bactéries (test Rec, test d'Ames) ne permettent pas de mettre en évidence d'effet direct sur l'ADN (Gebhart E et al., 1991).

Chez les végétaux la plupart des travaux expérimentaux indiquent que le mercure, sous forme inorganique et sous forme organique agit sur le mécanisme de formation du fuseau mitotique induisant une aneuploidie et/ou une polyploidie. Un tel effet a été observé chez Allium cepa, Vicia faba et Crepis capillaris avec Hg^{2+} , l'hydroxyde de méthylmercure, les halogénures d'Ethyle -Hexyl - et phénylmercure. Il apparaît en revanche que Hg^{++} est 100 à 1000 fois moins toxique que les organomercuriels pour ces cellules.

Chez les insectes comme le drosophile, les organomercurels (phénylmercure et méthylmercure) empêchent la séparation des chromosomes sexuels lors de la méiose (Ramel C., 1972). L'hydroxyde de méthylmercure induisent chez cet insecte l'apparition de mutants récessifs létaux (Mathew C. et al., 1976).

Des travaux portant sur des lignées cellulaires établies ou des lymphocytes en suivie d'origine humaine, ont bien démontré que la plupart des organomercurels provoquent l'apparition de mitoses-C (Umeda M. et al., 1969). Des spermatozoïdes anormaux et des micro-noyaux ont été observés chez des souris exposées aux organomercurels.

6.1.2- Effets cancérigènes

Des études de cancérogenèse à long terme, menées chez le rat et chez la souris, ont montré que le méthylmercure incorporé dans le régime alimentaire à la concentration de 10-15 ppm, provoque une néphropathie chronique et entraîne une augmentation de l'incidence des cancers rénaux. Toutefois, Boisset, 1996 rapporte qu'une incidence accrue des tumeurs cérébrales, conséquence présumée de l'exposition au mercure métallique, chez les dentistes Suédois et leurs assistants.

6.2- Effets toxiques majeurs du mercure et du méthylmercure chez l'animal et l'homme

Il y a lieu lorsqu'on s'intéresse aux effets biologiques de la contamination mercurielle de l'environnement de rechercher sous quelle forme chimique se trouve le mercure car celles-ci ont des propriétés toxicocinétiques et des effets toxiques très différents (Tableau 9).

Le mercure inorganique existe sur trois étapes d'oxydation 0, I, et II. A l'état mercurique (+II) il peut donner naissance à des composés alkylmercuriels stables comme le méthylmercure (CH_3Hg^+) chez les mammifères, le métabolisme conduit à la transformation des différentes formes en ion mercurique qui est un accepteurs "mou", selon la classification de Pearson, possède une très forte affinité pour les donneurs "mous" comme les groupements sulphydryles (R-SH) et divers autres ligands à caractère nucléophile, et inhibe de très nombreuses réactions métaboliques dans la cellule (Anonyme, 1996 et Diels et al., 1989).

Le mercure mercurique fermement liés aux protéines plasmatiques est incapable de franchir la barrière hémato-encéphalique et se fixe rapidement dans le foie et le rein. L'épithélium tubulaire rénal et dans ce cas l'organe-cible.

Tableau 9: Métabolisme et toxicocinétique des différents Composés du mercure (Boisset, 1996).

	<i>Mercuré inorganique</i>	<i>Mercuré métal</i>	<i>Mercuré organique</i>	
			<i>Aryl</i>	<i>Alkyl</i>
<i>Absorption</i>				
Voie digestive	< 0.01%	< 5%		sel de MeHg ou lié au protéines. 95 à 100 %
Inhalation R Hématies/plasma	80% f (état d'oxydation)	f(taille particule) 1		>80% hématies > 90 (R=10)
<i>Transport</i>				
Liposolubilité	+	-		+
Passage Placenta	+	-		+/-
Excrétion lait		+/-		+
Organe cible	SNC / Reins	Reins/foie		SNC/Reins foie
<i>Période biologique</i>	intermédiaire	~ 40j		~ 70j
<i>Indicateur biologique</i> Sang	Hg urinaire			Cerveau ~270 j Hg ou Me Hg sang Hg ou MeHg sang Cheveux

SNC : Système nerveux central

R : Rapport

f : Forme

Le mercure sous forme métallique (HgO), du fait de son caractère volatil pénètre principalement dans l'organisme par la voie respiratoire, traverse l'épithélium alvéolaire et peut en raison de son caractère lipophile franchir la barrière hémato-encéphalique pour se fixer, après oxydation, au niveau du système nerveux central qui sera l'organe cible dans les expositions professionnelles (Boisset M., 1996).

Alors que le mercure métallique n'est pratiquement pas absorbé au long du tractus digestif (~ 0,01 %) et que le mercure mercurique ne l'est que faiblement (< 5%), le méthylmercure est absorbé presque totalement (~ 95%) et suit un cycle entéro-hépatique (Cumont G., 1984).

Le mercure est véhiculé très majoritairement (~ 90%) dans le sang par les érythrocytes, puis redistribué dans le foie, le rein et surtout le cerveau, le transfert du méthylmercure du sang au cerveau pourrait se faire sous forme d'un complexe avec la L-cystéine, de structure semblable à la L-méthionine, qui serait pris en charge par un des systèmes de transport trans-membranaire des acides aminés neutres de la barrière hémato-encéphalique. Un échange rapide avec les groupements -SH des macromolécules cellulaires permettrait l'accumulation non spécifique du méthylmercure dans l'ensemble du système nerveux (Figure 2).

Les symptômes neurologiques majeurs d'intoxication apparaissent lorsque la concentration en mercure, dans cet organe, excède la valeur de $5 \mu\text{g/g}$ (Boisset M., 1996).

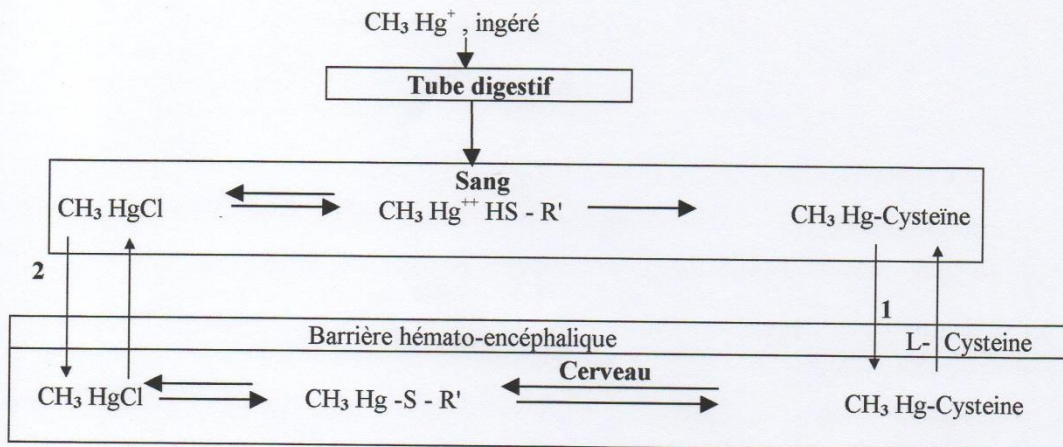


Figure 2 : Modèle de transport et d'accumulation cérébrale du méthylmercure
(Boisset M., 1996)

7- Procédés de lutte contre la pollution mercurielle

Pour lutter contre cette pollution, il existe deux procédés très distincts ; l'un physico-chimique et l'autre biologique.

7.1- Procédés physico-chimiques

7.1.1- L'ultrafiltration

L'ultrafiltration est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à travers une membrane semi-perméable. La force motrice qui provoque le transport de matière est un gradient de pression établi de part et d'autre de la paroi ultrafiltrante dont la microstructure, suffisamment fine, permet le fractionnement de la solution à traiter en fonction des dimensions de ses constituants (Mimoune S., 1994). Ainsi sont obtenus, un perméat ou ultrafiltra-retentat ou concentrât ou sont concentrées les espèces macromoléculaires.

7.1.2- Echange d'ions

Les échangeurs d'ions sont des substances granulaires insolubles, comportant dans leur structure moléculaire des radicaux acides ou basiques susceptibles de permuter, sans modification apparente de leur aspect physique, et sans altération ou solubilisation, les ions positifs ou négatifs, fixés sur ces radicaux, contre des ions de même signe se trouvant en solution dans le liquide à leur contact.

Cette permutation appelée échange d'ions permet de modifier la composition ionique du liquide objet du traitement, sans modification du nombre total de changes existant dans ce liquide avant l'échange.

En plus, la mise en œuvre des échangeurs d'ions est subordonnée à un certain nombre de conditions que l'on méconnaît trop souvent :

- Les échangeurs d'ions sont faits pour fixer les ions, et non pour filtrer des matières en suspension, des colloïdes ou des émulsions huileuses. La présence de ces dernières substances ne peut qu'abrèger leur durée de vie.

7.1.3- L'adsorption

L'adsorption définit la propriété de certains matériaux de fixer à leur surface des molécules (gaz, ions métalliques, molécules organiques, etc...) d'une manière plus ou moins réversible. Il y a transfert de matière de la phase aqueuse ou gazeuse vers la surface solide. Le solide acquiert alors des propriétés superficielles (hydrophobie ou hydrophilie) susceptibles de modifier l'état d'équilibre du milieu (dispersion, floculation) (Monod J., 1986).

La capacité d'adsorption du solide dépend :

- de la surface développée ou surface spécifique du matériau. Les solides dans les milieux naturels (argiles, silices,...) possèdent des surfaces spécifiques variables avec l'état physicochimique du milieu aqueux (pH, nature des cations liés, saturation de la surface par les molécules organiques...). Ainsi certaines argiles comme les bentonites (Montmorillonite par exemple) ont une surface, accessible à la plupart des molécules, variant de 40 à 800 m²/g. Leur capacité d'adsorption est très variable mais constitue le paramètre essentiel de la régulation des échanges et de la mobilité des éléments dans le milieu naturel (Monod J., 1986).

Les adsorbants industriels (essentiellement les charbons actifs) développent des surfaces spécifiques énormes (600 à environ 1200 m²/g) caractéristiques d'une très forte microporosité. D'autres adsorbants comme les hydroxydes métalliques formés au cours de la coagulation - floculation développent eux aussi de très grandes surfaces dont l'extension est étroitement dépendante du pH ;

- de la nature de la liaison adsorbat - adsorbant, c'est-à-dire de l'énergie libre d'intégration entre les sites d'adsorption et la partie de la molécule en contact avec la surface ;

- du temps de contact entre le solide et les solutés. A l'équilibre il y a échange dynamique entre les molécules de la phase adsorbée et celles restant en solution. De nombreuses théories ont tenté de modéliser la relation existant entre la quantité des molécules adsorbées (g/g ou g/m²) et la quantité à l'équilibre (Monod J., 1986).

7.2- Les procédés biologiques

Les procédés physico-chimiques préalablement cités sont basés sur des techniques de séparation à une voie ou qui concentrent les polluants ont les rendant plus contaminants qu'au départ.

D'autre part, ces techniques ne sont applicables que sur des concentrations élevées de polluants et reviennent cher pour les industriels (Huang J.P. et al., 1991).

Les chercheurs, ont puisé dans les différentes réactions naturelles tel que les cycles biogéochimiques des éléments et l'auto-épuration de certains milieux faisant ainsi ressortir des supports biologiques ou plus précisément des micro-organismes capables de subvenir au besoin croissant de l'épuration des milieux.

En effet, plusieurs micro-organismes possèdent le pouvoir de réduire ou d'éliminer certains polluants tel que les métaux lourds (Huang J.P. et al. , 1991).

Ces micro-organismes sont représentés par :

7.2.1- Les Algues microscopiques

Un certain nombre d'algues sont utilisées pour traiter les eaux usées chargées en métaux lourds , tel que *Fucus* et *Axophyllum* (Roux J.C., 1998).

Ces algues sont ramenées des plages subissent plusieurs traitement : lavage, séchage et broyage pour les rendre sous forme de granulés de tailles différentes.

D'après les résultats obtenus par Roux , 1998 ; *Axophyllum* à donné un résultat plus important que *Fucus* : 80mg /g de Cu^{2+} et 70 mg /g de Zn^{2+} sont absorbés .

Ces ions métalliques se fixent sur les radicaux carboxyles et phosphorés qu'offre la membrane des algues. En effet, les algues sont utilisées sous forme de biomasse morte ou vivante. Seulement les algues sous forme de biomasse vivante sont moins répandues dans les stations d'épuration des eaux usées puis qu'elle présente certains inconvénients :

- besoin continue de lumière pour la photosynthèse ,
- besoin de source importante de carbone ,
- besoin d'oligo-élément .

7.2.2- Les bactéries

Durant les vingt dernières années, quelques espèces bactériennes présentant un intérêt pour l'environnement ont été isolées et étudiées. Seulement, un nombre restreint de bactéries peuvent supprimer les métaux lourds présents dans les effluents par adsorption ou par induction du métal avec le processus de cristallisation (Diels et al ,1989) . En revanche plusieurs bactéries sont capables de dégrader les composés récalcitrants et les organo-toxiques en dioxyde de carbone (CO_2) et eau (H_2O) (Chapaman, 1988). Cependant pour chacun de ces cas, il est important de maintenir les bactéries en vie et d'orienter leur fonctionnement dans le but voulu.

Ces bactéries sont maintenues immobiles sur des membranes pour qu'elles puissent être utilisées dans le traitement des eaux chargées en polluants ; cellules immobilisées (Diels L. et al., 1995).

Les bactéries restituant à une variété de métaux lourds ont été isolés et identifiés leur mécanisme de résistance est encodé par des opérants sur les plasmides (Diels L. et al.,1995) .

Les chercheurs, ont puisé dans les différentes réactions naturelles tel que les cycles biogéochimiques des éléments et l'auto-épuration de certains milieux faisant ainsi ressortir des supports biologiques ou plus précisément des micro-organismes capables de subvenir au besoin croissant de l'épuration des milieux.

En effet, plusieurs micro-organismes possèdent le pouvoir de réduire ou d'éliminer certains polluants tel que les métaux lourds (Huang J.P. et al. , 1991).

Ces micro-organismes sont représentés par :

7.2.1- Les Algues microscopiques

Un certain nombre d'algues sont utilisées pour traiter les eaux usées chargées en métaux lourds , tel que *Fucus* et *Axophyllum* (Roux J.C., 1998).

Ces algues sont ramenées des plages subissent plusieurs traitement : lavage, séchage et broyage pour les rendre sous forme de granulés de tailles différentes.

D'après les résultats obtenus par Roux , 1998 ; *Axophyllum* à donné un résultat plus important que *Fucus* : 80mg /g de Cu^{2+} et 70 mg /g de Zn^{2+} sont absorbés .

Ces ions métalliques se fixent sur les radicaux carboxyles et phosphorés qu'offre la membrane des algues. En effet, les algues sont utilisées sous forme de biomasse morte ou vivante. Seulement les algues sous forme de biomasse vivante sont moins répondues dans les stations d'épuration des eaux usées puis qu'elle présente certains inconvénients :

- besoin continue de lumière pour la photosynthèse ,
- besoin de source importante de carbone ,
- besoin d'olégo-élément .

7.2.2- Les bactéries

Durant les vingt dernières années, quelques espèces bactériennes présentant un intérêt pour l'environnement ont été isolées et étudiées. Seulement, un nombre restreint de bactéries peuvent supprimer les métaux lourds présents dans les effluents par adsorption ou par induction du métal avec le processus de cristallisation (Diels et al ,1989) . En revanche plusieurs bactéries sont capables de dégrader les composés récalcitrants et les organo-toxiques en dioxyde de carbone (CO_2) et eau (H_2O) (Chapaman, 1988). Cependant pour chacun de ces cas, il est important de maintenir les bactéries en vie et d'orienter leur fonctionnement dans le but voulu.

Ces bactéries sont maintenues immobiles sur des membranes pour qu'elles puissent être utilisées dans le traitement des eaux chargées en polluants ; cellules immobilisées (Diels L. et al., 1995).

Les bactéries restituantes à une variété de métaux lourds ont été isolés et identifiés leur mécanisme de résistance est encodé par des opérants sur les plasmides (Diels L. et al.,1995) .

Parmi ces bactéries on cite Alcaligenes entrophus Var. Metallotolerans est la souche représentative (CH^{34}) qui a été isolé à partir des sédiments d'un bassin de décantation d'une usine de Zinc (Mergeary et al, 1978) .

La biomasse microbienne agit par cristallisation des métaux lourds existant à de faible concentration dans le milieu ; ce procédé est appelé biominéralisation .

La biominéralisation est un processus ou la bactérie provoque rapidement la précipitation des métaux lourds par la création d'un environnement hypersaturé au tour d'elle et aussi par la production d'un foyer de précipitation sur la surface de la cellule (Diels et al, 1993).

Il est aussi important, dans le cas de la récupération de ces métaux d'arriver à un rapport élevé de métal / biomasse pour obtenir une bonne méthode de recyclage qui sera à utilisé à des fins économiques (Diels et al, 1993).

Diels et al , 1993 et Shuttleworth et al , 1993 rapportent aussi qu'il existe d'autres bactéries qui agissent par oxydation , comme Thiobacillus ferrooxidans ou Thiobacillus thiooxidans et Klebsiella aerogenes agit par stockage des métaux sous forme de métal sulfide dans de large granules situées sur la cellule. Thiothrix Sp est une bactérie sulfurée qui domine la population microbienne présente dans les boues activées des stations d'épurations des eaux usées. Cette dernière agit par sorption des métaux à leur surface. Cette bactérie est particulière par-rapport aux autres par son aspect filamenteux qui offre plus de surface de sorption que celle offerte par les bactéries unicellulaires.

On retrouve aussi la bactérie Rhodococcus erythropolis A 177 dont la paroi cellulaire a été étudié pour sa capacité de fixation des métaux lourds qui se fait grâce à un système de compétition entre les ions de calcium (situé sur la paroi) et les ions métalliques (présents dans les effluents) qui fini par la libération du calcium et la rétention des ions métalliques (Plette A.C et al. , 1996) .

Malgré les bons résultats obtenus par l'utilisation des bactéries, reste le problème des conditions de vie de la bactérie et ces exigences pour donner ce rendement. Ces bactéries, nécessitent un pH adéquat, l'approvisionnement régulier en nutriment et des fois la présence d'un cométabolite .

7.2.3- Les champignons

Les champignons, sont de la matière biologique solide qui exhibe une surface spécifique du côté des métaux lourds comme il a été déjà cité.

Les champignons sont meilleurs adsorbant pour les métaux que n'importe qu'elle biomasse et cela pour leur grande tolérance vis à vis des métaux toxiques ainsi que les conditions défavorables de l'environnement tel que pH faible (Huang J.P et al. , 1991) .

Les champignons se développent très rapidement et présente une paroi à grande capacité de fixation et montrent souvent des valeurs élevées de rétention intra-cellulaire et cela chez les cellules vivantes (Huang J.P et al. , 1991) .

Suite à tous ce qui vient d'être cité sur la capacité des micro-organismes à réduire la concentration des métaux lourds dans les effluents liquide, nous pouvons conclure que :

- 1- Les bactéries sont moins résistantes aux métaux lourds toxiques que les algues et les champignons
- 2- Les algues sont des micro-organismes autotrophes qui ont un besoin constant en photo-énergie , oxygène et une source de carbone .
- 3- Les algues et les bactéries sont très petits de taille et difficile à récolter donc demande une laborieuse séparation liquide-solide.
- 4- Les champignons sont les micro-organismes qui peuvent être cultivé économiquement en grande masse et sous des conditions extrêmes de l'environnement (Roux J.C.,1998) .

CHAPITRE 3

la pollution organique et procédés de traitements

1-Origine et conséquence de la pollution organique

L'immense majorité des substances polluantes, qu'elles soient gazeuses, liquides ou solides, sont susceptibles de contaminer l'hydrosphère.

La pollution biologique résulte du rejet dans les eaux continentales ou littorales d'une grande variété de substances organiques fermentescibles (Anonyme, 1999). Celles-ci peuvent être d'origine diverse : effluents urbains ou industriels renfermant des débris ménagers, des matières fécales, des lessives de sucreries, de papeteries, de levureries et de laiteries.

1.1- Rejets urbains

La pollution biologique des eaux se traduit par une forte contamination bactériologique. Elle soulève dans bien des cas de redoutables problèmes d'hygiène publique qui ne sont pas limités aux seuls pays du tiers monde (Ramade F., 1982).

Cette extension incessante de la pollution microbiologique des eaux continentales et littorales a pour conséquence une recrudescence d'affections telles que les colibacillooses ou les hépatites virales, dont la fréquence s'accroît avec régularité dans les nations industrialisées. L'actuelle extension de la pandémie cholérique montre aussi les redoutables problèmes épidémiologiques qui peuvent résulter de cette contamination biologique des eaux (Maas G., 1987).

Bien d'autres graves affections pathogènes sont favorisées par la pollution biologique des eaux. C'est le cas par exemple de la typhoïde, dysenteries et des virus entériques.

L'utilisation des cours d'eau comme moyen de dilution des effluents urbains présente donc de graves conséquences pour l'hygiène publique. Il semble que la pollution par des matières organiques permet à de nombreuses espèces de germes pathogènes de se multiplier dans des proportions incommensurables par rapport à ce qu'ils auraient pu faire dans des eaux propres (Ramade F., 1982).

Dans les eaux d'égout des villes européennes, on évalue en moyenne à 190g/habitant la quantité de matières dissoutes ou suspension rejetée chaque jour dans les fleuves riverains (Ramade F., 1982).

1.2-Rejets industriels

Outre les rejets des égouts urbains, il faut mentionner ceux de diverses industries alimentaires fortement polluantes : abattoirs, laiteries, fromageries, sucreries et les levureries et conserveries (Anonyme, 1999).

L'industrie du papier occupe aussi une place de choix dans la pollution organique des eaux. En effet, elle y déverse des lessives riches en glucides, donc hautement fermentescibles. Une papeterie "moyenne" pollue les eaux comme une ville de 500.000 habitants (Ramade F., 1982). Sans oublier aussi les conserveries ; qui déversent chaque jour sans traitement dans les eaux de rivières des effluents chargés de substances organiques.

1-Origine et conséquence de la pollution organique

L'immense majorité des substances polluantes, qu'elles soient gazeuses, liquides ou solides, sont susceptibles de contaminer l'hydrosphère.

La pollution biologique résulte du rejet dans les eaux continentales ou littorales d'une grande variété de substances organiques fermentescibles (Anonyme, 1999). Celles-ci peuvent être d'origine diverse : effluents urbains ou industriels renfermant des débris ménagers, des matières fécales, des lessives de sucreries, de papeteries, de levureries et de laiteries.

1.1- Rejets urbains

La pollution biologique des eaux se traduit par une forte contamination bactériologique. Elle soulève dans bien des cas de redoutables problèmes d'hygiène publique qui ne sont pas limités aux seuls pays du tiers monde (Ramade F., 1982).

Cette extension incessante de la pollution microbiologique des eaux continentales et littorales a pour conséquence une recrudescence d'affections telles que les colibacillooses ou les hépatites virales, dont la fréquence s'accroît avec régularité dans les nations industrialisées. L'actuelle extension de la pandémie cholérique montre aussi les redoutables problèmes épidémiologiques qui peuvent résulter de cette contamination biologique des eaux (Maas G., 1987).

Bien d'autres graves affections pathogènes sont favorisées par la pollution biologique des eaux. C'est le cas par exemple de la typhoïde, dysenteries et des virus entériques.

L'utilisation des cours d'eau comme moyen de dilution des effluents urbains présente donc de graves conséquences pour l'hygiène publique. Il semble que la pollution par des matières organiques permet à de nombreuses espèces de germes pathogènes de se multiplier dans des proportions incommensurables par rapport à ce qu'ils auraient pu faire dans des eaux propres (Ramade F., 1982).

Dans les eaux d'égout des villes européennes, on évalue en moyenne à 190g/habitant la quantité de matières dissoutes ou suspension rejetée chaque jour dans les fleuves riverains (Ramade F., 1982).

1.2-Rejets industriels

Outre les rejets des égouts urbains, il faut mentionner ceux de diverses industries alimentaires fortement polluantes : abattoirs, laiteries, fromageries, sucreries et les levureries et conserveries (Anonyme, 1999).

L'industrie du papier occupe aussi une place de choix dans la pollution organique des eaux. En effet, elle y déverse des lessives riches en glucides, donc hautement fermentescibles. Une papeterie "moyenne" pollue les eaux comme une ville de 500.000 habitants (Ramade F., 1982). Sans oublier aussi les conserveries ; qui déversent chaque jour sans traitement dans les eaux de rivières des effluents chargés de substances organiques.

La charge de pollution organique d'une eau s'évalue par la DBO₅ : demande biologique d'oxygène en 5 jours. Celle-ci rend compte de la quantité d'oxygène nécessaire au micro-organismes décomposeurs pour dégrader, minéraliser entièrement, la totalité des matières organiques présentes dans un litre d'eau polluée (Ramade F. , 1982) .

2-Lutte contre la pollution organique

2.1- Epuration biologique

2.1.1 - Principe

Un grand nombre de micro-organismes sont capable de métaboliser la matière organique et par conséquent, de conduire à l'épuration des eaux usées chargées en matières organiques biodégradables.

En faisant appelle aux micro-organismes anaérobies qui tirent leurs besoins énergétiques de la matière organique en l'absence d'oxygène. Les micro-organismes facultatifs ont un métabolisme aérobie en présence d'oxygène et un métabolisme anaérobie en l'absence d'oxygène. La majorité des micro-organismes présents dans les procédés d'épuration biologique sont du type facultatif.

La plupart des procédés font appel à des organismes hétérotrophe ; qui utilisent le carbone organique pour la synthèse cellulaire.

2.1.2-Techniques

Il existe différents types de procédés d'épuration :

- Le procédé par boues activées mais ce dernier nécessite le traitement et l'évacuation des boues en excès .
- Les procédés à aération prolongée ou à oxydation totale conduiront à l'obtention d'un effluent très clarifié nécessitera un traitement tertiaire par filtration et coagulation.
- Le procédé par contre stabilisation : La teneur en matières en suspension de l'effluent est identique à celle que l'on peut obtenir par les procédés traditionnels à boues activées.
- Le lagunage aérobie peut être utilisé pour le pré-traitement d'eaux usées industrielles avant rejet vers une station d'épuration commerciale.
- Le lagunage aéré demande un traitement complémentaire est nécessaire si l'on désire un effluent bien clarifié. Ce procédé exige de grandes superficies de terrain (Roque J., 1984).
- Les lagunes facultatives ou anérobies ce traitement doit être suivi d'un procédé aérobie (lagunage aéré, boue activée, etc...).
- Les lits bactériens et les disques biologiques peuvent être utilisés comme réacteurs dégraisseurs en pré-traitement ou comme traitement secondaire à haut rendement d'élimination (Roque J., 1984).

Les processus biologiques de traitement des eaux usées reproduisent les phénomènes naturels en les amplifiant grâce à des techniques facilitants et orientants l'activité de La flore épuratrice, cette dernière se développant à partir des polluants, opère un transfert de pollution de l'eau vers la biomasse, appelée boue. Le traitement des eaux usées se termine donc avec le traitement des boues, véritable concentré de pollution.

3-Valorisation des rejets industriels

Plusieurs industries, rejettent dans la nature et sans traitement préalable, leurs déchets, tel est le cas des industries agro-alimentaire dont leurs effluents sont très chargés en micro-organismes capables de dégrader ou de transformer certains produits toxiques (Kirane D. et al. , 1999).

Les boues mycéliennes constituées des divers champignons filamenteux (moisissures), cultivés pour produire des enzymes, des antibiotiques et des acides organiques. Ces champignons présentent une paroi d'une composition spécifique, renfermant de nombreux groupements anioniques véritables pièges à cations métalliques. Ce phénomène est appelé "adsorption". Même une fois morts, ces champignons ne perdent pas cette capacité et réagissent mieux vis à vis des fortes concentrations des polluants donc insensibles à leur toxicité (Roux , 1993 ; Kirane D. , 1997) .

Les rejets des industries chimiques ou métallurgiques renferment des produits très dangereux parmi lesquels on retrouve les métaux lourds.

Cette technique (utilisation des boues mycéliennes comme biosorbant) à été adopté par le programme "REWARD" de la commission des communautés européennes portant sur la purification d'effluents résultant du traitement de minerais de zinc (belge) en utilisant les résidus de fermentation des industries hollandaises. Des essais sont actuellement effectués sur un pilote de 150 litres, mis au point par la société Bertin coordinateur du programme (Roux J. C. ,1993).

CHAPITRE 4
la biosorption et les champignons
filamenteux

1- Interactions entre les micro-organismes et les métaux lourds

La sélection des biomasses les plus performantes et le choix de méthodologies adaptées constituent les principaux objectifs des travaux engagés. La compréhension des mécanismes d'accumulation des métaux lourds par les matériaux biologiques sélectionnés est un point essentiel pour l'optimisation des procédés. Les micro-organismes, des bactéries en passant par les levures et les champignons filamenteux, sont capables d'interagir avec les métaux lourds présents en solution dans les cours d'eaux et effluents. Ces interactions peuvent être actives ou passives, dépendantes ou indépendantes du métabolisme des micro-organismes (Gaad, 1988).

1.1- Interactions dépendantes du métabolisme

L'accumulation active des métaux lourds par des mécanismes dépendants du métabolisme peut parfois largement excéder les phénomènes d'adsorption physico-chimique. Il faut cependant distinguer deux types d'interactions entre les métaux et les micro-organismes :

- l'action directe des fonctions cellulaires, par transport actif ou réaction d'oxydoréduction, grâce à des protéines ou ligands spécifiques.
- l'effet indirect des produits excrétés du métabolisme, qui vont complexer ou précipiter les métaux lourds à l'extérieur de la cellule ou dans des vacuoles (Figure 3)

1.1.1-Accumulation intracellulaire, compartimentation ou excrétion

Les micro-organismes vivants possèdent des systèmes de transport actif plus ou moins spécifiques pour les micro-nutriments essentiels (Cu, Fe, Mn, Co, Ni, Zn...). Les métaux non essentiels peuvent parfois également emprunter ces canaux ioniques (Gadd, 1988). Dans le cytoplasme ces éléments s'accumulent peuvent se révéler toxiques essentiellement par inhibition de certaines activités métaboliques.

Des mécanismes de résistance ont été observés chez tous les types de micro-organismes, et peuvent contribuer à accroître leurs capacités d'accumulation. Par exemple, la synthèse de métalloprotéines riches en cystéine en réponse à des concentrations intracellulaires élevées en métaux lourds, permet de complexer les cations métalliques et empêcher leur action toxique. La production de mélanines ou autres pigments complexants permet aussi de limiter la bio-disponibilité des micro-polluants toxiques. Des molécules sidérophores, destinées à fixer le fer nécessaire au métabolisme, sont également capables de piéger efficacement les autres cations métalliques à l'état de traces.

Un autre mécanisme de détoxification intracellulaire très fréquent est la précipitation des métaux lourds par des carbonates, phosphates ou hydroxydes dans des vacuoles ou sous forme de granules denses aux électrons (Gadd, 1988).

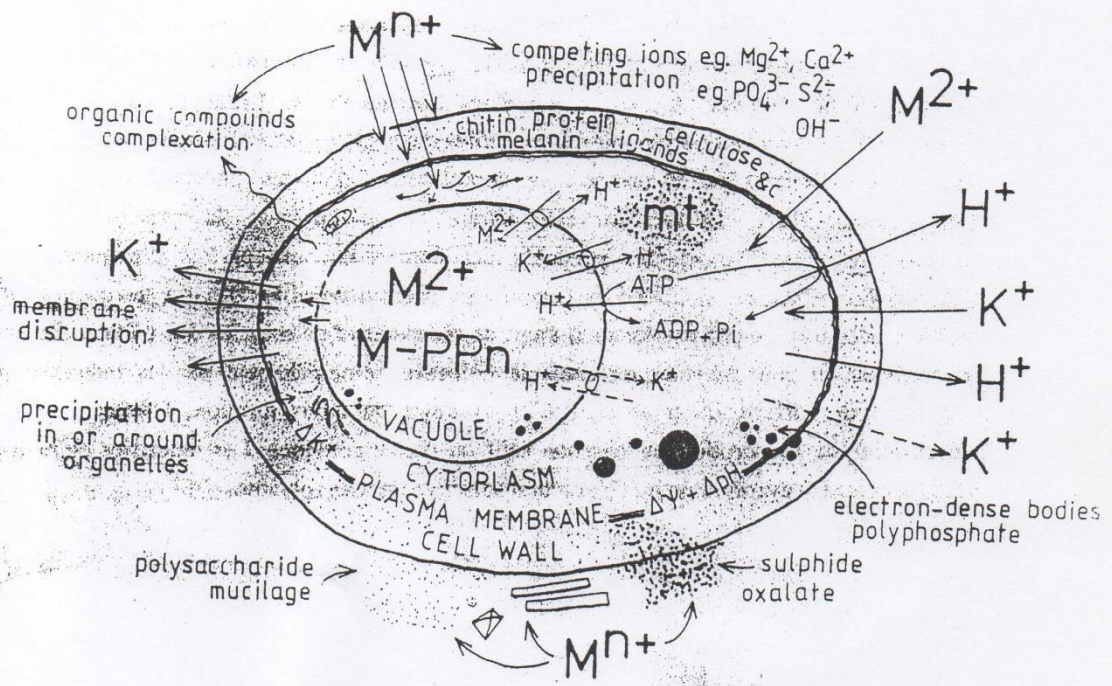


Figure 3 Présentation des mécanismes d'accumulation des métaux par les micro-organismes. (Fourest E., 1993)

M-PPn : précipités métal-polyphosphates
 mt : métallothionéines

Certains micro-organismes produisent et excrètent aussi des acides organiques qui peuvent tantôt former des complexes cristallisés (acides oxaliques) ou solubles (acide citrique) avec les éléments toxiques (Gadd, 1988 ; Brich, 1990).

1.1.2-Précipitation et complexation extra-cellulaire

a-Adsorption par les polysaccharides excrétés

D'après J.Ricour et A.Lallemand-Barres (1996), l'adsorption est un processus par lequel un gaz, une phase vapeur, un produit dissous adhère à la surface d'un solide.

Le rôle du métabolisme microbien n'est pas toujours facile à cerner dans ce type d'interactions avec les métaux lourds. De nombreuses bactéries telle que *Arthrobacter viscosus* sécrètent des polysaccharides anioniques formant une matrice extra-cellulaire gélatineuse. Ces polymères sont responsables de la fixation de 30 mg de cadmium par gramme de biomasse sèche (Scott et Palmer, 1988).

b-La biomérialisation

Dans les milieux aquatiques naturels, les micro-organismes sont en grande partie responsables de la sédimentation des métaux lourds, par complexation mais aussi par précipitation d'oxydes de Fer et de manganèse (*Bacillus subtilis*), ou encore par formation de micro-fossiles de gypse (Ca SO_4) ou de calcite (Ca CO_3) (*Synechococcus*). L'addition de matières organiques (mélasse, boue activée) aux effluents d'industries d'extraction minière favorise le développement de ces micro-organismes et permet d'augmenter la précipitation des métaux.

1.2- Interaction indépendante du métabolisme

La rétention de cations métalliques par des biomasses mortes ou dénaturées a été mise en évidence depuis de nombreuses années. Presque tous les systèmes vivants possèdent ces propriétés de fixation passive vis à vis des métaux, mais certaines algues, bactéries ou champignons filamenteux présentent des capacités d'adsorption remarquables. Ces micro-organismes peuvent aussi même à l'état de biomasse morte avoir ces mêmes capacités d'adsorption des ions métalliques à partir d'une solution aqueuse (Fourest E. et al., 1996). Ressemblant, une grande attention est attirée vers l'application de ce phénomène comme étant un processus pour l'extraction des métaux lourds à partir des effluents industriels (Tobin et al, 1984 ; Gadd, 1989 ; Kuyucak et al, 1988, Fourest et Roux 1992). Ces propriétés sont dues essentiellement à la structure et à la composition chimique de leur paroi.

Le tableau 10 donne un aperçu des capacités d'adsorption de quelques métaux lourds par différentes biomasses. Ces résultats sont à comparer avec précaution car ils sont tirés de travaux variés effectués dans des conditions expérimentales différentes.

Tableau 10 : Quelques exemples de micro-organismes accumulateurs de métaux lourds et radionucléides (Gadd G.M,1993)

Micro-organisme	Elément	Adsorption (poids sec %)
<u>Champignon</u>		
Plasma sp	Argent	2
Penicillium sp	Uranium	8 -17
Rhizopus arrhizus	Cuivre	1,6
	cadmium	3
	Plomb	10,4
	Uranium	19,5
	Argent	5,4
	Mercure	5,8
Aspergillus niger	Uranium	21,5
<u>Levure</u>		
saccharomyces cerevisiae	Uranium	10-15
	Thorium	12
	Zinc	0,5
<u>Algue</u>		
Chlorella vulgaris	Or	10
<u>Bactérie</u>		
Thiobacillus ferrooxydans	Argent	25
Pseudomonas aeruginosa	Uranium	15

- Le mécanisme de complexation implique la formation d'au moins deux liaisons de coordination entre un cation métallique électro-attracteur , et un ligand bifonctionnel riche en électrons . Dans la paroi cellulaire des micro-organismes, la présence et la proximité de telle fonction favorise fortement la formation de complexes par l'intermédiaire de 2 à 4, voir 6 liaisons de coordination. Les composés ainsi formés peuvent avoir une grande stabilité, semblable à celles des liaisons covalentes .

2. Les mécanismes de biosorption sur les champignons filamenteux

2.1- La biosorption

Les parois de nombreux micro-organismes morts ou vivants tel que les bactéries, les levures, les algues et les champignons filamenteux, constituent des capteurs efficaces pour les cations en solution aqueuse, les métaux lourds notamment, extrêmement préoccupant pour l'environnement, peuvent être piégés efficacement par la biomasse sélectionnée (Roux J.C. et al., 1997).

Cette fixation est totalement passive dans le cas de micro-organismes morts, donc stockables à l'état sec. Elle est possible grâce aux radicaux carboxyles, sulfhydryles, phosphates amines et amides présents sur les parois cellulaires qui sont constituées de cellulose, de chitine, de chitosane, de glycane et de polyuronides en proportion variables suivant les types de champignons (Roux J.C. et al., 1993) (Figure 4).

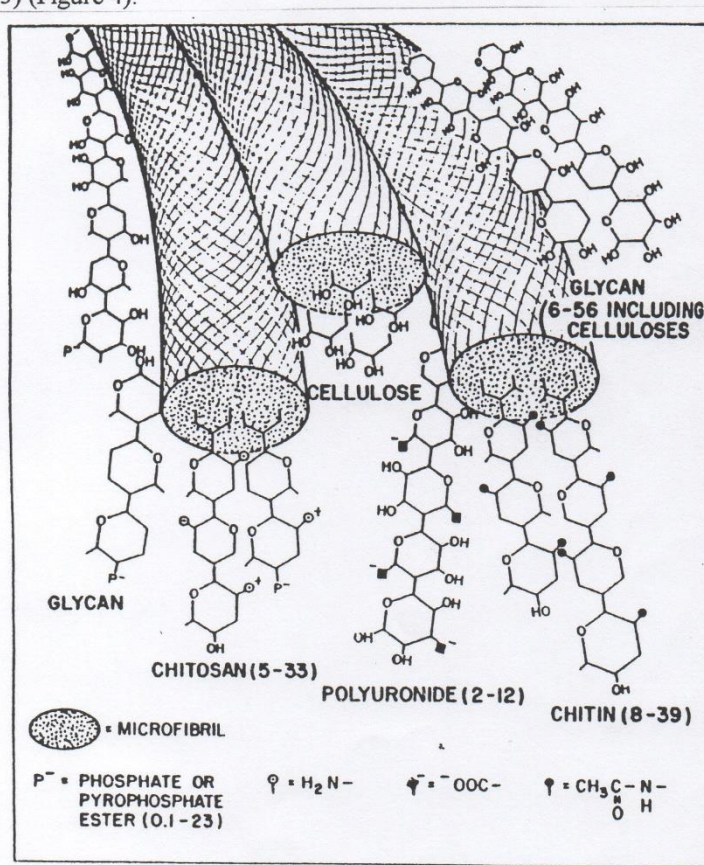


Figure 4 : Représentation schématique des principaux polysaccharides responsables de la biosorption des métaux par les parois fongiques.

Les chiffres entre parenthèse indiquent les écarts dans la composition des parois en %. Ne sont pas figurés les protéines (6 à 8 %), les lipides (3 à 11 %) et la mélanone (0 à 5 %) (Siegel et al., 1990)

La biosorption est définie par Amy et al. (1988) , comme l'accumulation de produits chimiques par une biomasse microbienne. Cette accumulation est due aux phénomènes d'adsorption qui ont lieu entre la surface de la biomasse et le liquide interstitiel (Challon G., 1996).

Dans le milieu aquatique, l'effet des polluants est hautement dépendant de leur comportement adsorptif . Car en plus de son effet important sur le transport physique du polluant, l'adsorption peut induire directement ou indirectement sa dégradation. La réactivité chimique du polluant au stade adsorbé peut varier significativement d'une solution aqueuse à une autre et il est vrai que le plus souvent, les adsorbants naturels peuvent indirectement moduler la réactivité chimique du polluant en modifiant sa concentration en solution.

Les adsorbants peuvent être d'origine naturelle, biotique ou abiotique, organique ou inorganique mais aussi de nature chimique. Dans le milieu aquatique, les adsorbants naturels sont composés de sédiment d'origine inorganique minérale et organique (détritus), de micro-organismes et de matériels humiques dissous (Huang J.P. et al. , 1991).

2.2- adsorptions sur des biomasses microbiennes

L'inactivation des biomasses microbiennes par diverses méthodes chimiques (formaldehyde) , physiques (stérilisation thermique , lyophilisation) et biologique (inactivation enzymatique) a permis de caractériser les mécanismes de biosorption comme le résultat de phénomènes passifs d'adsorption sur les différents constituants cellulaires .

Plusieurs paramètres peuvent affecter la biosorption :

- La concentration du biosorbant .
- La viabilité de la cellule.
- Le temps de contact.
- La température.
- La concentration en sorbate.
- Le pH .

La capacité d'adsorption de la biomasse est souvent corrélée à la composition en lipide de la biomasse et au coefficient de partition octanol - eau, qui mesure l'hydrophobicité du composé. En générale, une forte concentration en lipide dans la biomasse est un coefficient de partition octanol - eau pour le sorbate favorisent l'augmentation du degré d'adsorption. Le type de lipides membranaires présents ont aussi été rapportés comme un facteur important (Fourest E. 1993).

Des études en microscope électronique (Tzesos, 1993) ont permis de montrer que sur les champignons filamenteux tel que *Rhizopus anizus* , la fixation s'effectue exclusivement sur les parois cellulaires . Cependant, la diversité des constituants membranaires augmente la complexité des mécanismes intervenant dans la fixation. Ces remarques mettent bien en évidence l'extrême importance qu'il faut attacher à la structure des parois des cellules fongiques.

2.3 -Les Moisissures

2.3.1- Caractères généraux

Les champignons filamenteux sont des Eucaryotes non photosynthétiques et immobiles. Ils sont multicellulaires, leur structure est mycélienne et coenocytique. La paroi cellulaire responsable de la forme est riche en cellulose ou en chitine selon les groupes (cellulose chez Myxomycètes, Saprolegniales et Peranosporales, chitine chez les Mucorales, Ascomycètes et Basidiomycètes). Elle contient également en proportion variable des substances mucilagineuses, des polysaccharides, des substances pectiniques, des protéines, des pigments et de l'hémicellulose (Weil S., 1975).

2.3.1.1- Organisation fongique

Un champignon filamenteux est composé par un thalle de structure coenocytique. Une partie végétative assure le développement en puisant dans le milieu les éléments nécessaires à la vie du champignon. Des structures fructifères et reproductrices servent à la multiplication et à la dissémination de l'espèce. Ces structures sont d'origine végétative ou d'origine sexuelle (Guiraud J. et al., 1980).

2.3.1.2- Classification des champignons

Aux côtés des Myxomycètes constitués par une plasmode, on trouve les Eumycètes ou vrais champignons.

Les Eumycètes sont divisées en quatre classes : Les Phycomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et champignons imparfaits (Anonyme, 1997).

Les phycomycètes : - oomycètes
- Zygomycètes → Mucorales (Rhizopus, Phycomyces, Mucor...).

Les Ascomycètes : - Hemiascomycètes
- Euascomycètes → Aspergillaceae

Les Basidiomycètes : - Homobasidiomycètes
- Protobasidiomycètes → Uridinales, Ustilaginales.

Les Champignons imparfaits : ou Adélomycètes ou Deutéromycètes.

2.3.1.3- Métabolismes et propriétés

Les champignons filamenteux sont des hétérotrophes : certains vivent en symbiose, d'autres sont des parasites et d'autres sont des saprophytes.

Les champignons filamenteux sont aérobies, en général acidophiles (pH compris entre 3 et 7) et mésophiles température optimale : 20°C - 30°C. Cependant certaines espèces sont psychrophiles (se développent à basse température < 15°C), d'autres osmophiles.

Le métabolisme fermentaire peut être aérobie avec production d'acides organiques divers (acide citrique, gluconique, fumarique, oxalique et gallique) ou anaérobie facultatif (fermentation alcoolique ou lactique) (Guiraud J. et al., 1980).

2.3.1.4 - Tolérance des champignons vis à vis des métaux lourds

Les travaux de Horvath et al., 1992 ont montré que parmi les 82 souches isolées, il y a 52 tolérantes (0,5 - 2,0 g/l de concentrations d'ions métalliques : As^{5-} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} et Pb^{2+}).

Ces souches sont représentées par : 04 *Alternaria*, 22 *Aspergillus*, 04 *Cladosporium*, 14 *Penicillium*, 03 *Rhodotorula*, 01 *Stachybotrys*, 01 levure et 03 mycélium stériles (Horvath Z.S. et al., 1992).

Les champignons isolés à partir de l'air "non pollué" du laboratoire exhibent une tolérance considérable vis à vis des métaux lourds donc la tolérance spontanée ou constitutive des champignons est relativement élevée (Horvath Z.S. et al., 1992).

2.4- La paroi mycélienne

La paroi cellulaire est considérée comme le site principal et avec le quel l'ion métallique venant de l'environnement entre en contact en premier. La cellule fongique est protégée par une véritable paroi cellulaire aussi rigide que celle des bactéries mais aux caractéristiques chimiques et structurales différentes. Elle est constituée d'une série de couches de biopolymères glucidiques qui lui confère une certaine rigidité et elle assure un rôle de protection et d'échange entre la cellule et le milieu extérieur (Williams M. et al., 1988).

2.4.1- La composition chimique de la paroi mycélienne

Les champignons filamenteux sont caractérisés au stade végétatif par la possession d'une paroi cellulaire externe dont la composition et la structure conditionnent la morphogènes du mycélium.

Les polysaccharides représentent 80 à 90% du poids sec et sont répartis en deux catégories, fibrillaires ou amorphes (Cabib, 1988), différenciées selon leur solubilité dans une base diluée (NaOH 1, 0 N) (Griffin, 1981).

2.4.1.1 - Les composants structuraux

Insolubles dans NaOH 1, 0 N forment le micro-squelette fibrillaire de la cloison. On regroupe ici la chitine (β 1,4 N - acetyl D- Glucosamine), La cellulose (β 1,4 D - Glucose) et autres glycanes (β 1,3 et 1,6 D - Glucose) (Aronson J.M., 1965). Ces polysaccharides sont synthétisés et excrétés au niveau de la membrane plasmique grâce à des enzymes transmembranaires (Tableau 11).

Tableau 11 : La composition chimique de la paroi cellulaire de champignon sélectionné en % par poids sec de la paroi (Aronson J.M., 1965)

Souches Constituants	Saccharomyces cerevisial	Allomyces macrogynus	Mucor rouxii
Azote	2,1	5,5	-
Phosphate	0,31	-	23,3
Lipide	8,5	-	7,8
Protéine	13,0	10	6,3
Chitine	1,0 ^a	58	9,4
Chitosane	-	-	32,7
Glycane	28,8	16	-
Mannane	31,0	-	3,8
Autres hydrates de carbone	-	-	9,5
Cendre	-	8	2,0 ^b

a: Valeur fixée en % poids sec des parois.

b: Cendre totale, phosphate exclu.

2.4.1.2 -Les composants interstitiels

Solubles forment le ciment amorphe de la paroi : il s'agit essentiellement de polymères de α D - mannose ou de α D - glucose. D'autres sucres mineurs caractérisent les différents sous-groupes de champignons (galactose et galactosamine chez les ascomycètes, fucose et xylose chez les basidiomycètes, acides glycoroniques et galacturoniques chez les mucorales). Ces sucres sont très souvent associés à des protéines. Ils sont synthétisés au niveau du réticulum endoplasmique et mûrissent après excrétion dans l'espace périplasmique (Aronson J.M., 1965).

Les protéines entrant dans la composition de la paroi des champignons remplissent diverses fonctions. Associées aux polysaccharides, par des liaisons esters entre les radicaux carboxyles des acides aspartiques et glutamiques et les hydroxyles des polyosides, elles contribuent à la cohésion de la paroi. Greffées sur la face externe, elles servent d'antigènes de contact et de reconnaissance des cellules des organismes environnants. Elles assurent enfin des fonctions enzymatiques de dégradation et de transfert à travers la paroi fongique (Aronson J.M., 1965).

Les lipides sont des composants mineurs de la paroi cellulaire des champignons. Composés principalement d'acide gras saturés, ils constituent 2 à 8% du poids sec et confèrent à la paroi une certaine rigidité et hydrophobicité. La présence de phospholipides vient toutefois tempérer ce caractère hydrophobe (Aronson J.M., 1965).

2.4.2- Les Mécanismes d'adsorption

C'est 1976 qu'apparaît les premiers travaux qui montrent les possibilités d'utilisation des champignons filamenteux morts comme matériaux biosorbants pour récupérer les métaux lourds en solution (Jilek et al. , 1976).

Au début des années 80, le principe de la biosorption est repris par plusieurs auteurs pour son application dans le domaine stratégique de l'épuration des effluents des mines d'uranium.

Les travaux de Tsezos et Volesky, 1981 ont montré que l'adsorption de l'uranium et du thorium sur les biomasses fongiques industrielles dénaturées dépasse de loin les performances des charbons actifs et résines échangeuses d'ions.

Des liaisons de coordination se forment entre les cations métalliques et les fonctions amides et amines de la chitine ou du chitosane contenus dans la paroi de Rhizopus arrhizus. Ces complexes servent de sites de nucléation pour l'adsorption physique des ions $(UO_2)^{2+}$ ou leur précipitation sous forme d'hydroxydes d'uranyl (Tsezos et al, 1982 et 1983).

Inversement, E. Fourest, 1993 rapporte que Muraleedharan et Venkobachar (1990), ont montré que la prise du Cu (II) par le champignon Ganoderma lucidum peut faire seulement 10 % en présence de chitine et chitosane dans la paroi cellulaire.

La plus grande part de la prise résulte de l'adsorption des métaux par les autres groupes chimiques de la matrice tel que : carboxyl (exemple : pour Penicillium chrysogenum qui renferme dans sa paroi 0,39 mmol/g de COOH qui contribue à l'adsorption du zinc), sulfhydryle et phosphate ou par autre phénomène tel que précipitation du métal sur la paroi

3 - Intérêt biotechnologique

Les recherches actuelles sont classées en deux grands groupes, suivants qu'ils utilisent des micro-organismes vivants ou morts. Le tableau 12 récapitule les avantages et les inconvénients de ces deux solutions dans les procédés de récupération des métaux lourds en solution. Les arguments retenus sont bien sûrs discutables mais montrent les potentialités et les limites de ces procédés.

Tableau 12: Confrontation des procédés de biosorption et d'accumulation active (Macaskie , 1990)

Adsorption par des biomasses mortes	Accumulation par des micro-organismes vivants
<p><u>Avantages:</u></p> <p>1-Biomasse constante, insensible à la toxicité de l'effluent. Absence besoins en nutriments ou de produit de dégradation.</p> <p>2- Mécanisme d'accumulation sans contraintes physiologiques.</p> <p>3- Immobilisation de la biomasse non limitée par des contraintes de toxicité ou de température.</p> <p>4- Cinétique très rapide de type échange d'ions.</p> <p>5- Récupération possible des métaux.</p> <p>6- système modélisable.</p> <p><u>Inconvénients :</u></p> <p>1- Capacité d'adsorption limitée.</p> <p>2- Sensibilité au pH et à la forme chimique du métal.</p> <p>3- Absence de réactions d'oxydo-réduction.</p> <p>4- Pas de dégradation des composés organo-métalliques.</p> <p>5- Méconnaissance des molécules responsables de l'adsorption.</p> <p>6- Possibilités d'optimisation limitées.</p>	<p><u>Avantages :</u></p> <p>1- Système auto renouvelable par croissance des micro-organismes.</p> <p>2- Immobilisation de métal par modification chimique ou transport intracellulaire.</p> <p>3- Possibilité de dégradation des composés organo-métalliques par voie enzymatique.</p> <p>4- Optimisation du procédé réalisable par manipulation génétique du micro-organisme.</p> <p>5- Utilisation possible de plusieurs micro-organismes en synergie.</p> <p><u>Inconvénients :</u></p> <p>1- Toxicité des métaux. Nécessité d'étudier les souches résistantes.</p> <p>2- Nécessité d'adapter le débit au flux métabolique.</p> <p>3- Besoins en nutriments.</p> <p>4- Présence dans l'effluent de produits secondaires du métabolisme qui peuvent nuire à l'épuration ou solubiliser les métaux.</p> <p>5- Possibilité d'élution limitées si l'accumulation est intracellulaire.</p> <p>6- Modélisation difficile.</p>

DEUXIEME PARTIE

Matériels et méthodes

CHAPITRE 1

Matériel biologique

1-Description du site de prélèvements

1-1-laiterie de l'Edough (Orelait-Annaba)

1-1-1-localisation

Situé à 6 km au sud d'Annaba , sur la route d'el Hadjar au lieu dit « ALLALIGUE » elle a été mise en service le 20 novembre 1975 et occupe une superficie de 1200 m².

1-1-2-Activités

Production et commercialisation du lait et ses dérivés. les matières mises en œuvre sont :

- Lait en poudre (anhydre)
- Matière grasse du lait anhydre

Les produits chimiques utilisés pour le nettoyage des conduites et des bacs sont :

- Acide nitrique 3 tonnes /mois
- Soude caustique 3 tonnes /mois

1.1.3 Consommation en eau

L'unité consomme 1277 m³/j d'eau en provenance du réseau urbain ; cette eau subit une déchloration et un adoucissement.

2 - Evaluation qualitative des rejets

L'unité dispose d'un seul point de rejet. Les eaux usées sont évacuées dans l'oued Seybouse ces eaux ne subissent aucun traitement avant d'être rejetées ; elles sont composées de matières organiques principalement du lactosérum, qui est un liquide riche en protéine issu de la séparation du caillé maigre.

Ces rejets constituent une source de pollution importante du milieu récepteur, étant donné qu'ils modifient le pH de l'eau, en augmentant considérablement la DBO₅ et les matières en suspension dans l'eau .

La moyenne de la DBO₅ (432 mg/l) et la moyenne de la DCO (1374 (mg/l)) indiquent la présence d'une pollution de type organique, ces valeurs sont très élevées par rapport aux normes algériennes (Tableau 3, Chapitre 1 de la partie bibliographique)

2-1 – Microflore fongique isolée a partir des rejets de la laiterie de l'orelait

2.1.1 Prélèvement des échantillons

Les campagnes de prélèvements d'échantillon d'eau usées ont été faites à partir du collecteur principal de l'usine.

Deux campagnes de prélèvements en été effectués :

- Le 1^{er} : le 15 /03/97
- Le 2^{eme} : le 21/06/97

Avec une quantité fixe de 1 litre.

2.1.2- Préparation des échantillons

Après prélèvement, les échantillons sont pris au laboratoire de l'usine afin de mesurer le pH, la température, l'oxygène dissous et les matières en suspension. Puis transporter dans une glacière au laboratoire de l'institut pour effectuer les autres analyses.

Les échantillons bruts vont subir une dilution au 1/10^{ème} dans de l'eau physiologique (8 g/l de NaCl) .

2.1.3 -Technique d'isolement

Nous avons pratiqué deux types d'ensemencement : en profondeur et en surface, 2ml de chaque dilution est déposée au fond de la boîte de pétri.

-Cette inoculum est recouvert du milieu de culture.

-En surface : 2 ml sont déposés à la surface du milieu gélosé .

2.1.3.1 Préparation des milieux de culture (g/l)

• *Milieu Sabouraud*

Glucose	20 g
Peptone chapoteaut	10 g
Agar	15 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH	5,6

• *Milieu à l'extrait de malt*

Extra de malt	20 g
Agar	20 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH	5,6

• *Gèlose standard pour dénombrement*

Hydrolysate tryptique de caséine peptone	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1 g
Agar	9 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH	7

Tous les milieux sont stérilisés à l'autoclave à 120°C à pendant 20 mn (Botton B. *et al.* , 1990)

Afin d'inhiber la croissance des levures nous avons ajouté de l'actidione et du chloramphénicol à raison de 0,05 mg/l.

2.1.3.2 Incubation

Les boîtes de pétri sont incubées à différentes températures (25°C, 10 °C et 30°C).

2.1.4 Technique d'identification

Nous avons utilisé les milieux suivants :

• *Milieu de czapek (Dox , 1909)*

N _a NO ₃	2,0 g
KH ₂ PO ₄	1,0 g
Mg SO ₄ ,7H ₂ O	0,5 g
Kcl	0,5 g
FeSO ₄ ,7H ₂ O	0,01 g
Saccharose	30 g
Agar	20 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH	6,8

• *Milieu de czapek autolysat de levure-agar (Cya ;Pitt , 1973)*

K ₂ HPO ₄	1,0 g
Czapek Concentré	10 ml
Autolysat ou extrait de levure	5 g
Saccharose	30 g
Agar	15 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH	6,8

• *Milieu de czapek Concentré*

Na NO ₃	30 g
Kcl	5 g
MgSO ₄ ,7H ₂ O	5 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,1 g
Eau distillée qsp	100 ml

La microflore fongique des effluents de l'orelait est isolée sur milieu nutritif avec ensemencement en surface et un ensemencement en profondeur en boite de pétri , selon la méthode de warcup (Parkinson et Waid,1960)

2.1.5-Purification des souches

Afin d'obtenir une souche pure nous avons repiqué plusieurs fois les souches sur la surface d'un milieu gélosé (Botton B. et al,1990) .

2.1.6- Identification des souches

La détermination des moisissures fait appel aux caractères morphologiques. Elle nécessite le montage de préparations microscopiques.

Le matériel fongique est observé à l'état frais dans tous les cas en milieu liquide (liquide de montage) entre lame et lamelle.

Dans notre cas, nous avons utilisé comme liquide de montage le lactophénol.

2.1.6.1- Composition

Lactophénol

phénol pur cristallisé	10 g
Acide lactique	10 g
Glycérol pur	20 g
Eau distillée	10 g

Dissoudre à chaud le phénol dans l'eau , puis ajouter l'acide lactique et le glycérol . Nous avons utilisé pour l'identification de nos souches les clés suivantes :

- Introduction to Food-Borne fungi par Robert A. Samson, Ellen S.Hoekstra et Connie A.N.Vanoorschot , 1984
- Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle par B.Botton et al ,1990 .
- COMPENDIUM of soil fungi par K.H Domsch, W. Gams et Traute-Heidi Anderson, 1980.
- Moulds and filamentous fungi in technical Microbiology par Olga Fassatiouva, 1986 .

2.1.6.2- Critères d'identification des moisissures

L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie ,rarement à des propriétés biochimiques (Tableau 13).

Tableau 13 : Principaux caractères d'identification des moisissures

[19, 49, 121]

Caractères culturaux	Caractères morphologiques
<ul style="list-style-type: none">-Vitesse de croissance-Texture du thale (velouté, laineux...)-Couleur du thale (pigmentation du mycélium, couleur des conidies).-Couleur du revers de la culture et présence d'un pigment diffusible.-Odeur-Exsudat (gouttelettes transpirées par le mycélium aérien).	<ul style="list-style-type: none">-Etude microscopique du mycélium: absence ou présence de cloisons, couleur, ornementation des parois, largeur, mode de ramification des thallespores.-Nature des organes différenciés : zygospores, apothécies, clésthèques, préthèces, sporocystes, acervules, pycnides, sporodochies, cromies, cenidiophores, sclérotés.-Etude microscopique des organes différenciés et de leur contenu : forme, couleur, dimensions, texture des parois, ornementation .-Etude bionétique, en notant les valeurs extrêmes mesurées et les moyennes, tout particulièrement pour les cellules sporogènes et les spores.

2.1.7- Conservation des souches

Nous avons utilisé la méthode de conservation la plus simple et la plus communément utilisée et qui consiste à repiquer les champignons en tube sur gélose(milieu à l'extrait de malt) inclinée, tous les 8 à 10 mois. Après le repiquage, les cultures sont maintenues pendant 15 jours à une température de 25 C° , puis elles sont stockées au réfrigérateur pour garder leur viabilité et limiter les possibilités de variation.

CHAPITRE 2

La biosorption du mercure

Parmi les nombreuses souches isolées et identifier à partir des rejets de l'orelait nous avons orienté notre choix sur une seule espèce : *Aspergillus clavatus* , pour faire l'objet de nos expériences menées sur la tolérance des différentes concentrations du mercure et l'éventuelle adsorption de ce composé sur la paroi de ce champignon (Seigle S. M. et al., 1990).

Pour le déroulement de nos expériences, nous avons choisi deux (02) milieux de culture liquide différents. Ces expériences sont menées en système fermé et en équilibre.

1- Préparation des milieux de culture liquide

1.1-Milieu Czapek

La composition de ce milieu a été déjà citée au 2.1.4 du chapitre 1 de cette partie mais sans l'agar-agar .

1.2- Milieu M.B.S

Le milieu minéral unique appelé milieu de base salin (MBS) est utilisé pour les essais sur le mercure à différentes concentrations. Le milieu minéral est préparé selon la description donnée par Stucki et Alexander.

KCl	1000 mg
NaCl	1000 mg
(NH ₄) ₂ SO ₄	2000 mg
Na ₂ HPO ₄	2000 mg
Solution d'oligo- éléments	10 ml
Eau distillée qsp	1000 ml

• Solution d'oligo-éléments

Ca Cl ₂	40 mg
Fe Cl ₃	500 mg
Mn Cl ₂ ,H ₂ O	100 mg
Cu SO ₄	100 mg
Na ₂ MO ₄	100 mg
Zn Cl ₂	100 mg
Co Cl ₂ ,6 H ₂ O	100 mg
H ₂ SO ₄	0,2 ml
Eau distillée qsp	1000 ml

• Source de carbone

Acide acétique	1g /L
----------------	-------

Les deux milieux sont stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

2- Préparation de la suspension de spores

2.1- Séparation des spores du mycélium

Après sporulation, nous raclons la surface du mycélium contenu dans la boîte de Pétri à l'aide d'un bistouri stérile. Les spores récoltées sont immergées dans 50 ml d'eau distillée stérile, que nous faisons ensuite passer sous ultrason pendant 60 secondes. Nous obtenons alors une suspension de spores axénique.

2.2- Etalonnage et conditionnement de la suspension de spores

La suspension de spore obtenue est mise sous agitation magnétique. Nous procédons ensuite au comptage sur cellule de Malassez et nous ajustons à environ $5 \cdot 10^6$ spores/ml après dilution de la suspension.

A l'aide d'une seringue, la suspension ajustée est répartie dans des tubes à essai et conservée à température ambiante. La suspension de spores ainsi obtenues servira à l'ensemencement des cultures (figure 5) (Challon G., 1996 modifier).

3- Etude de la croissance d'*Aspergillus clavatus* et de l'adsorption en présence de différentes concentrations de mercure

3-1- Protocole expérimental

A chaque milieu de culture, une concentration est ajoutée du mercure sous forme de chlorure de mercure.

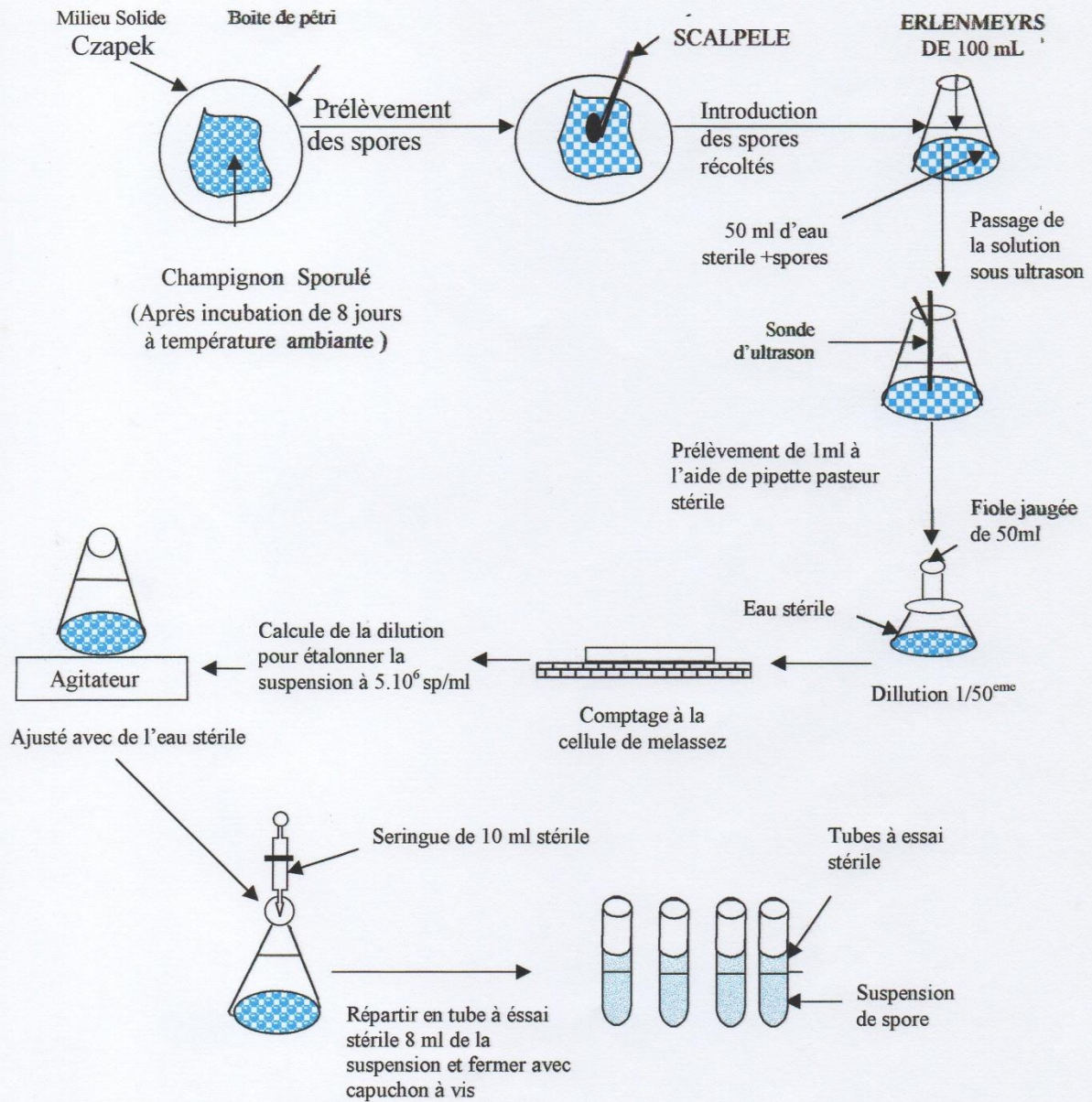
les concentrations choisies sont :

- 10 $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $5 \cdot 10^2$ $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $1 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $2 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $3 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $4 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/L}$ de Hg
- $5 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/L}$ de Hg

Nous avons respecté les conditions d'asepsie. La culture se fait dans des erlén Meyer de 250 ml fermés.

Nous préparons pour chaque concentration de mercure : 05 erlén Meyer une série d'erlènes correspondant aux jours d'incubation (chaque jour un erlén et ce pour chaque milieu czepek et MBS).

Dans chaque erlénmeyer, nous versons 200 ml de milieu de culture. Nous inoculons avec 1 ml de la suspension de spores ($5 \cdot 10^6$ spores ml^{-1}).



Nb : Avant d'inoculer les spores , il faut mettre la suspension sous ultrason pendant 60 secondes , afin de désagréger les amas de spores sans altérer leur structure par une exposition prolongée .

Figure 5: Description des étapes de préparation de la suspension de spores

Les erlènes sont fermés avec du coton pour permettre les échanges gazeux.
Ils sont ensuite placés à température ambiante ; celle -ci varie généralement autour de 25 °C pendant cinq jours .

Chaque jour, nous prélevons un erlène pour faire les analyses suivantes :

- pH,
- conductivité,
- poids sec (biomasse),
- dosage du mercure résiduel,
- contrôle de la viabilité.

CHAPITRE 3

Méthodes de dosage

1-Mesure du pH

Nos expériences sont menées à pH libre. La valeur du pH est relevée chaque 24 h pendant les 05 jours d'incubation afin de déterminer la variation du pH. Nous avons utilisé un pH mètre digital préalablement étalonné à pH 4-7 et 10.

2-Mesure de la conductivité

Elle est relevée chaque jours pendant 05 jour à l'aide d'un conductivimètre La conductivité est calculée par l'équation suivante :

$$C.E = \frac{C.E \text{ lue} \times F(t)}{K}$$

C.E : conductivité électrique

F(t) : facteur de température

K : constante = 0.63

La conductivité reflète l'aptitude d'un liquide à transporter le courant électrique. Les variations de conductivité dans les eaux sont liées aux variations de concentration en matière organique. La minéralisation de l'eau augmente sa conductivité (Rodier , 1978) .

3-Détermination du poids sec (la biomasse)

Après 24 heures, le contenu d'un erlénmeyer est filtré sur du papier filtre que nous mettons à sécher à l'étuve pendant 24 heures à 60°C. Par cette mesure nous déterminons l'évolution du poids de la biomasse pendant les jours d'incubation.

4-Détermination de la viabilité du champignon

Après chaque culture de 24 heures, nous procédons au test de viabilité du champignon. Le test consiste à prélever de l'erlénemeyer 2ml du milieu qu'on met dans une boîte de pétri coulé en warcup. Le milieu de culture czapek solide et la boîte de pétri sont mis en culture dans l'étuve à 25 °C pendant 5 jours (96 h). Après incubation, nous procédons à la lecture de la boîte.

La croissance du champignon sur le milieu solide, nous indique la viabilité de la biomasse fongique en fonction de la concentration initiale du mercure et du temps de contact mercure – biomasse (Challon G., 1996).

5- Dosage de l'oxygène dissous

Les eaux résiduaires du rejet de l'unité Orelait ont subi un dosage de l'oxygène dissous a fin de déduire la qualité des eaux dans les quelles vivent les champignons filamenteux.

Le dosage est fait à l'aide d'un oxymètre portable.

Principe :

La réduction de l'oxygène au niveau d'une cathode convenable engendre un courant proportionnel à la pression partielle d'oxygène dans un solution (Rodier , 1978) .

6-Détermination des matières en suspension (MES)

a/ préparation de l'échantillon

Débarrasser l'échantillon des éléments grossiers au moyen d'un tamis à mailles carrées de 5mm de coté (modèle AFNOR N° = 38). En présence de graisse et d'huiles, homogénéiser l'eau brute tamisée.

b/ Mode opératoire

La détermination des matières en suspension dans les eaux usées se fait soit par filtration sur membrane, soit par centrifugation. Pour notre travail nous avons choisi la méthode par centrifugation.

Cette méthode consiste à conserver les eaux issues des opérations de centrifugation pour la détermination des matières en solution.

Une calcination à $525 \pm 25^{\circ}\text{C}$ permet d'obtenir par différence la teneur en matières organiques(Rodier, 1978) .

7- Dosage du mercure

7.1- Technique de dosage

La méthode la plus couramment utilisée dans la plupart des travaux publiés récemment et celle que nous avons retenue dans notre travail ; c'est la spectrométrie d'absorption atomique sur vapeur froide (MAS -50). Cette technique offre un dosage avec une excellente précision ; elle est relativement sensible, rapide et simple (Forest E., 1993).

Le dosage du mercure dans le milieu liquide nécessite un traitement préalable c'est la minéralisation.

7-2 Minéralisation de l'échantillon

Introduire 1ml de l'échantillon à minéraliser dans une fiole de 100 ml à col rodé, en lui ajoutant successivement :

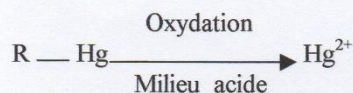
- 6ml d'eau distillée acidifiée à l'acide nitrique (37%) à 1% (V/V)
- 4ml de H_2SO_4 (d = 1.84) pure
- 1ml de KMnO_4 à 1.5 % (p/p)

En fermant hermétiquement la fiole de 100 ml avec un bouchon en verre, nous agitons fortement pour homogénéiser son contenu (en effectuant simplement un mouvement gigatoire sans dépasser le début du col de la fiole).

La fiole avec son contenu est placée dans l'étuve à 50°C pendant 24 heures. Après cette durée, le matériel est normalement minéraliser et la solution dans la fiole devient limpide et de couleur rosâtre. La fiole devient limpide et transparente qui est généralement notre cas à cause de la richesse du milieu en matière organique, nous ajoutons 1 à 2 gouttes de KMnO_4 que nous laissons réagir à 50 °C pendant 2 heures de temps.

7-3 Principe du dosage du mercure

La méthode de dosage du mercure total par absorption atomique sans flamme implique une digestion oxydative de l'échantillon par le permanganate de potassium en milieu fortement acide pour transformer toutes les formes du mercure en mercure bivalent.



Après oxydation les composés mercuriques sont réduits en mercure élémentaire par un réducteur puissant : le chlorure stanneux , à température ambiante .



Les vapeurs de Hg sont entraînées par un courant gazeux à travers la cellule de mesure. L'absorbance mesurée est proportionnelle à la quantité de Hg contenu dans le volume de l'échantillon.

Cette méthode à été mise au point par (Hatch et al, 1968, Fenet, 1979), (in Baillargeon G.,1995).

7-4 Description de l'appareil (MAS 50)

L'appareil utilisé est un analyseur de mercure MAS -50 de type Perkin Elmer LTD muni d'une mémoire qui fixe automatiquement la transmittance au maximum (figure 06).

Il est composé d'une lampe à vapeur de mercure et un phototube qui détecte la raie de raionnement du mercure à une longueur d'onde $\lambda = 255.7 \text{ nm}$, émise par la lampe , entre les deux s'installe une cellule à fenêtre en quartz . Une pompe fait circuler l'air dans le système bouclé à travers la solution. Le flacon analyseur est un flacon en pyrex fermé par un bouchon rodé.

7- 5 Etalonnage de l'appareil (MAS 50)

Avant de procéder au dosage du mercure dans les échantillons, il faut d'abord établir une courbe d'étalonnage à partir de solution de concentration connue en mercure.

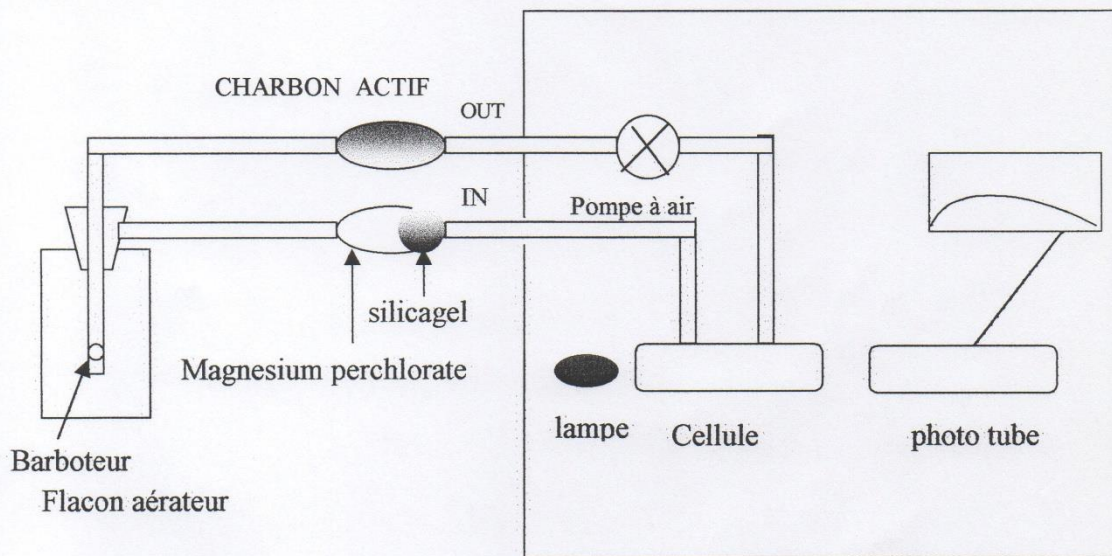


Figure 6 : schéma de l'appareil MAS-50 (Baillargeon G. , 1995)

Nous avons établi une courbe d'étalonnage pour vérifier la linéarité des différents points, les échantillons de référence sont préparés à partir d'une solution standard à 1g/l. Les dilutions sont effectuées couvrant la gamme des teneurs dosable avec l'appareil. 100 ml des solutions de référence dont la teneur en mercure est connue sont additionné de :

- 1 ml de permanganate à 5%
- 5 ml d'acide nitrique normalité 5,6
- 5 ml d'acide sulfurique normalité 18.

Le mélange est homogénéisé par agitation puis laissé deux heures à froid avant l'addition d'une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 1,5 % afin de détruire l'excès de permanganate de potassium. La réduction de Hg se fait par addition d'une solution de chlorure stanneux à 10 % immédiatement le bouchon doit être remis en place, cette dernière étape doit se faire juste avant la mesure dans l'appareil.

La transmittance lue est convertie en absorbance qui est proportionnelle à la concentration.

$$\text{Abs} = 2 - \text{Log}_{10} T$$

Avec :

Abs : Absorbance

T : Transmittance

Tous les produits utilisés lors de notre travail doivent être d'une pureté analytique reconnue et dont la teneur en Hg est aussi faible que possible.

7-6 Dosage du mercure dans l'échantillon

Dans le flacon de dosage au quel peut s'adapter le dispositif de barbotage, nous mettons 100 cm³ de l'échantillon d'eau à doser, puis nous ajoutons successivement :

- 2 gouttes d'une solution de permanganate de potassium à 5%
- 5 cm³ D'acide nitrique (HNO₃) à 5,6 N
- 5 cm³ D'acide sulfurique (H₂SO₄) à 18 N

Le mélange est homogénéisé par agitation, puis laissé deux heures à température ambiante. Le mercure est ainsi oxydé en Hg⁺⁺

L'excès de permanganate de potassium est ensuite détruit par 5 cm³ de chlorhydrate d'hydroxylamine (NH₂OHCl) en solution à 1,5 %.

Les tubes d'entrée et de sortie de l'air sont mis en communication avec l'analyseur.

Le mercure est alors réduit en mercure métallique par 5cm³ d'une solution de chlorure stanneux à 10 % en milieu chlorhydrique 3,6 N.

Le dispositif de barbotage d'air (aérateur) est alors immédiatement mis en place et la pompe assurant la circulation d'air mis en marche entraîne le mercure vaporisé dans la cellule de mesure.

Nous observons sur le cadran du galvanomètre une montée de l'aiguille jusqu'à la valeur maximale.

La transmittance maximale lue sur l'appareil est convertie en absorbance en utilisant la formule précédemment citée :

$$\text{Abs} = 2 - \text{Log}_{10} T$$

Les résultats sont ensuite lus sur la courbe d'étalonnage en µg de Hg.

TROISIEME PARTIE

Résultats et discussions

CHAPITRE 1
Moisissures isolées et identifiées à
partir des rejets de l'Orelait

1- Analyses physico – chimiques des eaux de rejet de l'Orelait

Les deux compagne de prélèvements que nous avons effectué, ont subi des analyses physico –chimiques dont les résultats sont présentés au tableau 14.

Tableau 14: Paramètres physico- chimiques des rejets de l'Orelait

Date de la Compagne / Paramètre	pH	Température (°C)	O ₂ dissous (mg/l)	M.E.S (mg/l)
1 ^{er} Compagne 15.03.97	7,01	21,4	2,20	53
2 ^{ème} Compagne 21.06.97	8,70	28.6	0.15	89

Remarque : Les résultats représentent la moyenne de trois prélèvements .

Ces résultats montrent que le pH est presque dans la limite de la norme algérienne sauf pour le cas du 2^{ème} prélèvement qui présente une légère augmentation, pH 8,70.

Les deux températures sont au-dessous de la limite de la norme algérienne

L'oxygène dissous est présent en faible quantité au 2^{ème} prélèvement par- rapport au 1^{er} prélèvement même chose pour les matières en suspension. Les valeurs de ce dernier paramètre sont au-dessus de la limite de la norme algérienne.

Les rejets de l'orelait pendant la période de prélèvement sont très chargés en matière en suspension et présentent un taux d'oxygène dissous très faible pendant la saison chaude, ce qui favorise l'installation de micro-organisme non exigent. Les eaux résiduaires de l'orelait présente une pollution organique.

2-Nombre de souches fongiques isolées en fonction de la température

Pour le comptage de la mycoflore totale des prélèvements, nous avons utiliser :
Trois températures d'incubation (ambiante : varie entre 21 et 25 °C, 10°C et 30 °C).

Nous avons pu compter 141 souches au total ; pour deux prélèvements et a des différentes températures (Tableau 15).

Tableau 15: Variation du nombre des moisissures en fonction de la température

Température d'incubation / Date de la campagne	10° C	Ambiante	30°C	total
1 ^{er} campagne	27	33	30	90
2 ^{ème} campagne	18	09	24	51
Total des souches	45	42	54	141

Les résultats obtenus montrent bien que les conditions climatiques et la nature des rejets de l'orelait au moment du premier prélèvement se sont montrés très favorables à la culture et à l'isolement

d'un nombre important de souche .

Aussi, le choix des deux dates des deux campagnes de prélèvement est très judicieux puisque durant le mois de mai et le mois de juin la température ambiante est comprise entre 20 et 30°C. Température favorable au développement des moisissures.

3-Moisissures isolées et identifiées .

Parmi les 141 souches isolées, nous avons pu identifier que 27 espèces fongiques selon les caractères cultureux et morphologique (Tableau 16).

Suivant ces résultats, nous avons remarqué que le groupe des Mucidinées est majoritaire par rapport aux autres groupes. Si nous les classons par ordre décroissant nous aurons :

Mucédinées > Zygomycètes > Dématiées > Ascomycètes , Hyphomécètes et Tuberculariales .

Nous avons pu mettre en évidence, 14 genres de champignons. Il y a des genres représentés par plusieurs espèces et il y a d'autres genres représentés que par une seule espèce nous citons : le genre *Penicillium* présent avec 06 espèces (genre dominant) , suivi par le genre *Aspergillus* et *Mucor*, tous les deux sont représentés avec 04 espèces chacun . Puis viennent les genres *Acremonium* et *Fusarium* avec deux espèces. Les genres restants, ils ne sont représentés que par une seule espèce (Tableau 17).

**Tableau 16: Liste des souches identifiées dans
les rejets de l'orelait .**

N°	Souches
01	<i>Aspergillus niger</i>
02	<i>Aspergillus clavatus</i>
03	<i>Aspergillus terreus</i>
04	<i>Aspergillus fumigatus</i>
05	<i>Acremonium roseum</i>
06	<i>Acremonium maseei</i>
07	<i>Alternaria sp</i>
08	<i>Fusarium solani</i>
09	<i>Fusarium moliniforme</i>
10	<i>Geotricum candidum</i>
11	<i>Gliocladium virens</i>
12	<i>Hunicola grisea</i>
13	<i>Mucor hiemalis</i>
14	<i>Mucor phumbeus</i>
15	<i>Mucor racemosus</i>
16	<i>Mucor circinelloides</i>
17	<i>Paecilomyces variotii</i>
18	<i>Penicillium corylophilum</i>
19	<i>Penicillium cyclopium</i>
20	<i>Penicillium expansum</i>
21	<i>Penicillium olsonii</i>
22	<i>Penicillium pinophilum</i>
23	<i>Penicillium rasedarum</i>
24	<i>Phialophora hoffmannii</i>
25	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
26	<i>Talaromyces trachyspermus</i>
27	<i>Trichoderma komingii</i>

**Tableau 17 : Répartition des moisissures
isolées en genres.**

Genre	Nombre
Penicillium	06
Mucor	04
Aspergillus	04
Acremonium	02
Fusarium	02
Alternaria	01
Geotricum	01
Gliocladium	01
Humicola	01
Paecilomyces	01
Phialophora	01
Syncephalastrum	01
Talaromyces	01
Trichoderma	01

Les conditions écologiques qu'offre les eaux résiduaires de l'unité de l'Orelait (Pollution, charge organique de l'eau,...etc) ont certainement imposé une pression de sélection de certains genres de moisissures.

Plusieurs travaux ont été mené sur le genre *Aspergillus* mais l'espèce « *clavatus* » à été reconnue pour son affinité au mercure (Siegel S.M et al , 1990).

3.1 – *Aspergillus clavatus*

Caractérisés par une tête conidiennes gris-bleu, verdâtre pale, allongées, unisériées, se scindant en plusieurs colonnes sporales divergentes. Conidiophores hyalins lisses. Vésicules claviformes. Phialides de taille variable suivant leur position sur la vésicule. Conidies elliptiques, lisses (Figure 7) (Botton B. et al., 1990).

-Habitat : cosmopolite excrément, sol, matière végétales en décomposition aptitude à se développer sur des substrats très alcalins et riches en azote et à tendance basifier fortement les milieux (pH 9,5) (Botton B. et al., 1990).

-Toxicité : Elabore de la clavacine, très toxique pour les animaux (Botton B. et al., 1990).

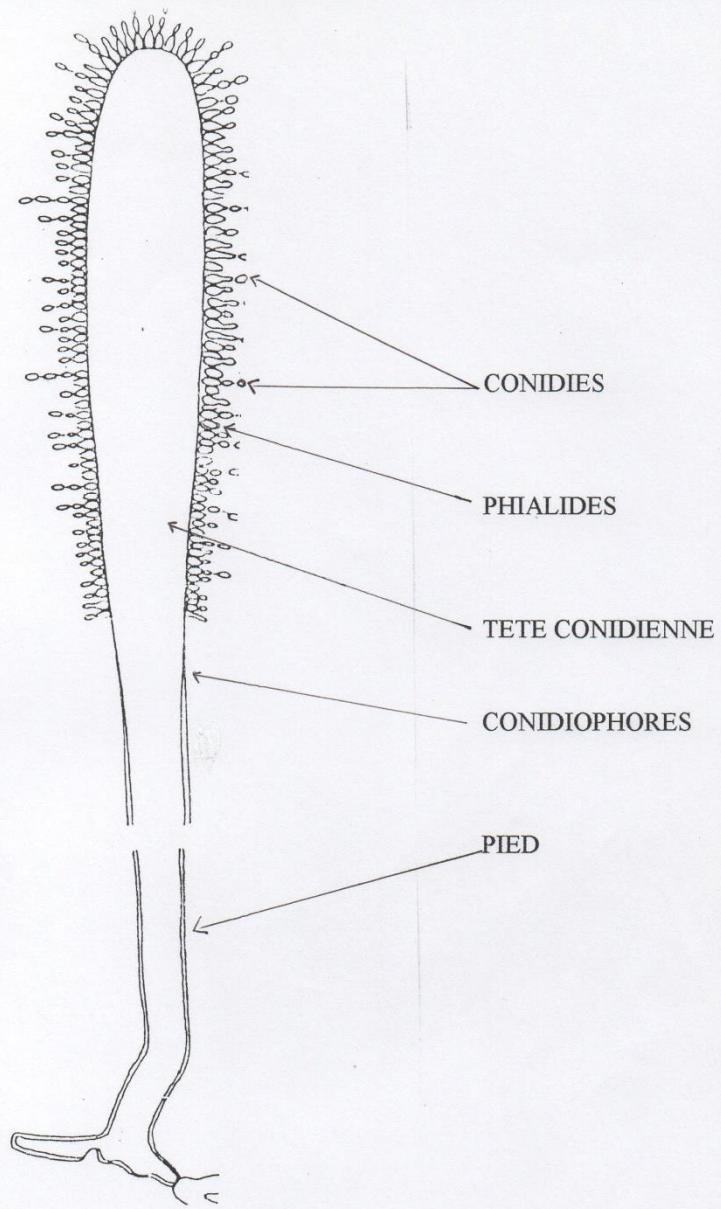


Figure 7 : Description de l'aspect morphologique d'*Aspergillus clavatus* (Botton B, et al . , 1990).

I-La biosorption du mercure à pH libre

Au cours des cinétiques d'adsorption, nous avons constaté que le pH évoluait parallèlement à la quantité de métal fixée.

Le pH initial des milieux en présence d'*Aspergillus clavatus* à raison de $5 \cdot 10^6$ spores/ml est de 5,5 pour le milieu MBS et de 6,8 pour le milieu Czapek .

Sur la figure 8, nous pouvons relever la variation du pH témoin (sans mercure) des deux milieux de culture qui suit une évolution similaire ; c'est à dire il diminue les premières 24 heures , puis augmente le reste du temps d'incubation .

Notre champignon croit de façon normale dans les deux milieux cas le pH a tendance à s'élever ; d'après Botton B. et al, 1990 cette espèce fongique a la capacité de basifier le milieu de culture.

La valeur du pH à l'équilibre dépend de la quantité de mercure initialement introduite.

Cette variation du pH correspond probablement à un réajustement des équilibres acido-basiques suite à la complexation des groupements fonctionnels de la biomasse par des cations métalliques Ruthven D..M. (1984).

L'addition de métal, entraîne une diminution rapide du pH dans un premier temps, suivie d'une évolution plus lente le reste du temps (figure 09). L'évolution est très visible entre le pH des deux milieux de culture.

En parallèle, l'adsorption du métal est très rapide en milieu MBS qu'en milieu Czapek et cela en présence de $10 \mu\text{g/l}$ de Hg au départ (figure 10).

Donc, nous pouvons bien voir sur les deux figures 09 et 10 que le pH est un facteur qui joue un rôle important sur la capacité d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* , nous relevons aussi que l'adsorption augmente au fur et à mesure que le pH augmente aussi (cas du milieu MBS).

A la concentration de $5 \cdot 10^2 \mu\text{g/l}$ de Hg mise initialement dans les deux milieux, le pH a toujours tendance à s'élever au cours du temps d'incubation mais avec une différence que nous montre la figure 11 au niveau des deux milieux : Le pH du milieu czapek s'élève plus que celui du milieu MBS .

Nous constatons que l'adsorption du mercure à cette concentration est plus rapide et plus élevée en milieu Czapek qu'en milieu MBS (figure 12) . Cette concentration se montre favorable à la croissance d'*Aspergillus clavatus* dans le cas du milieu Czapek .

En présence de cette concentration $1 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$ de mercure, le pH du milieu czapek ainsi que celui du milieu MBS n'évolue pas (figure 13).

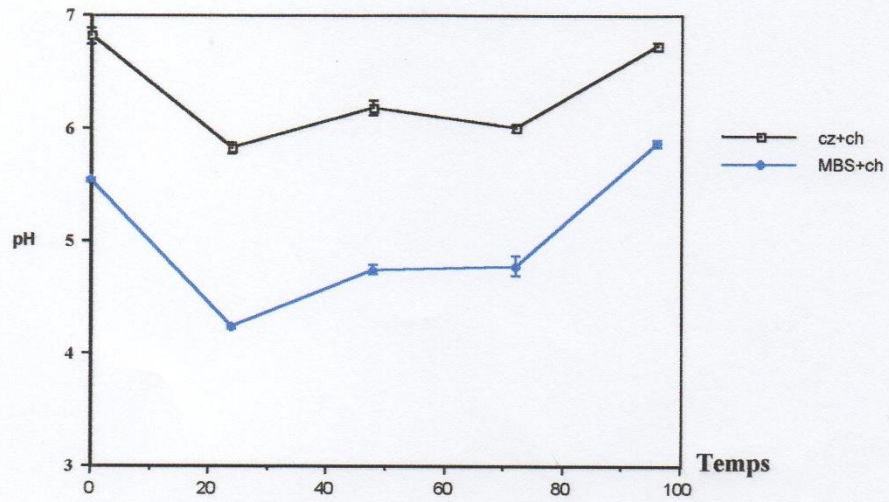


Figure 8: Variation du pH des milieux en fonction du temps d'incubation

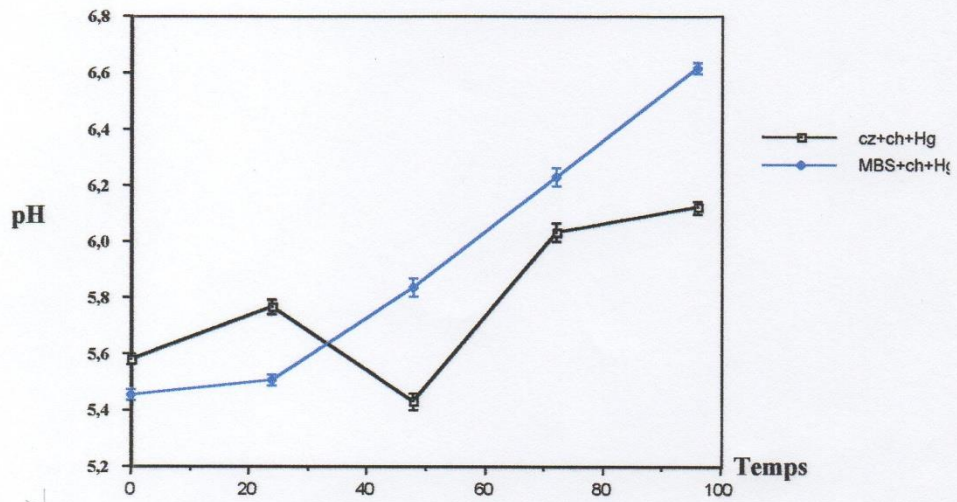


Figure 9: Variation du pH des milieux en présence de 10 µg/l de Hg et en fonction du temps d'incubation d'A.clavatus.

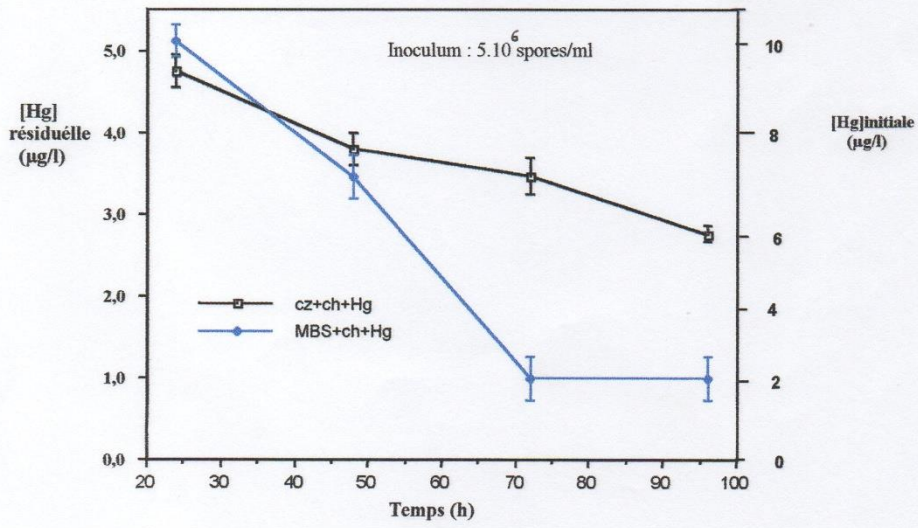


Figure 10 : Mesure du mercure résiduel en du temps d'incubation d'A. clavatus .

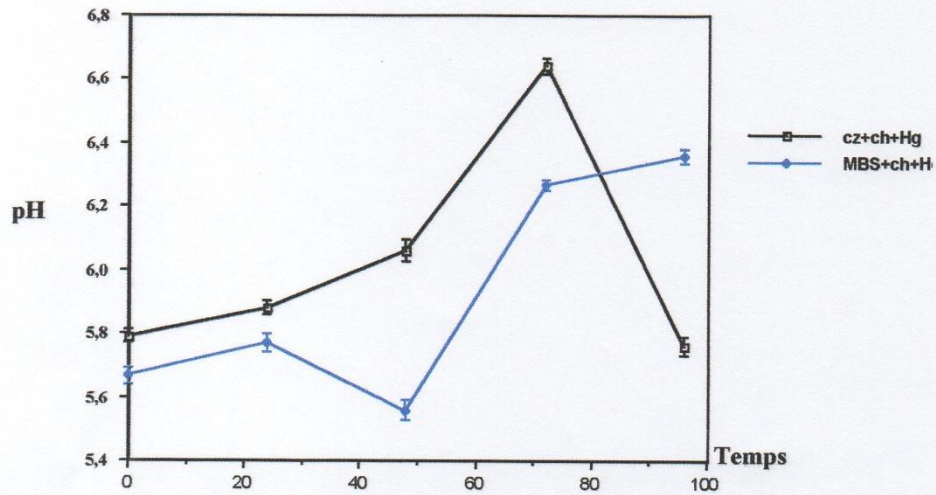


Figure 11: Variation du pH des milieux en présence de $5.10^6 \mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d'*A.clavatus*.

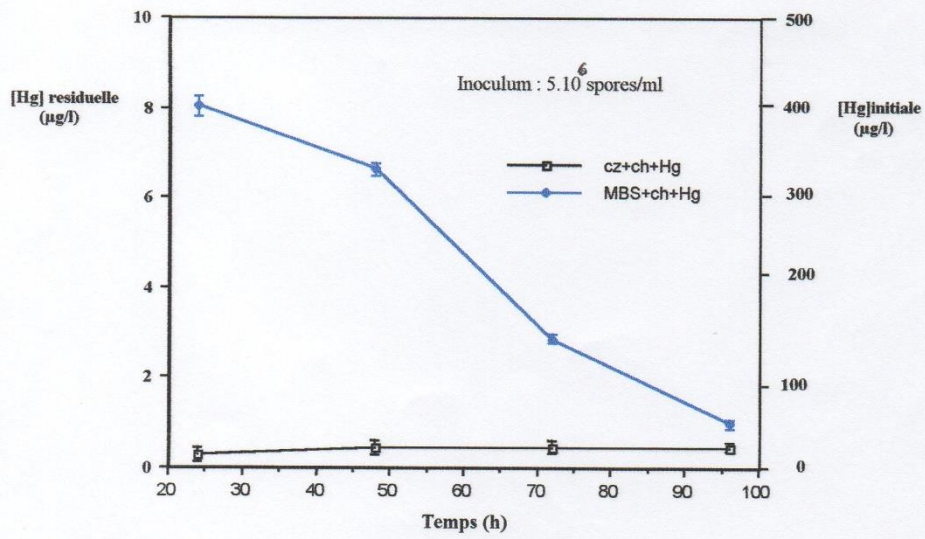


Figure 12 : Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'*A. clavatus*.

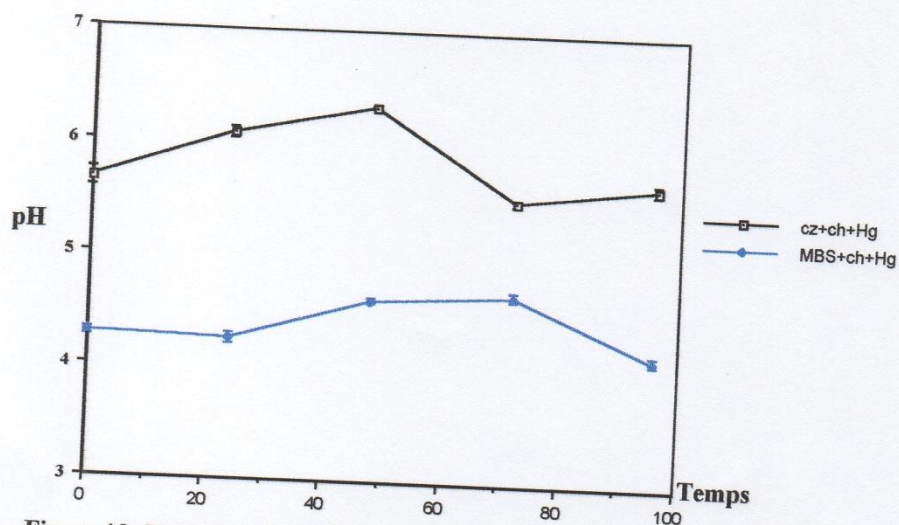


Figure 13: Variation du pH des milieux en présence de $1.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg et fonction du temps d'incubation d'A.clavatus.

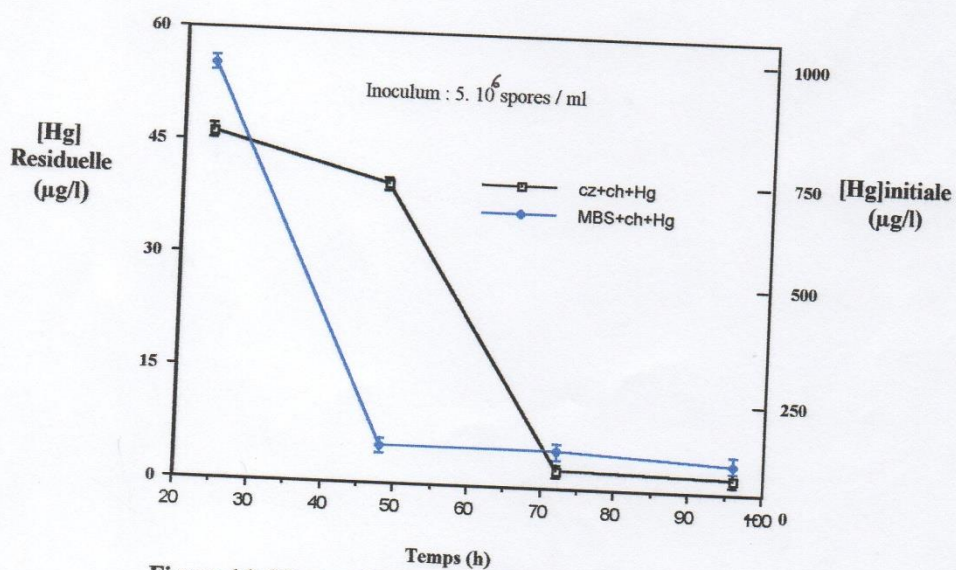


Figure 14: Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'A.clavatus.

Alors que la phase d'adsorption pour les deux milieux évolue très bien , et nous obtenons une bonne adsorption en 48h (MBS) et 72h (czapek) respectivement (figure14)

En présence de $2.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg les deux milieux présente des pH tres differents le pH du milieu MBS reste presque stable au cours du temps par apport au pH témoin.

Alors qu'en milieu czapek , on note une perturbation au niveau du pH et après 72h il se stabilise autour de 8,5 puis chute .

En effet les travaux de Burgstaller W. et al, 1993 ; un grand nombre de métaux lourds à concentrations élevées lorsqu'ils sont introduit dans le milieu, font augmenter le pH du milieu (figure 15) .

Cette différence relevée sur les pH des deux milieux présente une influence directe sur le taux d'adsorption du mercure.

Aspergillus clavatus a pu adsorbé presque la totalité du mercure initialement introduit $2.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg (99%) (figure 16) et inversement, cette fois ci l'adsorption du mercure n'est pas remarquable en milieu MBS.

A $3.10^3 \mu\text{g/l}$ de mercure, le pH du milieu MBS reste inchangé (très acide : au-dessous de 5) (figure17). Par contre le pH du milieu czapek est basique pendant les premiers temps d'incubation (entre 0 et 24 heures) puis il s'acidifie (pH=5) progressivement.

Le pH des milieux semble influencer et d'une manière très significative l'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* et cela est bien montré sur la figure 18 qui révèle l'adsorption presque complète des $3.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg , dans le milieu czapek par contre la concentration résiduelle du Hg dans le MBS reste élevée .

A partir de cette concentration de mercure ($2.10^3 \mu\text{g/l}$) et plus 4.10^3 et $5.10^3 \mu\text{g/l}$ nous pouvons adopter le même raisonnement.

-Le pH du milieu MBS reste inchangé donc très acide (entre 4 et5) voir figure 19 et 21.

-Le mercure résiduel est plus en plus élevé en milieu MBS donc le pH acide réduit le taux d'adsorption du mercure par le biosorbant *Aspergillus clavatus* , de même que l'élévation de la concentration initiale du mercure (figure20 et 22) .

Par contre le milieu czapek offre un pH basique à neutre et cela surtout les premiers temps là ou l'adsorption se fait au maximum. Les travaux de Kapoor et al , 1995 révèlent que la prise des métaux lourds par les cellules fongiques est très rapide et qu'environ 90% du métal est adsorbé à partir des premiers 10minutes. Même chose est trouvé dans les travaux de Roux J.C. et al 1990 :

-l'adsorption des métaux lourds est très rapide et la majeure partie est adsorbée dans les 10 premiers minutes,

-le pH optimal pour une adsorption parfaite est de 7.

Ces deux paramètres sont bien visibles sur les résultats des figures 20 et 22.

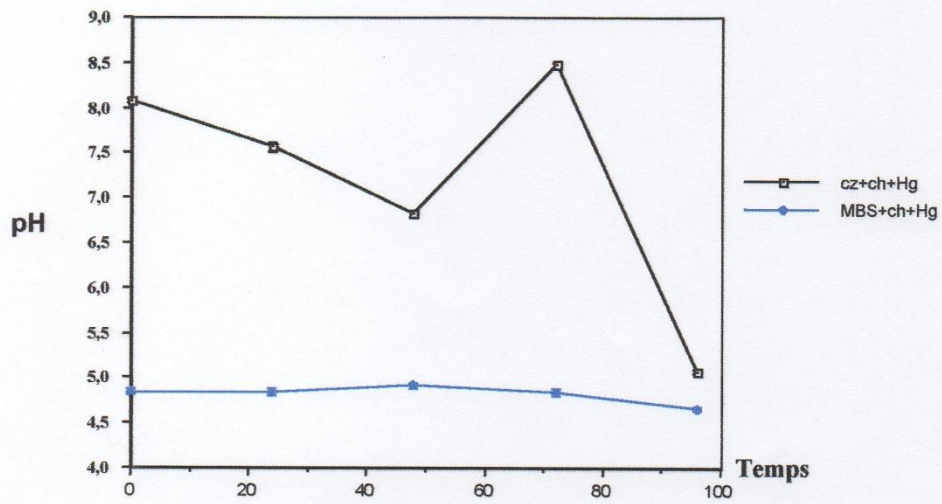


Figure 15 : Variation du pH des milieux en présence de $2.10^6 \mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d'A.clavatus.

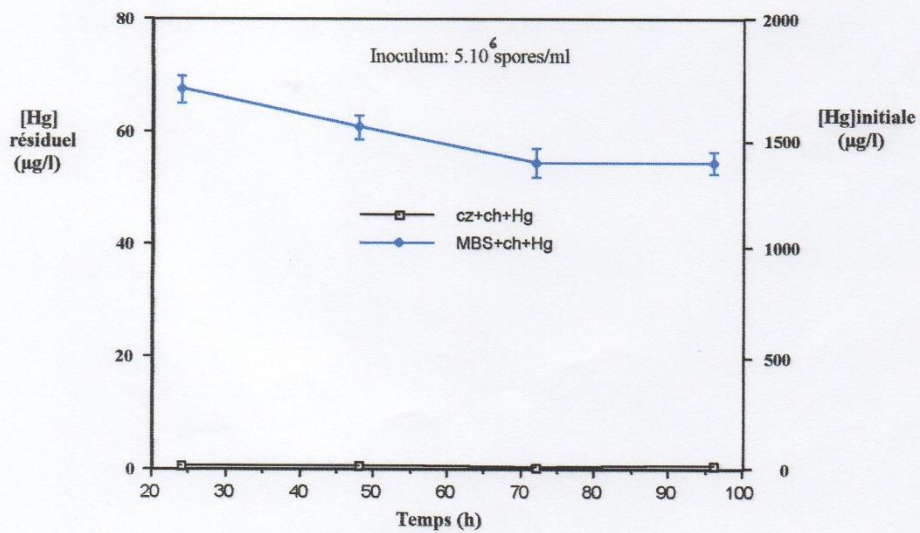


Figure 16: Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'A. clavatus.

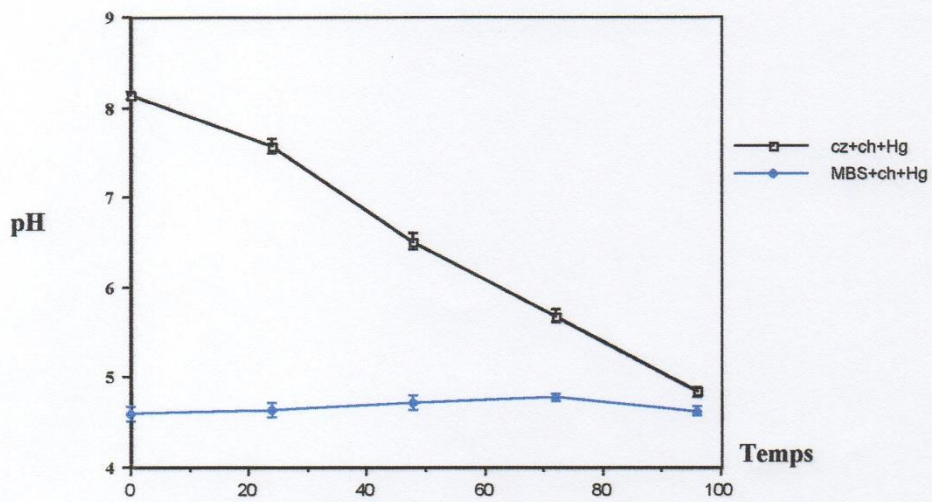


Figure 17: Variation du pH des milieux en présence de $3.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d'*A.clavatus*.

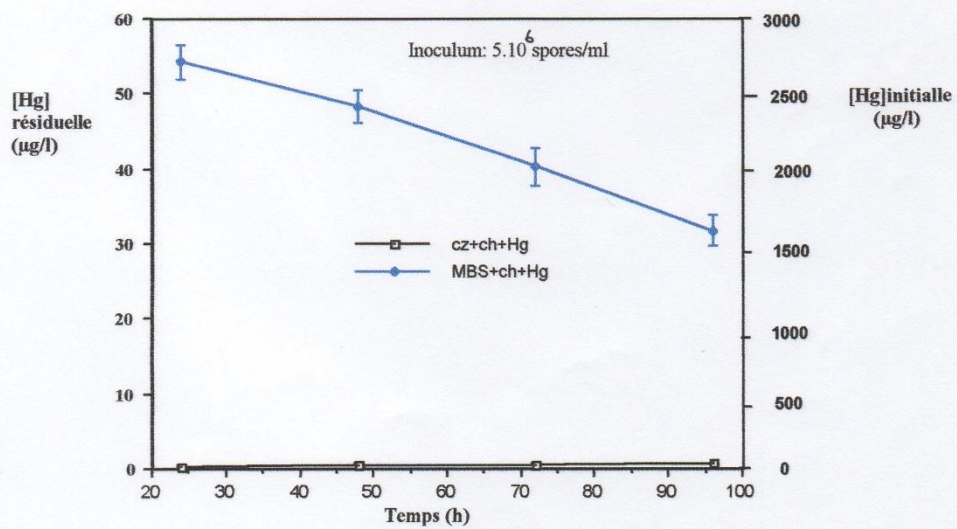


Figure 18 : Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'*A. clavatus*.

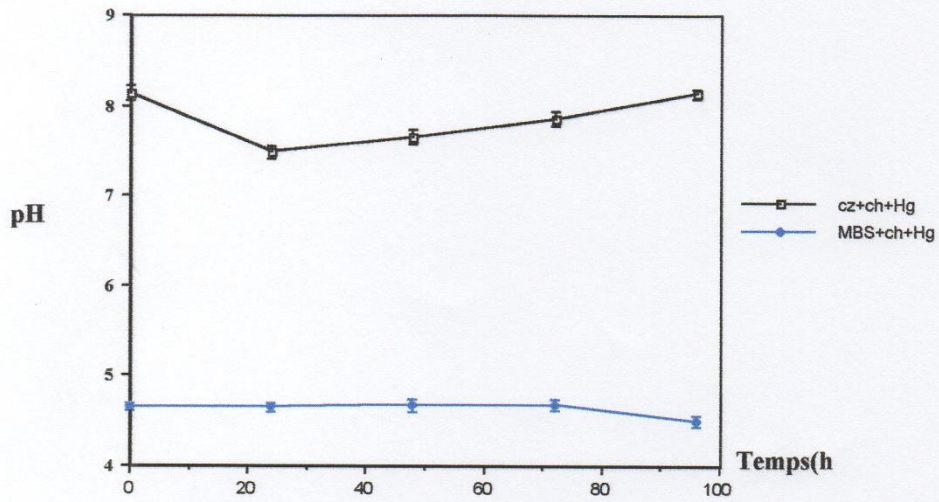


Figure 19: Variation du pH des milieux en présence de $4.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d'*A.clavatus*.

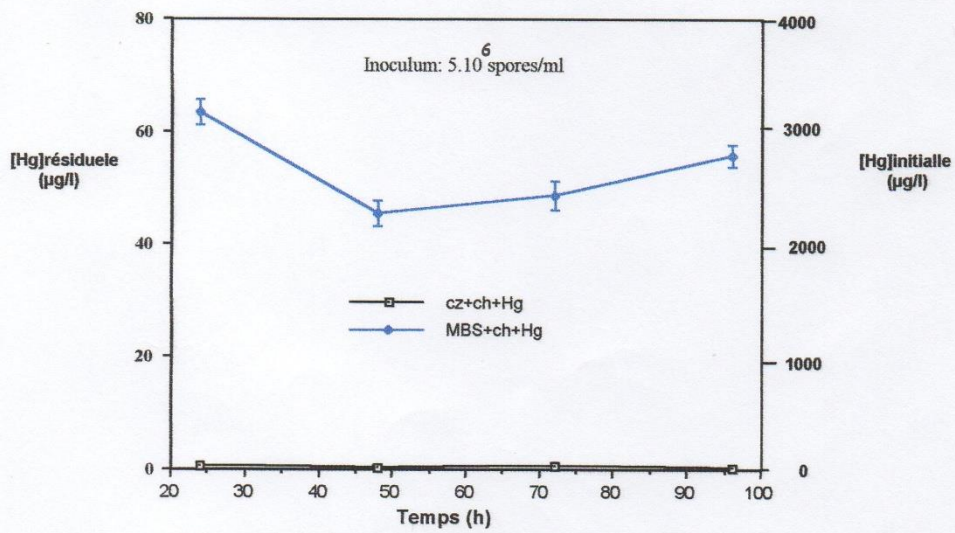


Figure 20: Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'*A. clavatus*

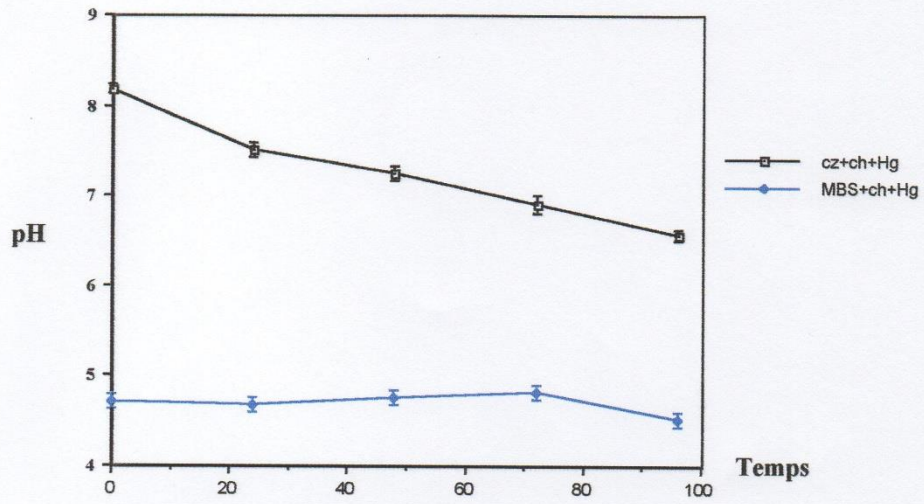


Figure 21: Variation du pH des milieux en présence de $5.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg et en fonction du temps d'incubation d'A.clavatus.

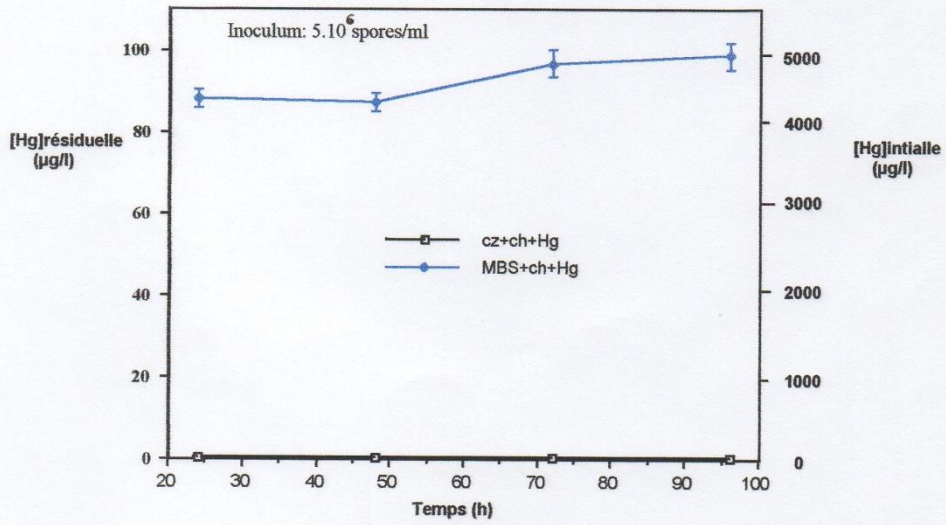


Figure 22: Mesure du mercure résiduel en fonction du temps d'incubation d'A. clavatus.

CHAPITRE 2
Etude de la biosorption
par *Aspergillus clavatus*

Nous pouvons penser que cette évolution du pH consécutive à un relargage de protons dans le milieu ou à une adsorption d'ions hydroxydes constitue un processus limitant du phénomène d'adsorption (Crist *et al.* , 1990)

De nombreux auteurs évaluent l'influence du pH sur l'adsorption des métaux en se basant sur le pH initial de la solution métallique avant addition du biosorbant .

Il est important de noter que le pH évoluait au cours de la réaction parallèlement à l'accumulation.

Suivant ces résultats, nous pouvons conclure que l'adsorption du mercure par le biosorbant *Aspergillus clavatus* dépend de plusieurs paramètres :

- le temps de contact entre mercure et biomasse ;
- le pH du milieu ;
- la concentration initiale des ions mercure.

Cette déduction est en accord avec les travaux de Kapoor A. *et al* 1995, mais il rajoute à ces trois paramètres un quatrième qui est la concentration des sels en solution.

Aussi nous pouvons noter que la taille de l'inoculum (poids sec/ concentration métal) pourrait avoir une influence sur le phénomène d'adsorption.

II- Influence de la conductivité électrique, la salinité et le poids sec sur l'adsorption du mercure au cours du temps.

L'analyse des différents résultats obtenus à différentes concentrations de mercure montre :

- **Qu'après 24 h de culture en présence du champignon *Aspergillus clavatus* :**

- Le taux d'adsorption du mercure est plus élevé en milieu czapek qu'en milieu MBS , cela peut être expliqué par la composition distincte des deux milieux . Nous ajoutons aussi que l'adsorption du mercure est plus intense lorsque la concentration initiale de cet élément est élevée chose observée dans les deux milieux.

- D'après les résultats du tableau 18, nous pouvons noter que la conductivité électrique ne présente aucune influence sur le taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* . Une différence des valeurs de la conductivité est observée entre les deux milieux de culture : le milieu MBS par sa composition une conductivité plus élevée que celle du milieu czapek .

**Tableau 19 : Variation du taux d'adsorption du mercure
Par *Aspergillus clavatus* après 24h d'incubation**

[Hg]i (µg/l)	CZAPEK					MBS						
	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)
10	2,72	3,713	0,921	52,50	2,46	3,358	0,514	48,80				
5,10 ²	2,07	2,825	0,893	99,94	2,47	3,371	0,685	98,39				
1,10 ³	2,36	3,221	0,965	95,38	11,53	15,739	0,624	94,45				
2,10 ³	2,20	3,003	0,825	99,97	10,29	14,046	0,461	96,62				
3,10 ³	2,25	3,071	1,047	99,98	10,58	14,442	0,492	98,18				
4,10 ³	2,28	3,112	1,081	99,98	10,59	14,456	0,160	99,84				
5,10 ³	1,94	2,648	1,005	99,99	10,18	13,896	0,153	99,96				

Dans le but d'envisager une réutilisation des solutions résiduaire, nous avons convertis la conductivité électrique en salinité grâce au tableau 19 de conversion donné par Rodier J. , 1978 .

Tableau 19 Conversion de la conductivité électrique en salinité (Rodier J. , 1978).

Conductivité ($\mu\text{mhos/cm}$)	Salinité (mg/l)
CE < 50	CE x 1,365079
50 < CE < 166	CE x 0,947658
166 < CE < 333	CE x 0,769574
333 < CE < 833	CE x 0,715920
833 < CE < 10.000	CE x 0,758440
CE < 10.000	CE x 0,850432

Les eaux résiduaire recyclées sont utilisées dans l'irrigation des terres agricole et parmi les paramètres qui doivent être pris en considération la salinité. Les cultures agricole pourraient subir le stress salin par la salinité des eaux traitées et réutilisées.

Cette dernière affecte d'une part le sol et d'autre part les cultures (Faby J.A et Brissaud F. , 1997).

Dans notre cas, nos solution après leur traitement vis à vis du mercure la salinité est faible dans le milieu czapek et le milieu MBS ce qui rendrait leur recyclage dans le domaine agricole envisageable, nos solution appartiennent à l'accolade des eaux douces (Berree et al, 1991).

-Le taux d'adsorption du mercure n'est guère influence par le paramètre poids sec, malgré sa variation dans le temps et entre les deux milieux (Tableau 18). Nous pouvons aussi dire que le poids sec de la biomasse est proportionnel à la concentration initiale du mercure lorsque *Aspergillus clavatus* est cultivé en milieu czapek , mais il est inversement proportionnel lorsque l'espèce fongique est cultivée en milieu MBS cela peut être expliquer par le fait que la composition du milieu MBS est moins riche que celle du milieu czapek qui offre les conditions alimentaires nécessaires pour une croissance plus importante avec sporulation abondante chose qui a été observé pendant le déroulement de nos expériences.

En conclusion, nous pouvons relever que : Lorsque le mercure n'est pas dilué dans l'effluent et à partir de $5.10^2 \mu\text{g/l}$ le taux d'adsorption est presque de 100% après 24 heures de contact métal-biomasse. Ce mécanisme (adsorption) très rapide confirmé par les travaux de Roux J.C et al. , 1990 et Kapoor et al. , 1995.

*** Qu'après 48 heures de culture en présence du champignon *Aspergillus clavatus***

Le taux d'adsorption du mercure à augmenter par rapport au temps précédent et cela pour la concentration de $10\mu\text{g/l}$ de Hg (tableau 20).

La conductivité électrique est faible pour toutes les concentrations initiales du mercure (pour le milieu czapek et MBS). Nous pouvons déduire qu'aucune influence n'est observée sur le taux d'adsorption. La salinité est un paramètre déduit de la conductivité et c'est pour cela que le même raisonnement lui est appliqué.

Cependant les solutions résiduelles restent de bonne qualité et peuvent être réutilisées dans le domaine agricole.

Le poids sec de la biomasse reste un facteur qui présente un grand intérêt sur le traitement des eaux résiduelles contaminées par le mercure puisque l'utilisation d'un faible inoculum pour ce travail d'adsorption reste sans doute bénéfique pour l'environnement.

Le poids sec présente une différence de variation entre les deux milieux (tableau 20). Sur ce point (Poids sec), nous ne pouvons avancer aucune hypothèse puisque'il faut référer le travail avec d'autres inoculum plus élevés pour pouvoir conclure.

Donc, nous pouvons conclure que :

-presque 100% du mercure initial a été adsorbé par *Aspergillus clavatus* après 48 heures de contact pour les concentrations $5.10^2\mu\text{g/l}$ de Hg à $5.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg .

-*Aspergillus clavatus* exige plus de temps pour l'adsorption du mercure pour les plus faibles concentrations du mercure ($10\mu\text{g/l}$).

*** Qu'après 72 heures de culture en présence du champignon *Aspergillus clavatus***

Le taux d'adsorption du mercure est de 90% pour la concentration de $10\mu\text{g/l}$ de Hg et cela dans le milieu MBS. Donc notre biosorbent (*Aspergillus clavatus*) ce n'est qu'au bout de 72h de culture et en milieu MBS qu'il a pu développer un taux d'adsorption de 90% pour cette faible concentration. Pour le milieu Czapek, le taux d'adsorption du mercure reste très élevé (99%) pour toutes les concentrations sauf pour la plus faible ($10\mu\text{g/l}$) voir le tableau 21.

Tableau 20 : Variation du taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* après 48h d'incubation

[Hg]i (µg/l)	CZAPEK					MBS						
	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)
10	7,05	9,623	2,321	62,00	7,96	10,866	0,204	65,40				
5,10 ²	5,61	7,658	2,857	99,91	7,01	9,569	0,243	98,67				
1,10 ³	2,55	3,480	4,382	96,01	11,63	15,875	0,204	99,48				
2,10 ³	2,31	3,153	2,837	99,97	3,66	4,996	0,865	96,95				
3,10 ³	2,00	2,730	2,953	99,98	2,89	3,945	0,953	98,38				
4,10 ³	2,16	2,948	0,090	99,98	3,24	4,422	0,520	99,88				
5,10 ³	1,22	3,030	,0385	99,96	3,37	4,600	0,480	99,60				

Tableau 21 : Variation du taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* après 72h d'incubation

[Hg]i (µg/l)	CZAPEK					MBS						
	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)
10	7,76	10,593	1,214	65,40	7,83	10,688	0,115	90,00				
5,10 ²	6,52	8,900	1,240	99,91	7,33	10,006	0,163	99,42				
1,10 ³	3,05	4,163	2,189	96,77	10,73	14,647	0,101	99,50				
2,10 ³	1,78	2,429	1,165	99,97	1,71	2,334	0,059	97,27				
3,10 ³	1,88	2,566	1,101	99,98	1,71	2,334	0,602	98,65				
4,10 ³	1,67	2,279	0,081	99,98	1,66	2,266	0,074	99,87				
5,10 ³	1,58	2,156	0,194	99,99	1,57	2,143	0,062	99,60				

Nous avons remarqué sur les tableaux des résultats 18, 20, 21 et 22 que lorsque le temps d'incubation augmente, la conductivité électrique des milieux augmente aussi. Cela a été relevé en présence de 10 et $5 \cdot 10^2 \mu\text{g/l}$ de Hg mis initialement dans le milieu czapek et s'étend jusqu'à la concentration de $1 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg pour le milieu MBS.

Nous supposons que pour les faibles concentrations du mercure, la salinité et la conductivité électrique augmentent progressivement dans le temps.

Le poids sec de la biomasse $5 \cdot 10^6$ spores/ml reste sans impact sur le taux d'adsorption du mercure pour les deux milieux mais nous relevons qu'il est plus élevé en milieu czapek (par la richesse de ce milieu en nutriments) qu'en milieu MBS (tableau 2f).

*** Qu'après 96 heures de culture en présence du champignon *Aspergillus clavatus***

Le taux d'adsorption du mercure par notre biosorbant en milieu MBS est presque le même que celui observé en milieu czapek sauf pour le cas de la faible concentration initiale ($10 \mu\text{g/l}$ de Hg) où nous relevons un meilleur taux d'adsorption lorsque le champignon est cultivé en milieu MBS (tableau 2g)

La même élévation soulignée après 72h est observée sur le tableau 2g concernant la conductivité électrique seulement avec une différence à la concentration de $1 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg initiale qui présente une augmentation de 5 unités que celle relevée sur la conductivité électrique du milieu czapek après 72h.

Suivant les résultats du tableau 2g, la conductivité électrique est suivie de la salinité reste des paramètres sans influence sur le taux d'adsorption du mercure lorsqu'on se trouve en présence de concentrations élevées de mercure (à partir de $2 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$).

Le poids sec semble ne pas atteindre des valeurs élevées en milieu MBS. Donc nous pouvons dire que le champignon *Aspergillus clavatus* se développe mieux en milieu czapek, d'où les valeurs élevées du poids sec. Sur le tableau 2g, les résultats confirment que malgré l'augmentation de la biomasse le taux d'adsorption, lui reste presque stable.

Tableau 22 : Variation du taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* après 96h d'incubation

[Hg]i (µg/l)	CZAPEK						MBS					
	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)	Conductivité (µ mhos/cm)	Salinité (mg/l)	Poids sec (g/l)	Taux d'adsorption (%)
10	8,40	11,466	1,229	72,40	8,20	11,193	0,034	90,00				
5,10 ²	6,96	9,501	1,020	99,91	8,44	11,521	0,120	99,80				
1,10 ³	6,70	9,146	1,924	99,81	10,48	14,306	0,095	99,60				
2,10 ³	1,24	1,692	1,111	99,97	1,52	2,074	0,021	97,27				
3,10 ³	0,97	1,324	1,483	99,97	1,51	2,061	0,193	98,93				
4,10 ³	1,14	1,556	0,071	99,99	1,51	2,061	0,016	99,86				
5,10 ³	1,91	2,607	0,062	99,99	1,52	2,074	0,016	99,60				

III - Teste de Viabilité

Le tableau n°23 montre la variation de la viabilité d'*Aspergillus clavatus* en fonction du temps de contact et des concentrations croissantes du mercure dans le milieu czapek .

Les résultats obtenus montrent que la croissance d'*Aspergillus clavatus* peut être inhibée à partir des concentrations $4.10^3 \mu\text{g/l}$ et $5.10^3 \mu\text{g/l}$ de Hg. Cette inhibition est remarquable à partir de 72 heures de contact.

Nous relevons aussi que le champignon *Aspergillus.clavatus* supporte bien la présence du mercure dans le milieu avec une concentration de $2.10^3 \mu\text{g/l}$ et cela tous le long du temps d'incubation (96 heures). Les concentrations non toxiques pour *Aspergillus.clavatus* sont : $10\mu\text{g/l}$, $5.10^2 \mu\text{g/l}$, $1.10^3 \mu\text{g/l}$, $2.10^3 \mu\text{g/l}$, $3.10^3 \mu\text{g/l}$. Ces non-toxicité peut être expliqués soit par la résistance de l'espèce elle même à ce polluant, soit par les conditions du milieu de culture.

- la résistance d' *Aspergillus.clavatus* vis à vis du mercure a été démontré par les travaux de Puerner et Seigel, 1976.
- les conditions du milieu de culture sont :
 - la composition chimique du milieu czapek ,
 - le pH du milieu czapek .
 - conductivité et salinité (eau douce)

Pour la première condition : le milieu czapek est plus riche en source carbonée et azotée donc plus de matière organique que le milieu MBS et de ce faite la toxicité du chlorure de mercure est réduite. Les travaux de Bagy et al. , 1991 montrent que la toxicité du chlorure de mercure (HgCl_2) présent dans un milieu riche en matière organique est réduite de façon significative sur les espèces fongique : *Aspergillus flavus* , *Penicillium chrysogenum* , *Cunninghamella echinulata* , *Myrothecium verrucaria* et *Phoma humicola* .

Pour la deuxième condition, ces même travaux montrent que le pH joue aussi un rôle important sur la toxicité du HgCl_2 car lorsque le pH du milieu est élevé et sa valeur est comprise entre 8 et 9, l'effet toxique du polluant cité est complètement éliminé.

Ces résultats joignent ceux que nous avons trouvé, puisqu'a partir de la concentration $2.10^3 \mu\text{g/l}$ le pH du milieu czapek varié au tour de la valeur 8 pendant les premières 48 h d'incubation au delà le pH commence à diminuer (Figure 15 , 17 , 19 , et 21) et nous relevons note l'absence de croissance d' *Aspergillus clavatus* .

Tableau 23: Croissance d' *Aspergillus clavatus* sur milieu czapek en fonction du temps de contact et des concentrations initiales du mercure

[Hg]i / Temps de contact	10 µg/l	5.10 ² µg/l	1.10 ³ µg/l	2.10 ³ µg/l	3.10 ³ µg/l	4.10 ³ µg/l	5.10 ³ µg/l	Témoin
0h	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
24h	++-	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++
48h	+--	++-	++-	+++	++-	+++	+--	+++
72h	+--	+--	+ - +	+++	- + +	++-	+--	+++
96h	+--	+--	++-	+ - +	+ - +	---	+--	+++

Avec : + : Observation visuelle d'une croissance normale du champignon dans une boite de pétri.

- : Absence de croissance du champignon.

[Hg]i : Concentration initiale du mercure .

Remarque : chaque expérience est faite en trois répétitions et à raison de 3 boites pour chaque concentration .

Au tableau N°24 , nous observons une inhibition importante de la croissance d'*Aspergillus clavatus* cultivé en milieu MBS . Ce milieu est à composition plus minérale qu'organique donc l'atténuation de la toxicité du mercure n'a pas eu lieu. les concentrations allant de 10 µg/l à 5.10³ µg/l sont inhibitrices de la croissance d'*Aspergillus clavatus* à partir de 24h d'incubation sauf pour le cas de la concentration de 3.10³ µg/l qui présente un effet non inhibiteur. Si nous relient ces résultats avec celles du pH , nous remarquons que ce dernier reste acide pour toutes les concentrations .Pour les faibles concentrations (10 µg/l et 5.10² µg/l de Hg) le pH varie entre 5 et 6,8 et il est plus acide (varie entre 4 et 5) pour le reste des concentrations.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que plusieurs paramètres agissent sur la croissance d'*Aspergillus clavatus* :

- La concentration du polluant (Hg).
- Le temps de contact (Hg – biomasse) .
- La composition chimique du milieu de culture.
- Le pH du milieu de culture.

Nous ajoutons a cela, que malgré la résistance des champignons filamenteux aux métaux lourds chose relevée sur plusieurs travaux : Sadler et Trudinger (1967) , Babich et Stotzky (1980), Duxbury (1985) Ehrlich (1986) ,Stotzky et Babich (1986) , Collins et Stotsky (1989) ,Gadd et White (1989) ,Hugues et Poole (1989) , Gadd (1990) et Mehra et Wing (1991) , le mercure reste un métal lourds très toxique vis à vis des champignons filamenteux , situé juste après l'argent et cela suivant l'ordre décroissant de toxicité élaboré par Horsfall (1956) et Somers (1961) et qui est comme suit :

Ag > **Hg** > Cu > Cd > Cr > Ni > Pb > Co > Zn > Ca. Fe

Tableau 24: Croissance d'*Aspergillus clavatus* sur milieu MBS en fonction du temps de contact et des concentrations initiales du mercure.

[Hg]i / Temps de contact	10 µg/l	5.10 ² µg/l	1.10 ³ µg/l	2.10 ³ µg/l	3.10 ³ µg/l	4.10 ³ µg/l	5.10 ³ µg/l	Témoin
0h	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--	+++
24h	---	---	---	---	+-	---	---	+++
48h	---	---	---	---	-++	---	---	+++
72h	---	---	---	---	+--+	---	---	+++
96h	---	---	---	---	+--+	---	---	+++

CONCLUSION

CONCLUSION

Le mercure est un élément métallique très répandu dans notre environnement, vu son utilisation dans plusieurs secteurs industriels et agricoles. Ce métal lourd est très toxique vis-à-vis de tous les êtres vivants, il présente un pouvoir cumulatif dans le temps. Son élimination nécessite de grande performance surtout lorsqu'il est présent en très faible concentration dans le milieu aqueux.

En effet, l'utilisation de ce procédé biologique comme solution à la récupération de ce métal toxique nous a donné entière satisfaction pour les faibles concentrations.

La biomasse fongique présente dans les rejets de l'orelait est valorisée par son utilisation dans les procédés biologiques d'épuration des eaux usées ou résiduaires chargées en mercure.

Les rejets de l'unité de l'orelait renferme un grand nombre d'espèces fongiques, chaque espèce posséderait ce pouvoir d'adsorption. La souche sélectionnée est *Aspergillus clavatus* qui s'est avérée très efficace comme micro-organisme épurateur des milieux contaminés par le mercure. Bien que nous ayons travaillé à des concentrations de Hg, heureusement peut fréquemment trouver dans l'environnement, la souche est très résistante à l'action toxique du Hg. Cette action toxique reste sous le contrôle du milieu dans lequel est cultivée notre espèce de la concentration initiale du Hg et du temps de contact Hg-biomasse.

Au cours des différents résultats, nous avons pu faire ressortir les meilleurs taux d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus*.

Aspergillus clavatus adsorbe le mercure avec des taux très élevés (entre 90% et 99%), en présence des concentrations initiales de 10 µg/l et 1.10³ µg/l de Hg, donc notre biosorbent adsorbe plus rapidement (72h et 48h) le mercure lorsqu'il est cultivé en milieu MBS, le milieu reste acide (entre 4 et 6). Pour le reste des concentrations le milieu czapek semble plus favorable pour l'adsorption rapide (24h) du mercure par notre espèce fongique un poids sec de presque 1g/l, une salinité très faible (presque 3mg/l) et un pH basique.

Le milieu czapek semble offrir à l'espèce fongique *Aspergillus clavatus* de bonne condition pour résister aux concentrations initiales très élevées. Par contre le milieu MBS rend notre champignon plus performant pour l'adsorption des concentrations initiales relativement faibles.

Le pH est un paramètre clé pour l'optimisation des capacités de biosorption du mercure. Cet effet s'explique par une compétition entre les protons et les cations métalliques au niveau des fonctions acides complexantes des parois mycéliennes l'adsorption du mercure par *A.clavatus* est élevée en milieu à pH neutre ou basique.

La conductivité électrique, la salinité et le poids sec semble n'avoir aucun effet sur l'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus*.

L'adsorption est un phénomène rapide, réversible et très important car il semble être sensible à la composition du milieu du point de vue concentration du polluant. Une bonne connaissance de ces mécanismes pour avoir d'intéressantes applications pour le traitement d'effluents contaminés car il permet une élimination rapide du mercure.

La biosorption du mercure par des biomasses fongiques, résidus provenant d'industries agro-alimentaires ; permet en plus de la valorisation des ces déchets, une concentration économique des effluents chargés de mercure offrant ainsi des perspectives prometteuses de développement dans le domaine de la dépollution des eaux contaminées.

La force de ce procédé résidera dans sa simplicité et dans son faible coût , ce pendant il devra être utilisé comme prés traitements dans les stations d'épuration des eaux usées industriels permettant ainsi la réduction de tous les métaux présents .

Pour compléter ce travail, il est nécessaire de :

- mieux connaître les mécanismes d'adsorption du mercure par *Aspergillus clavatus* grâce à l'utilisation de molécules marquées,
- faire augmenter la taille de l'innoculum ,
- varier les concentrations du mercure,
- faire une application sur des effluents réels (station d'épuration pilote),
- faire le même travail en utilisant une biomasse morte.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- 01-AIREY D., 1982: Contribution from coal and industrial materials to mercury air, rain water and snow . The science of the total environment, N°25, pp .19-40.
- 02- ALIOUA A., 1995: Détection de la pollution mercurielle dans la région de Azzaba (Algérie orientale) à l'aide de bioaccumulateurs (Xanthoria parietina , Olea europea , Cupressus sempervirens , Casuarina equisetifolia et Triticum durum) .Thèse de Magister .Université Badji Mokhtar , pp . 03-20.
- 03- AMY G.L., BRYANTC W., ALLEMANG B.C et BARKLY W.A. , 1988 :Biosorption of organic halide , a kraft mill generated lagoon , Journal of Water Pollution . Control fed , 60 , pp . 1445 – 1453.
- 04- ANONYME, 1993 : Journal officiel n° 46, Juillet 93 , République Algérienne
- 05-ANONYME, 1996 : Effet génotoxique du plomb, du cadmium et du mercure. Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : Evaluation et gestion du risque.Ed Technique et Documentation, pp. 63 – 67.
- 06- ANONYME, 1997 : Classification des champignons. Encyclopaedia universalis. France S. A., pp . 01-06.
- 07-ANONYME, 1999: Pollution biologique . Encyclopedia Univesalis , France S.A.
- 08-ANONYME, 1999: Transfert des polluants dans la biomasse et contamination des réseaux trophiques . Encyclopedia Univesalis , France S.A.
- 09-ARONSON J.M., 1965 : The Fungi . A nadvanced treatise . Academic press New York et London . Vol. 1 « The Fungel cell » pp 49 – 76.
- 10-BABICH H. et STOTZKY G., 1980 : Environmental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseous pollutants to micro-organisms .CRC Crit .Revue of Microbiology , N°8 , pp .99-145 .
- 11-BAGY M.M.K., EL SHAROUNY H.M.M. et EL SHANAWANY A .A., 1991: Effect of pH and organic matter on the toxicity of heavy metals to growth of some fungi . Folia microbiology, 36, N°4, pp . 367-374.
- 12-BAILLARGEON G:1995 ,. Méthodes statistiques de l'ingénieur .Vol .1, les éditions SMG, pp . 25-36.

- 13-BENDERRADJI M., 1998: Influence de l'énergie du relief et de la dynamique des eaux de surface sur l'extension de la pollution mercurielle dans la dépression d'Azzaba (Nord-est- Algérien) . Revue sciences et technologie . N°10. Ed. Université Mentouri . Constantine, pp . 99-105.
- 14-BERNE F., CORDONNIER J., 1991: Traitement des eaux . Editions Technip ,pp . 11-12.
- 15-BINEY A.T, AMUZOU A.T, 1994: Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain . F. A.O . Document Technique du C.P.C.A, N° 25 , pp 37-67 .
- 16-BIRCH L. et BACHOFEN R., 1990 : Complexing agents from microorganisms .Experientia , 46 , pp. 827-834.
- 17-BOISSET M. et CUMONT G., 1996 : Origine et évolution de l'apport alimentaire en mercure. Rôle du poisson. Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Technique et Documentation, pp .185-196.
- 18-BOISSET M., 1996: Effets toxiques majeurs du mercure et du méthylmercure chez l'animal et chez l'homme."Plomb, Cadmium et Mercure dans l'alimentation: Evaluation et gestion du risqué .Ed Technique et Documentation, pp . 172-176.
- 19-BOTTON B., BRETON A. , FEVRE M. , GAUTHIER S. , GUY PH. , LARPENT J.P. , REYMOND P. , SANGLIER J.J. , VAYSSIER Y. et VEAU P. , 1990 : Moisissures utiles et nuisibles , importance industrielle . Edition masson , p 449 .
- 20-BOURQUIN .W .1990. Bioremediation of hazardous Waste.Biofuture . pp 24 – 35 .
- 21-BRUCE K., STEVE P. et GRATH M.C 1995 ,.: A method to buffer the concentration of free Zn and Cd ions using a cation exchange resing in bacterial toxicity studies . Environnemental Toxicology and chemistry, Vol .14, N°12, pp 2033-2039.
- 22-BURNETT J.H., 1979 : In fungal walls and hyphal growth , Ed . J. H. BURNETT and A.P.J. TRINCI, New York, pp. 02-25.
- 23-BURGSTALLER W. et SHINNER F., 1993 : Leaching of metals whith fungi .Journal of Biotechnology , Vol .72 , pp .91-116 .
- 24-CABIB E., SBURLATI A. et SILVERMAN S.J., 1988 : Fungal cel Wall synthesis : The construction of a bilogical structure. Microbiology Science, 5, pp . 370 – 375.
- 25-CANLI M. et FURNESS R.W., 1995 : Mercury and cadmium uptake from sea water and from food by the Norway lobster , *Nephrops norvegicus* . Ed. Environmental toxicology and chemistry , Vol.14, N°5, pp. 819-828
- 26-CARDZO R. L., 1972 : Chem , weekl – 68 : 9. In « OMS , 1977 » .
- 27-CHAFAI D. , 1996 : Micromycète des sédiments d'oueds et effluents industriels de l'Est Algérien .Thèse de Doctorat .Université Joseph Fourier Grenoble I,p129 .

- 28-CHALION G., 1996 : Adsorption et dégradation du pentachlorophenol par champignons filamenteux deux : Rhizopus arrhizus et Cunninghamella elegans . Thèse de docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble I, p 159.
- 29-CHANTAL D. G., 1973 : Répartition de chlorure de mercure et de chlorure de méthyle mercure dans un écosystème aquatique simplifier. Thèse de 3eme cycle. Université de Grenoble, faculté des sciences, p 60 .
- 30-CHAPMAN P.J. , 1988 : Constructing microbial strains for degradation of halogenated aromatic hydrocarbons . Environmental biotechnology : reducing risks from environmental chemicals through biotechnology . Ed.G.S. Onenn . Basic Life Sciences . New York, Plenum Press . N° 45, pp . 81-95.
- 31-CHEBLI L ., 1977 : La pollution en Méditerranée . Office des publications universitaires , p233 .
- 32-CHRIS G. INGERSOL L. , WILLIAM G. et BRUMBAUGH F. DWYER J. et KEMBLE N. E. , 1994 : Bioaccumulation of metals by Hyaella azteca exposed to contaminated sediments from the upper clark Fork river, Montana , Environmental Toxicology and Chemistry , Vol .13, N°12 , pp 2013 2020
- 33-CRIST R.H. , MARTIN J.R. , GUPTILL P.W. et ESLINGER J.M. , 1990 : Interaction of metals and protons with algae . 2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. Environmental Science and Technology. Vol 24.pp.337-342.
- 34-CLARKSON T.W., 1987 : Metal toxicity in the central nervous system .Environment Health Perspective, 75 , pp .59-64 .
- 35-COLLINS Y.E. et STOTZKY G., 1989: Factors affecting the toxicity of heavy metals to microbes. In: Beveridge T. L. and Doyle R.J. Eds., Metal Ions and Bacteria . Wiley, New York, pp . 31-90.
- 36-CUMONT G., 1984 : La contamination des aliments par le mercure. ANN. FALS . EXP . CHIM . , 77 , pp . 309-320 .
- 37-DIELS et al. , 1989 : Large plasmids governing multiple resistances to heavy metals : a genetic approach . Toxicology Environment Chemistry , 23 , pp . 79-89.
- 38-DIELS L , VAN ROY S., TAGHAVI S., DOYEN W., LEYSEN R. et MERGEAY M. , 1993 : The use of Alcaligenes eutrophus immobilized in a tubular membrane reactor for heavy metal recuperation . Ed A.E. Tarma , M.L Apel and C.L.Brierley The minerals , Metals and Materials Society , pp . 133-143.
- 39-DIELS L., VAN ROY S., DOYEN W., MERGEAY M., et LEYSEN R., 1993: The use of bacterie immobilisation in tubular membrane reactors for heavy metal recovery. Vlaamse instelling voor Technologish Onderzoek (VITO) , B.2400 MOL, Belgium .p 09.

- 40-DIELS L., VAN ROY S., MERGEAY M. et al 1993 : Immobilisation of bacteria in composite membranes and development of tubular membrane reactors for heavy metal recuperation . Flemish institute of technological research. Belgium .pp 275-293.
- 41-DIELS L., VAN ROY S., SOMERS R., WILLEMS I., DOYEN W., MERGEAY M., SPRINYAEL D., LEYSEN R., 1995: The use of bacteria immobilized in tubular membrane reactors for heavy metal recuperation and/or degradation of chlorinated Aromatics . Journal of membrane science, pp.1-11.
- 42-D'ITRI F.M. , 1972: The environmental mercury problem Cleveland , Chemical Rubber Ca , p 69 .
- 43-DOMSCH K.H. , W. GAMS et ANDERSON T.H , 1980 : Compendium of soil fungi .
- 44-DUBEY R.C et DWIVEDI R.S, 1988 : Effect of heavy metals on growth and survival of Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid . Biology and fertility of soils. N° 6 ,pp 311- 314.
- 45-DUXBURY T., 1985: Ecological aspects of heavy metal responses in micro-organisms . In: Marshall K.C. Ed . , Advances in Microbial Ecology, Vol .8, Plenum, New York , pp . 185-235.
- 46-EHRLICH H.L., 1986: Interactions of heavy metals and micro-organisms . In : Carlisle D. , Berry W.L. , Kaplan I.R. and Watterson J. Eds . , Mineral exploration Biological systems and organic matter , Prentice-Hall , Englewood cliffs , N J , pp . 221-237.
- 47-FABY J.A. et BRISSAUD F. , 1997 : L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation . Office international de l'eau . Mai 97
- 48-FARGESTROM R. et JERNELOV A., 1971 : Water Research , S : 121. IN "OMS, 1977 "
- 49-FASSATIOVA .O. 1986 ,: Moulds and filamentous fungi in technical microbiology.
- 50-FEIJUE W. et JINGSHENG C., 1997: Modeling Sorption of trace metals on naturel sediments by surface complexation mode . Environmental Science and Technology, vol . 31, N°2 , pp 448 – 453.
- 51-FILBY R. H. , 1970 : Microchin , Acta , 6 : 1130 . In . « OMS 1977 » .
- 52-FORESTNER U. et WITTMANN G., 1981 : Metal pollution in the aquatic environment , 2nd ed . , springer – verlag : Berlin, p 486.
- 53-FORESTNER U., 1989 : Contaminated sediments ; lecture notes in earth sciences. Vol .91 ; springer-verlag : New York, p 157.
- 54-FOUREST E. et ROUX J.C. , 1992 : Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products : machanisms and pH influence . Application Microbiology Biotechnology, N° 37 , pp . 399-403.

- 55-FOURET E., 1993 : Etudes des mécanismes de biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques industrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés. Thèse Docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble I, p163.
- 56-FOUREST E., SERRE A. et ROUX J.C. ,1996 : Contribution of carboxyl groups to heavy metal binding site in fungal wall . *Toxicological and Environmental chemistry* , Vol.54 , pp1-10 .
- 57-GADD G.M. , 1988 : Accumulation of metals by micro-organisms and algae . In *biotechnology 6B* , Rhem H.J. et Reed G. Eds , VCH Verlagsgesellschaft , Weinheim .
- 58-GADD G.M. et WHITE C., 1989 :Heavy metal and radionuclide accumulation and toxicity in fungi and yeasts . In: Poole R.K. and Gadd G.M. Eds ., *Metal -Microbe Interactions* .IRL Press , Oxford , pp . 19-38.
- 59-GADD G.M., 1990 : Heavy metal accumulation by bacteria and other micro-organisms .*Experimentia* , 46 , pp . 834-840.
- 60-GADD G.M., 1993 : Microbiale control of heavy metal pollution . University of Dundee , pp . 59-88.
- 61-GAUJOUS D., 1995 : La pollution des milieux aquatiques. Aide mémoire .2em ed. , *Technique et Documentation*, pp. 60-61.
- 62-GAVIS J. et FERGUSON J.F, 1973: *Water Research*, S: 6: 989 .IN "OMS, 1977 "
- 63-GEBHART E. et ROSSMAN T.G. , 1991 : Mutagenicity , carcinogenicity , teratogenicity . In « *Metals and their compounds in the environment* ». Ed.MERIAN ed , Vch Verlag , Weinheim , pp . 617-641.
- 64-GIRAUD M. et GUILLET M., 1972: Teneur en mercure de milieux naturels .*Monographie scientifique sur la pollution par le mercure et ses dérivés* , pp . 25-41.
- 65-GRIFFIN D.H. , 1981 : *The cell wal : Fungal physiology* . GRIFFIN DH .Ed Wiley Intersciene Publication , NewYork , Chrichester .
- 66-GUEBLI H. , 1994 : Etude de la dispersion du mercure atmosphérique dans la région de Azzaba .Thèse de Magister , Université de Constantine , p 117 .
- 67-GUIRAUD J. et GALZY P., 1980 : L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires . Ed . L'usine, pp. . 43-53.
- 68-HINTELMANN H., M. WEL BOURN P. et DOUGLAS R., 1997: Measurement of methylmercury (II) compounds by fresh water humic substances using equilibrium dialysis . *Environmental Science and Technology*. N° 31 , pp .489-495 .

- 70-HORSEFALL J.G., 1956: Principales of fungicide action. Chronic Botanica Co., Waltham , MA.
- 71-HORVATH Z.S., ASHOUR H.E. et NOVAK E.K., 1992 : Isolation of heavy metal tolerating fungi . Acta Microbiologica Hungarica .39. p 368.
- 72-HUANG J.P., HUANG C.P. et L.MOREHAT A.L., 1991: Removal of heavy metals by fungal (*Aspergillus oryzae*) adsorption. pp 1902-1910.
- 73-HUGHES M.N. et POOL R.K., 1989: Metals and micro-organisms. Chapman and Hall , London.
- 74-HUNT S., 1986 : Diversity of biopolymer structure and its potential for ion-binding applications . In : immobilisation of ions by bio-sorption . Eccles H. and Hunt S. Eds , E Horwood Ltd Publishers , Chichester . pp .15-46 .
- 75-JACOBSON K.B. et TURNER, 1980 : the interaction of cadmium and certain other metals with proteins and nucleic acids . Toxicology , 16 , pp . 1-37.
- 76-JILEK R. , PROCHAZKA H. , STAMBERG K. et FUSKA J. , 1976 : Application of fungal biomass in biosorbent preparation . Folia Microbiologica , 21 , p 210 .
- 77-JOENSUU O. L., 1971 : Science 172 : 1027. In « OMS , 1977 » .
- 78-JOHN T. MC ELOSKEY, MICHAEL C. NEWMAN et SUE B. CLARCK, 1996: Predicting the relative toxicity of metal ions using characteristics : Microtox Bioluminescence assay . Environmental Toxicology and Chemistry . Vol .15, N°10, pp-1730-1737.
- 79-JUNG K. , BITTON G. et KOOPMAN B. , 1996 : selective assay for Heavy metal toxicity using a fluorogenic substrate . Environmental Toxicology and Chemistry , Vol . 15, N° 5 , pp.711-714 .
- 80-KAPOOR A. et VIRARAGHAVAN T., 1995 : Fungal biosorption . An alternative treatment option for heavy metal bearing waste waters. A review of Bioresource Technology . Vol. 35, pp . 195-206.
- 81-KARAMUSHA V.I. , SAYER J.A. , et GADD G.M. , 1996 : Inhibition of H⁺ efflux from *Saccharomyces cerevisiae* by insoluble metal phosphate and protection by calcium and magnesium : Inhibitory effect a result of soluble metal cations. Mycology Research .6, pp .707-713.
- 82-KAREN A. HUDSON –EDWARDS, MARK G-MACKLIN, CHARLES D.CURTIS et DAVID J.VAUGHAN, 1996 : Processus of formation and Distribution of Pb-Zn-Cd and Cu-Bearing minerals in the Tyne Basin , Northeast England : implications for metal contaminated River systems. Environmental Science and Technology . Vol . 30, N° 1, pp. . 72 - 80.

- 83-KIRANE D., 1997 : Utilisation des champignons microscopiques pour la récupération du mercure dans les effluents industriels. Premier Congrès des Pays de l'Orient et du Maghreb des Universités arabe sur : l'eau dans l'Education Environnementale . Amman (Jordanie)26-28 juin 1997 .
- 84-KIRANE D. , TREA S. et SEMADI A. , 1997 : Récupération des métaux lourds par voie biologique . Journées de l'environnement de la wilaya de Skikda –Algérie.
- 85-KIRANE D. et TREA S. , 1999 : valorisation des déchets industriels et récupération des métaux lourds. I^{er} colloque Maghrébin sur l'eau. Juin à Tizi-ouzou Algérie .
- 86-KORRINGA P. et HAGEL P., 1974 : Proceeding of the international symposium problems of contamination of man and his environment by mercury and cadmium .Luxembourg 3-5 July 1973, CEC, p 279.
- 87-KUYUCAK N. et VOLESKY B., 1988: Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions Biotechnology letters, N°10, pp . 137-142.
- 88-LEVESQUE L 1978 ,.: les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales .Centre national de documentation et d'information sur l'eau . Rapport N° 4, p 117 .
- 89-LINDQUIST D., 1985: Atmospheric mercury. A review Tellus , 37 B .pp . 136-159.
- 90-LODENIUS M., 1994: Mercury in terrestrial ecosystems : A Review "Mercury pollution : Integration and synthesis ". Lewis Publishers, pp . 343 -355.
- 91-LONG S.J., SCOTT D.R et THOMPSON R. J., 1973 : Atomic adsorption determination of elemental mercury collected from ambient air on siter . Wool Analytical Chemistry , Vol .45 , N° 13 , pp . 227-233.
- 92-LOUHI A., 1996 :Pollution des eaux et sols cas de la region de Annaba- ALGERIE . Etude des interférences et dosage de Al-Fe-Cu-Zn-Ni-Cr-Pb-Sn-V et Hg par spectrophotométrie d'émission plasma-Arc (D.C.P-A.E.S), Absorption atomique (S.A.A) et spectrophotométrie UV/vis .Thèse de docteur es. Science, Université Badji Mokhtar , Annaba , p167 .
- 93-MAAS G., 1987 :La pollution de l'eau :origine naturel et effets des polluants.Contrôle et législation . Eputation des eaux .WWE Belgique pp1-34.
- 94-MACASKIE L.E. , 1990 : An immobilized cell bioprocess for the removal of heavy metals from aqueous flows . Chemical Technology Biotechnology , N° 49 , 357-379 .
- 95-MATHEW C. et AL-DOORI Z., 1976 : The mutagenic effect of organomercury fungicide cerasan M in Drosophila melanogaster . Multation Research , 40, pp .3-31.
- 96-MEHRA R.K. et WINGE D.R. , 1991 : Metal ion resistance in fungi : molecular mechanisms and their regulated expression . J. Cell. Biochem ., 45 ,pp. 30-40 .

- 97-MERGEAY M., HOUBA C., GERITS J., 1978 : Extrachomosmal inheritance controlling resistance to cadmium, cobalt and zinc ions : evidence from curing in a *Pseudomonas*. Arch. Int. Physiol. Biochim. 86, pp. 440-441.
- 98-MICHELOT D., 2000 : Evaluation de la teneur en métaux lourds dans les champignons. Implications environnementales et toxicologiques. Biotechnologie pp. 01-04.
- 99-MIMOUNE S., 1994: Caractérisation hydrodynamique d'une membrane synthétique d'ultrafiltration. Essais d'ultrafiltration de complexes macromoléculaires d'ions métalliques. Thèse de Magister en chimie. U.S.T.H.B Alger, p 150.
- 100-MIRTA S., 1986 : Mercury in the ecosystem its dispersion and pollution to day. Ed. Trans tech publication, p 200.
- 101-MONOD J., 1989: MEMENTO " Technique de l'eau " Tome 1. Dégrèment, pp.221- 579.
- 102-MURALEEDHARAN T.R. et VENKOBACHAR C., 1990: Mechanisms of biosorption of copper (II) by *Ganoderma lucidum*. Biotechnolgy Bioenginring, 35, pp.320-325.
- 103-NRIAGU J.O., 1979 : Ed amsterdam. Elsevier/North Holland biomedical press. pp 138-159.
- 104-O.M.S, 1977 : Mercure, critères d'hygiène de l'environnement. pp. 1-50.
- 105-PARKINSON D., WAID J.S., 1960 : The ecology of soil fungi, Liverpool University Press
- 105-PLETTE A.C, BENDETTI M.T et VAN RIEMSDIJK W.H, 1996 : Competitive binding of protons, calcium, cadmium, and zinc to isolated cell walls of gram- positive soil bacterium. Environmental Science Technology., Vol. 30, N° 6, pp. 1902-1910.
- 106-PUERNER N.J et SIEGEL S.M., 1976 : Geomycology. Life Science. Space Research, 14, pp. 363-366.
- 107-RAMADE F., 1978 : Eléments d'écologie appliquée, actions de l'homme sur la biosphère. Ed. Mc Graw-Hill, Paris, p266.
- 108-RAMADE F., 1982 : Elément d'écologie "Ecologie appliquée". Ed. Mc Graw-Hill p.452.
- 109-RAMEL C., 1972 : Genetic effects. In « Mercury in the environment », L.
- 110- RIBERG et D. VOSTAL eds, CRC Press, Cleveland, pp. 169-180.
- 111-RICOUR J. Et LALLEMAND-BARRES A., 1996 : Sites pollués et déchets-Manuels et méthode, N°26, Ed. BRGM, p 128.
- 112-RODIER J., 1978 : L'analyse de l'eau. Ed. Dunod, pp.55-61.
- 113-ROQUE J., 1984 : Biotechnologies dans le traitement des eaux. Biofuture, pp.35-41.

- 114-ROUX J.C. , LHOMME B. , NEYTON J. , LENON G., ROBILLON C. , 1990 : Biosorption of heavy metals from polluted waters by mycelial dead biomass of a filamentous fungus : Rhizopus arrhizus .5th European congress on Biotechnology . Copenhagen July 8-13 , 1990.
- 115-ROUX J. C., 1993 : La pollution des eaux contaminées par des métaux lourds à l'aide de résidus de fermentation fongique. Rencontres " C.E.A –Entreprises " , p 2.
- 116-ROUX J.C., FOUREST E. Et MILANDE N., 1993 : Utilisation des champignons filamenteux pour la récupération des métaux dans les effluents industriels. Récents progrès en génie des procédés. N°25, Vol .7, pp. . 19-24.
- 117-ROUX J.C., FOUREST E.,1997 : Biosorption of heavy metals by fungal fermentation residus . Biotechnology Environmental and site restoration .pp .89-98
- 118-ROUX J.C., 1998: Use of dead recovered biomasses to adsorb heavy metals from waste waters. Water quality international 1998. VANCOUVER.CANNADA. June 21-26.
- 119-RUTHVEN D.M. , 1984 : Principales of adsorption process J.Willey et sons eds,Willey . Interscience Publication . New York , Chichester .
- 120-SADLER W.R. et TRUDINGER P.A., 1967: The inhibition of micro-organisms by heavy metals . Miner .Deposita , 2, pp . 158-168.
- 121-SAMSON R.A. ,HOEKSTRA E.S .et A.N.VANOORSCHOT C 1984 , .: Introduction food –borne fungi .Ed .centrale bureau Voor schimmelcultures p 248 .
- 122-SCHROEDER W.H., 1987: Air, water exchange of mercury conference proceeding . Canada. Vol.1, pp.15-18 , 36-40 .
- 123-SCOTH J. A. et PALMER S.J. , 1988 : Cadmium biosorption by bacterial exopolysaccharide . Biotechnology Letter , pp .21-24 .
- 124-SHUTTLEWORTH L.K. et UNZ R.F., 1993: Sorption of heavy metals to the filamentous bacterium Thiothrix strain A1, Applied and Environmental Microbiology , Vol. 59, N° 5 , pp.1274-1282 .
- 125-SIEGEL S.M., GALUN M. et SIEGEL B.Z., 1990 : Filamentous fungi as metal biosorbents : a review of water , air and soil pollution, Vol . 53, pp. . 335-344.
- 126-SOMERS E. ,1961 : The fungi toxicity of metal ions . Ann . Appl .Biol . ,49 , pp .246-253 . .
- 127-STOTZKY G. et BABICH H. , 1986 : Physicochemical environmental facto affects the response of micro-organisms to heavy metals : implications for the application of microbiology to mineral exploration . In: Carlisle D., Berry W.L., Kaplan I.R. and Watterson J. Eds Mineral Exploration , Biological systems and Organic Matter , Prentice-Hall , Englewood cliffs , N J ., pp.238-264 .

- 128-STUCKI G. , ALEXANDER M. , 1987 : Role of dissolution rate and solubility in biodegradation of xenobiotics compounds. Appl . and environmental microbiology . Vol.53, pp .292-297.
- 129-TOBIN J.M. , COOPER D.G. et NEUFELD J. , 1984 : Uptake of metal ions by Rhizopus arrhizus biomass . Application Environmental Microbiology, N°47, pp .821-824.
- 130-TSEZOS M. et VOLESKY B., 1981: Biosorption of uranium and thorium .Biotechnology Bioenginring , 23 , pp. 583-604 .
- 131-TSEZOS M , 1983 : The role of chitin in uranium adsorption by Rhizopus arrhizus.Biotechnology Bioenginring , 25 , pp. 2025-2040 .
- 132-TSEZOS M. , 1983 The role of chitin in uranium adsorption by Rhizopus arrhizus .Biotechnology Bioengin . , Vol .25, pp . 2025 -2040.
- 133-UMEDA M. , SAITO K. HIROSE K. et SAITO M. , 1969 : Cytotoxic effects of inorganic , phenyl and alkyl mercury compounds on Hela cells . JAP. J. EXP. MED. , 39, pp . 47-58.
- 134-WARMAN M., LEDENT G., TEMARA A., BONQUEGNEAN J.M., JANGOUX M. et DUBOIS P., 1995: Heavy metals in Posidonia oceanica and Parcentrotus lividus from sea grass beds of the north western Mediterranean The science of the total environment . N°171, pp.95-99.
- 135-WEIL S., 1975 : Elément de technologie industrielle. Ed. Massson , p 09 .
- 136-WILDE E.W. et BENEMANN J. R., 1993 : Bioremoval of heavy metals by the use of micro algae. Biotech . Adv . , Vol. 11, pp . 781-812.
- 137-WILLIAMS M.A.J. et KIRK P.M.,1988 : Physiology of industrial fungus . D.R. BERRY. Ed. Blac Well Scientific publications Oxford. London .pp 1-17.
- 138-YING H.L., BARY G.C., LVERFELDT A. et HULTBERG H. 1994: Fluxes and turnover of methylmercury : Mercury pools in forest soils . " Mercury pollution: integration and synthesis " . Lewis Publishers, pp. 329-341.
- 139-YUJUN Y., HERBERT E.A. et HUANG C.P., 1997 : Kinetics of mercury (II) adsorption and desorption on soil . Environmental Science Technologie. Vol. 31, N° 2 , pp . 496-503.