



**ANALYSE DES FACTEURS INFLUENÇANT LA  
BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS  
LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE  
SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE**

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU  
**MASTER EN INGENIERIE DE L'EAU ET DE L'ENVIRONNEMENT**  
OPTION : EAU ET ASSAINISSEMENT

-----  
Présenté et soutenu publiquement le 23 janvier 2017 par

**Chérifatou IBRAHIMA AGOUMO**

**Travaux dirigés par :**

**Dr Hela KAROUI**, Enseignante Chercheure à 2iE

**Dr Harinaivo A. ANDRIANISA**, Enseignant Chercheur à 2iE

**Mme Christine Lovaso RAZANAMAHANDRY**, Doctorante à 2iE

Jury d'évaluation du stage :

Président : **Dr Franck LALANNE**

Membres et correcteurs : **Dr Seyram SOSSOU**

**Dr Harinaivo A. ANDRIANISA**

**Promotion 2015/2016**

**CITATION**

*« L'humilité pour un scientifique est  
d'accepter que rien ne soit impossible »*

*Le premier jour (2009) de Marc Lévy.*

## DEDICACES

Je dédie ce travail à :

- **Mes parents Ibrahim Agoumo et Adiza Boureima** pour l'indéfectible soutien et l'inconditionnel amour dont ils ont fait preuve à mon égard tout au long de ma vie, aucune dédicace ne pourra jamais suffire à vous exprimer toute ma reconnaissance.
- **Mes frères et sœurs Aichatou, salissou, Abdoulaye, Rahila et Ismael**, vous êtes loin de moi mais près de mon cœur. Vos bons et sages conseils mais aussi vos multiples soutiens restent et demeurent inoubliables car ils me sont constamment d'une grande utilité. Je vous en suis reconnaissante.
- **A mon mari Sidikou Boubacar** pour avoir toujours cru en moi et m'avoir toujours encouragée à me dépasser.
- **A tous mes amis du 2iE** qui ont rendu mon séjour au Burkina agréable.

**Soyez éternellement bénis !!!!!!!**

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Eau, Dépollution, Ecosystème et Santé(LEDES) du 2iE.

Je tiens à remercier tout particulièrement :

- L'ambassade du Danemark au Niger, qui à travers le programme PASEHA 2, m'a permis de poursuivre mes études au 2iE ; mes remerciements vont particulièrement à **Messieurs Martin AIGLE** et **Arnaud LESCURE** qui ont suivi de près ma formation.
- **Pr. Hama YACOUBA**, Directeur de la recherche et **Dr Yacouba KONATE**, Directeur du laboratoire Eau, Dépollution, Ecosystème et Santé (LEDES) pour m'avoir permis d'intégrer l'équipe de recherche.
- **Dr. Hela KAROUI**, Enseignante-chercheure pour sa disponibilité, ses conseils, son implication et son dévouement à la réussite de cette étude.
- **Dr. Anderson ANDRIANISA**, Enseignant-chercheur qui n'a ménagé aucun effort pour m'appuyer à tous les niveaux pendant ma période de stage.
- **Mme Christine RAZANAMAHANDRY**, doctorante, pour son encadrement et ses conseils.
- **Messieurs Noel TINDOURE** et **Hema SOUHAMAI**, pour leur appui technique au laboratoire.
- **Monsieur Michel DIGBEU**, mon co-stagiaire avec qui nous avons surmonté les difficultés de l'expérimentation.
- Enfin merci à tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin dont je n'ai pas cité les noms.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

## **RESUME**

L'orpaillage au Burkina Faso conduit à la contamination des sols et des eaux par le cyanure qui est beaucoup utilisé lors du processus de cyanuration. La bioremédiation pourrait être un moyen efficace de restauration des ressources en eaux et des terres cultivables détériorées. Cependant l'efficacité de la bioremédiation est influencée par un certain nombre de paramètres tels que le pH et la présence d'autres nutriments en dehors du cyanure.

Ce présent travail consiste à isoler les bactéries dégradeurs du cyanure à partir des échantillons d'eaux et de sols prélevés sur le site de Zougnazagmiline. Cette isolation a permis d'obtenir un consortium de plusieurs types de bactéries. Par la suite, ces bactéries ont été utilisées pour effectuer des tests de biodégradation à différentes conditions en faisant varier le pH et le type de nutriment.

Ainsi les expériences ont montré que la biodégradation est efficace pour tous les pH étudiés : 5; 7; 9,5; 10,5 et pour tous les nutriments étudiés (glucose, sucrose, glycérol, extrait de viande, extrait de levure, sulfate d'ammonium et peptone) avec un abattement minimal de 95,5% pour la gamme de pH et de 94,21% pour les différents types de nutriments au bout de 24 h d'expérience. Le pH 9.5 a permis d'obtenir le taux d'abattement le plus élevé qui est de 99,8% et pour les nutriments c'est le glucose et l'ammonium sulfate qui ont une dégradation optimale avec des taux d'abattement respectifs 100% et 99,8%.

La constance de l'efficacité de cette biodégradation du cyanure quel qu'en soit la valeur de pH et le type de nutriment utilisé est un avantage certain pour l'application de la bioremédiation *in situ* car les conditions sont variables sur le site.

Mots-clés :

---

Biodégradation/ Cyanure/ Paramètres influençant la biodégradation/ Orpaillage/  
Zougnazagmiline

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

**ABSTRACT**

Artisanal small scale gold mining in Burkina Faso led to the contamination of soil and water by cyanide which is used a lot during the cyanidation process .The bioremediation could be a solution for restoring water resources and soil polluted by cyanide. However, the effectiveness of bioremediation is influenced by several parameters such as pH and the nutrients.

The objective in this present work is to isolate the cyanide degrading bacteria from water and soil samples that we have collected in the artisanal small scale gold mining area. Thereafter, these bacteria were used to perform bioremediation tests at various conditions by varying pH and nutrients.

As results, the biodegradation is effective for all pH (5, 7, 9.5, and 10.5) and nutrients studied (glucose, sucrose, glycerol, meat extract, yeast extract, ammonium sulfate and peptone) with a minimum efficiency rate of 95.5% for the pH range and 94.21% for different nutrients after 24 h of experiment. The pH 9.5 and the glucose have the best efficiency rate with a value respectively 100% and 99.8%.

All biodegradation tests have shown a great efficiency rate of cyanide biodegradation. This is an advantage of the bacteria consortium because they could support all pH and nutrients variation in environmental conditions.

Key words:

Biodegradation/ Cyanide/ Factors affecting biodegradation/ Artisanal small scale gold mining/ Zougnazagmiline

## LISTE DES ABREVIATIONS

**2iE**: Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement

**Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>,12H<sub>2</sub>O**: Aluminium Sulfate Dodécahydrate

**ASTM**: American Society for Testing and Materials

**ATSDR**: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

**BF**: Burkina Faso

**CE**: Commission Européenne

**CIRIDD**: Centre International de Ressources et d'Innovation pour le Développement Durable

**CN<sup>-</sup>**: Ion cyanure

**CNL**: Cyanure Libre

**CNT**: Cyanure Total

**CO**: Monoxyde de Carbone

**Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,6H<sub>2</sub>O**: Cobalt (II) Nitrate Hexahydrate

**CuSO<sub>4</sub>**: Copper Sulfate

**FeSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O**: Iron (II) Sulfate Heptahydrate

**h** : heure

**HCN**: Cyanure d'Hydrogène (Acide cyanhydrique)

**INERIS**: Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**: Di-potassium Hydrogen Phosphate

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>**: Hexacyanoferrate III

**KCN**: Cyanure de Potassium

**Ks**: Constante de stabilité

**LEDES**: Laboratoire Eau, Dépollution, Écosystème et Santé

**MECV**: Ministère de l'Environnement et du Cadre de Vie

**MEDD**: Ministère de l'Environnement et du Développement Durable

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

**MgSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O**: Magnesium Sulfate heptahydrate

**MnSO<sub>4</sub>,H<sub>2</sub>O**: Manganèse (II) Sulfate Monohydrate

**MSM**: Solution Minérale Minimale

**NaOH** : hydroxyde de sodium

**Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>,2H<sub>2</sub>O**: Sodium Molybdate Dihydrate

**NaCN**: Cyanure de Sodium

**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O**: Sodium Dihydrogen Orthophosphate Monohydrate

**NaNO<sub>3</sub>**: Sodium Nitrate

**NaOH**: Hydroxyde de Sodium (Soude)

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**: Ion ammonium

**(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Ammonium Sulfate

**Ni(CN)<sub>2</sub>**: Cyanure de Nickel

**OMS**: Organisation Mondiale de la Santé

**p.c**: poids corporel

**pH**: potentiel hydrogène

**ppm**: partie par million

**rpm** : tour par minute

**SAM**: Spectrophotomètre d'Absorption Moléculaire

**UFC/mL**: Unités Formant Colonies par millilitre

**UTM**: Unite Transverse Mercator

**UV**: Ultra-Violet

**WAD**: Weak Acid Dissociable Cyanide

**ZnSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O**: Zinc Sulfate Heptahydrate

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

## TABLE DES MATIERES

CITATION .....	i
DEDICACES.....	ii
REMERCIEMENTS .....	iii
RESUME .....	iv
ABSTRACT .....	v
LISTE DES ABREVIATIONS .....	vi
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES PHOTOS.....	xi
INTRODUCTION .....	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....	3
I.1. Généralités sur le cyanure .....	3
I.2. Rôle du cyanure dans l'orpaillage sur le site de Zougnazagmiline.....	3
I.3. Formes de cyanure .....	4
I.4. Impacts sanitaires du cyanure.....	4
I.5. Impacts environnementaux du cyanure.....	4
I.6. Les méthodes de traitements physicochimiques du cyanure .....	5
I.7. Bioremédiation.....	5
I.7.1. Notion de la bioremédiation .....	5
I.7.2. Mise en place de la bioremédiation .....	6
I.7.3. Conditions de choix d'un procédé de bioremédiation .....	7
I.7.4. Bioremédiation du cyanure .....	7
I.7.5. Facteurs influençant la bioremédiation .....	8
I.8. Etude précédente sur la biodégradation du cyanure au LEDES : cas du site d'orpaillage de Zougnazagmiline.....	10
II. MATERIEL ET METHODES .....	12
II.1. Choix du site .....	12
II.2. Présentation du site .....	12
II.3. Points de prélèvement et échantillonnage .....	13
II.3.1. Choix des points de prélèvement.....	13
II.3.2. Prélèvements des échantillons d'eaux.....	14
II.3.3. Prélèvements des échantillons de sol .....	15

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

II.4. Isolation des familles de bactéries dégradeurs de cyanure .....	15
II.4.1. Préparation du milieu de culture .....	16
II.4.2. Ensemencement des bactéries .....	17
II.5. Effet du pH sur la biodégradation du cyanure libre .....	19
II.6. Effet des nutriments sur la biodégradation du cyanure libre .....	21
II.7. Méthodes analytiques.....	21
II.7.1. Suivi de la croissance bactérienne .....	21
II.7.2. Dosage du cyanure libre.....	22
II.7.3. Dosage de l'ammonium.....	23
III. RESULTATS ET DISCUSSION .....	24
III.1. Concentrations du cyanure libre sur le site.....	24
III.2. Isolation des bactéries.....	25
III.3. Effet du pH sur la biodégradation du cyanure libre .....	26
III.4. Effet des nutriments sur la biodégradation du cyanure .....	31
CONCLUSION .....	37
RECOMMANDATIONS.....	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	39
ANNEXES.....	I

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1:Localisation du site de Zougnazagmiline.....	13
Figure 2:Points de prélèvement des échantillons de sol et d'eaux.....	14
Figure 3:Ensemencement des bactéries dégradeurs du cyanure dans le sol .....	18
Figure 4:Ensemencement des bactéries dégradeurs du cyanure dans les eaux.....	18
Figure 5:Récapitulatif de la méthode d'isolation des bactéries dégradeurs des eaux et des sols.....	19
Figure 6:Récapitulatif du processus de l'expérience: effet du pH sur la bioremédiation .....	20
Figure 7:Courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration.....	23
Figure 8:Récapitulatif des paramètres suivis et méthodes d'analyse.....	23
Figure 9:concentrations du cyanure au niveau du sol .....	24
Figure 10:Concentrations en cyanure au niveau des points d'eau .....	25
Figure 11:vue au microscope des bactéries de cyanure (a) Dans le sol et (b) Dans les eaux .....	26
Figure 12:Dégradation du cyanure et croissance bactérienne à différents pH; $[CN^-]_i=60$ mg/L ;sans nutriments.....	28
Figure 13:Dégradation du cyanure et production d'ammonium à différents pH ; $[CN^-]_i=60$ mg/L ;sans nutriments.....	29
Figure 14:Abattement du cyanure à différents pH ; $[CN^-]$ initiale=60 mg/L; sans nutriments .....	30
Figure 15:Dégradation du cyanure et croissance bactérienne avec différents sources de carbone ; pH=9,5 ; $[CN^-]_i=60$ mg/L.....	32
Figure 16:Dégradation du cyanure et croissance bactérienne pour différentes sources d'azote ; pH=9,5; $[CN^-]=60$ mg/L.....	33
Figure 17:Dégradation du cyanure et production d'ammonium pour différentes sources de carbone; pH=9,5; .....	34
Figure 18:Dégradation du cyanure et production d'ammonium pour différentes sources d'azote; pH=9,5 ; $[CN^-]_i =60$ mg/L.....	34
Figure 19:Abattement du cyanure pour différents nutriments ; pH=9.5 ; $[CN^-]$ initiale =60 mg/L.....	35

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

**LISTE DES PHOTOS**

Photo 1:Flacons en verre borosilicaté .....	15
Photo 2:a)Glacière b) Conditionneurs de froid .....	15
Photo 3:(a) Incubateur "Memmert"(b) pHmètre .....	19
Photo 4:Spectrophotomètre DR 500.....	22

## **1INTRODUCTION**

Au Burkina Faso, le secteur aurifère constitue une composante essentielle du développement socioéconomique du pays et joue un rôle très important dans l'économie nationale. En effet, les recettes générées par le secteur aurifère sont passées de 9 milliards de FCFA en 2008 à plus de 189 milliards de FCFA en 2011 (MECV, 2011). Il est caractérisé par la coexistence de l'exploitation à grande échelle pratiquée par les grandes compagnies et l'exploitation à petite échelle (mine artisanale et petite mine). La part de l'exploitation de l'or dans le PIB est croissante et avoisine 4 % si les activités informelles sont prises en compte (2 % à 2.5% sinon). L'or représente également près de 43% des exportations du pays. Dans le secteur minier, l'évolution de l'extraction industrielle n'a pas entravé la croissance de l'exploitation artisanale communément appelée orpillage. Si la première semble être réglementée, la seconde est une activité non planifiée avec des exploitants artisanaux qui, utilisant des techniques rudimentaires, passent d'un site à un autre. Il est pratiqué sur presque toute l'étendue du territoire national et on estime que plus de 1 000 000 de personnes y sont directement impliquées (CIRDD, 2014). Cependant, dans leur chaîne d'activité, les orpailleurs utilisent des produits chimiques comme le mercure, le cyanure et les acides qui sont très dangereux pour l'environnement (Kouadio K., 2014; Roamba J., 2014; kumar, et al., 2015). En effet 90% des produits utilisés pour le traitement des minerais sont le cyanure et le mercure. Ce qui a causé la pollution au cyanure de 6,34% des superficies cultivables du pays (MECV, 2011) suite au déversement de celui-ci dans l'environnement. Le cyanure et le mercure sont des poisons mortels pour les êtres vivants et des polluants néfastes pour l'environnement (Botz.M., et al., 2005) . Cependant la pollution par le cyanure est plus observée sur la majorité des sites d'orpillage car il contamine toutes les ressources en eaux et les sols des bassins versants de ces sites (Rapport public du CES, 2012). Il est donc nécessaire de décontaminer ces sites pollués.

Une étude effectuée par Sawadogo N. (2015) a porté sur la biodégradation du cyanure qui a consisté à utiliser un consortium de bactéries présentes *in situ* pour dégrader le cyanure. Cette expérience a montré l'efficacité de cette biodégradation. Mais elle a été menée dans des conditions très précises, aucun paramètre pouvant influencer cette dégradation à savoir le pH, la présence de nutriment, la température (ATSDR, 2006) n'a été varié. C'est à la suite de ce travail que s'inscrit notre étude dont l'objectif général est de tester l'efficacité de la biodégradation du cyanure à différentes conditions. Il s'agit plus spécifiquement d' :

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

- Isoler les bactéries dégradeurs du cyanure à partir des échantillons d'eau et de sol.
- Etudier les effets du pH sur la biodégradation du cyanure et l'activité bactérienne.
- Etudier les effets des nutriments sur la biodégradation du cyanure.

Pour faciliter la compréhension de ce document, il sera structuré en trois grandes parties : de premier abord; il s'agira de faire un état de l'art autour du cyanure et de la notion de biodégradation , ensuite la deuxième partie abordera les matériels et méthodes utilisés dans le cadre de cette étude et enfin en dernière partie il sera question de présenter les résultats découlant de la méthodologie appliquée et les discussions pouvant en ressortir.

## **I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **I.1. Généralités sur le cyanure**

Le terme cyanure désigne le radical anionique  $\text{C}\equiv\text{N}^-$  qui représente un atome de carbone (C) lié à un atome d'azote (N) par une triple liaison (Santé Canada, 2011). Il est très répandu dans l'environnement. Les plantes, les algues, les champignons, les bactéries ainsi que les arthropodes (insectes, arachnides, crustacés) contiennent des glycosides cyanogéniques produisant des cyanures, notamment du cyanure d'hydrogène. Les glycosides cyanogéniques sont très répandus dans plus de 1000 espèces de plantes alimentaires (Environnement Canada, 1997). Il est prouvé que les composés cyanurés jouent un grand rôle dans l'évolution biologique sur la terre (Oro'J, et al., 1981). Bien que le cyanure soit produit naturellement, les activités anthropogéniques sont responsables de la majeure partie du cyanure trouvé sur la terre. Parmi les applications commerciales du cyanure, on compte l'extraction de minerais (or, argent), le traitement des métaux, des procédés photographiques, la fabrication de caoutchouc synthétique, des synthèses chimiques, la fabrication de plastiques, le contrôle des pesticides, le débouillage des peaux, des procédés de laboratoire et la fabrication de colorants et de pigments (Baxter, et al., 2006; Santé Canada, 2011).

### **I.2. Rôle du cyanure dans l'orpaillage sur le site de Zougnazagmiline**

Le cyanure est utilisé pour extraire l'or des minerais surtout ceux de basse quantité qu'on ne peut pas facilement traiter par de simples processus comme la séparation gravitaire ou le lavage (Logdson M.J., et al., 1999). Ce procédé est appelé la cyanuration. C'est la dernière étape de récupération de l'or sur le site et l'activité la plus dangereuse de l'orpaillage (Roamba J., 2014). La cyanuration se fait sur plusieurs sites et la majorité des sites se trouvent en brousse loin des habitations. Le minerai broyé en poudre est mouillé et mélangé dans une solution de cyanure disposée dans deux excavations rectangulaires (bassins de cyanuration) peu profondes reliées au milieu par un trou de petit diamètre mais plus profond. Si les deux bassins rectangulaires sont rendues moyennement étanches à l'aide de bâche, le petit trou central ne l'est pas du tout et reçoit ainsi le suintement du liquide cyanuré de part et d'autre des deux bassins. Chaque bassin reçoit 1 kg de cyanure par opération de cyanuration qui dure trois jours (Roamba J., 2014). Après les trois jours, les boues de minerai contaminé sont entreposées aux alentours des bassins de cyanuration et l'opération recommence. Pendant les périodes hivernales, ces boues contaminées sont lessivées et charriées dans l'espace du bassin hydrographique. Les sites de cyanuration ouverts sont abandonnés, se multipliant ainsi en fonction de l'importance de l'activité d'orpaillage sur le terrain.

### **I.3. Formes de cyanure**

Le cyanure est généralement catégorisé en trois classes à savoir les cyanures libres, les acides cyanuriques dissociables et les cyanures complexés. La première classe comprend l'ion cyanure  $CN^-$  et la molécule de cyanure d'hydrogène (HCN). Le cyanure d'hydrogène est un liquide ou un gaz incolore, inflammable et plus léger que l'air. Dans des solutions à pH supérieur à 9,2, il se dissocie en  $H^+$  et  $CN^-$  et est complètement miscible avec l'eau (Towill L., et al., 1978). Les acides cyanuriques dissociables libèrent du HCN à pH avoisinant 4,5. Ce groupe est représenté par l'ion  $CN^-$  formant des molécules avec les ions de cuivre (Cu), le cadmium (Cd), le nickel (Ni), le zinc (Zn) et l'argent (Ag). Les cyanures totaux regroupent les cyanures libres, les acides cyanuriques dissociables et les cyanures associés aux métaux tels que le cyanure ferreux  $Fe(CN)_6^{-4}$ , le cyanure ferrique  $Fe(CN)_6^{-3}$ , l'hexacyanocobaltate  $Co(CN)_6^{-3}$  et bien d'autres (Botz.M., et al., 2005). Les cyanures libres sont les plus dangereux suivis des acides cyanuriques dissociables qui sont moins toxiques et les cyanures complexés avec les métaux lourds sont les moins toxiques pour les microorganismes et les moins néfastes à l'environnement (Botz.M., et al., 2005).

### **I.4. Impacts sanitaires du cyanure**

Les aliments et l'eau potable constituent les principales sources d'exposition au cyanure chez les personnes qui ne sont pas exposées à ce produit chimique dans leur milieu de travail. L'ion cyanure est un poison extrêmement toxique qui agit rapidement chez l'humain (Santé Canada, 2011). Il est l'un des plus grands inhibiteurs de croissance et de métabolisme cellulaire. Il peut également causer des tremblements, des dommages de nerfs, de la thyroïde et même la mort (Dubey S.K, et al., 1995). Des doses uniques par voie orale de 50 à 200 mg de cyanure ont provoqué la mort chez des humains (Santé Canada, 2011). La forme la plus toxique du cyanure est le cyanure d'hydrogène HCN. L'ion cyanure bloque la chaîne respiratoire mitochondriale (Charlier C., et al., 2000). Le cyanure a le même effet qu'une absence totale d'oxygène. Une personne intoxiquée à l'acide cyanhydrique meurt de son incapacité à utiliser l'oxygène. Une exposition à des concentrations de 20 à 40 ppm de HCN dans l'air pendant quelques heures peut causer des douleurs respiratoires et quelques minutes seulement d'exposition à une concentration de 250 ppm de HCN dans l'air peuvent causer la mort (Logdson M.J., et al., 1999).

### **I.5. Impacts environnementaux du cyanure**

Le relargage du cyanure dans l'environnement notamment dans les eaux est l'une des plus grandes menaces liées à l'orpaillage. Le cyanure est toxique pour beaucoup d'organismes à de

très faibles concentrations (Logdson M.J., et al., 1999). Les poissons et autres êtres vivants aquatiques sont particulièrement sensibles au cyanure. L'exposition à une concentration en cyanure libre de  $5,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  peut causer à plusieurs espèces de poissons une réduction de leur performance de nage ainsi qu'une inhibition de leur reproduction. Les algues et les macrophytes peuvent tolérer des concentrations de cyanure plus élevées que les poissons et les invertébrés. Toutefois la sensibilité au cyanure peut changer la structure du règne végétal de telle sorte que des espèces plus sensibles soient dominées par des moins sensibles (Logdson M.J., et al., 1999).

Au vu de tous ces impacts néfastes sur la santé aussi bien que sur l'environnement, diverses techniques ont été développées afin de dégrader le cyanure.

### **I.6. Les méthodes de traitements physicochimiques du cyanure**

Les cyanures peuvent être dégradés en utilisant différents types d'agents oxydants tels que l'hypochlorite, le chlore, l'ozone, les peroxydes et les peroxydes avec radiation UV. L'oxydation électrochimique ou l'oxydation avec de l'air (moyenne et haute pression) sont d'autres techniques envisageables. Des températures élevées détruisent également les cyanures dans les déchets solides (Commission Européenne, 2006). D'autres méthodes physiques comme l'échange d'ions, l'osmose inverse et la décomposition électrolytique, permettent aussi de traiter des substrats cyanurés mais ne sont pas vulgarisées (Meech J.A., 1986). Ces traitements physicochimiques sont limités par leur coût élevé et des risques de pollution environnementale cependant il existe des traitements biologiques, pour dégrader le cyanure, tels que la bioremédiation qui peuvent fournir une alternative rentable et simple au problème des eaux et des sols pollués par le cyanure (Baxter, et al., 2006).

### **I.7. Bioremédiation**

#### **I.7.1. Notion de la bioremédiation**

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, le plus souvent microscopiques (bactéries, microalgues, champignons), à dégrader les polluants en composés comme l'eau et le gaz carbonique dans le cas d'une dégradation complète ou bien en produits moins toxiques dans le cas d'une dégradation incomplète. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivés au laboratoire puis réintroduits dans le sol (bioaugmentation). La bioremédiation se déroule généralement en condition d'aérobie, cependant l'application de systèmes de

## ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

bioremédiation en condition d'anaérobie permet aussi la dégradation d'un certain nombre de molécules récalcitrantes (Abdelly C., 2006).

Les microorganismes utilisés en bioremédiation proviennent de milieux très variés et peuvent vivre dans des conditions extrêmes : à des températures en dessous de 0°C ou au contraire, très élevées, dans des milieux inondés ou en plein désert, en présence d'un excès d'oxygène ou en milieu anaérobie. En raison de leur pouvoir d'adaptation, ces microorganismes sont utilisés pour éliminer les composés xénobiotiques.

Parmi les bactéries aérobies reconnues pour leur pouvoir de dégradation, nous pouvons citer celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Mycobacterium*. Les bactéries anaérobies sont moins fréquentes que les aérobies. Dans tous les cas, l'opération implique le contrôle non seulement de la disponibilité des dépollueurs mais aussi l'ajustement en permanence des conditions de leur efficacité: quantité et type de nutriments, concentration en oxygène, pH, température et salinité (Abdelly C., 2006).

La biodégradation est un mécanisme important pour la transformation du cyanure dans les eaux de surface. Le mécanisme de biodégradation est contrôlé par la concentration en cyanure, le pH, la température, la concentration et la disponibilité des nutriments pour les souches dégradantes (ATSDR, 2006).

De façon semblable à la dégradation du cyanure dans les eaux de surface, la biodégradation du cyanure dans les sols serait contrôlée par les mêmes éléments. Dans des conditions anaérobies, les cyanures se dénitrifient en formant de l'azote gazeux (ATSDR, 2006).

### **1.7.2. Mise en place de la bioremédiation**

La bioremédiation est un ensemble de techniques mettant en œuvre des procédés de biodépollution utilisables pour réduire la toxicité, la mobilité ou le volume d'un contaminant dans les sols, le sous-sol, les eaux et les effluents gazeux. La bioremédiation peut être *in situ* ou *ex situ* (Roger P., et al., 2000).

Pour une bioremédiation *in situ*, on distingue deux techniques qui sont l'approche écologique microbienne et le traitement microbien (Roger P., et al., 2000). Pour l'approche écologique microbienne, il faut adapter les caractéristiques physiques et chimiques du site pour optimiser l'activité microbienne dépolluante après que la présence de ces derniers ait été prouvée. Pour le traitement microbien, soit la population microbienne capable de dégrader le cyanure doit

être augmentée sur le site une fois que leur présence a été prouvée ou il faut déverser des microorganismes externes au site qui vont assurer la dégradation sur le site pollué.

### **I.7.3. Conditions de choix d'un procédé de bioremédiation**

Plusieurs critères permettent de juger de la possibilité de réaliser ou non un procédé de bioremédiation tels que le choix de la population bactérienne, son efficacité in situ ou ex situ, le choix du procédé et sa rentabilité. Il est aussi plus facile d'éliminer un polluant à un endroit précis que s'il est dispersé sur l'ensemble d'une zone donnée et d'éliminer un seul polluant à la fois. L'estimation de la réalisation d'un procédé passe par 4 étapes qui sont la recherche des microorganismes performants, des tests de laboratoire pour définir les conditions optimales de la dégradation, le dispositif approprié, le contrôle de l'efficacité du procédé et le coût (Roger P., et al., 2000).

Pour la recherche des microorganismes performants, il faut :

- S'assurer qu'ils sont adaptés à la composition du sol ou du substrat.
- Isoler les souches de microorganismes qui ne sont pas disponibles sur le site à dépolluer.

La détermination des conditions optimales de la dégradation et du dispositif doivent permettre de déterminer les valeurs des paramètres favorables et défavorables à la croissance des bactéries.

Les contrôles permettront de suivre la croissance bactérienne avec le temps, de déterminer les quantités des produits résiduels issus de l'activité microbienne et de vérifier si le traitement marche.

L'étude financière permet de connaître le coût d'un tel procédé mise en place à grande échelle.

### **I.7.4. Bioremédiation du cyanure**

Plusieurs auteurs ont reconnu la bioremédiation comme étant une technique permettant de dégrader le cyanure dans l'eau et le sol (Chaptawala K.D., et al., 1998; Botz.M., et al., 2005; Baxter, et al., 2006). Des bactéries spécifiques dégradent le cyanure en l'utilisant comme source d'azote et de carbone (Kumar V., et al., 2013) pour donner des produits moins toxiques comme l'ammonium et le dioxyde de carbone. Ces auteurs pensent que la bioremédiation représente une alternative moins coûteuse et beaucoup plus écologique par rapport aux

conventionnels traitements physicochimiques que nous connaissons. Cependant ils estiment qu'il est nécessaire d'optimiser l'application de la bioremédiation aux eaux et sols et particulièrement de développer un système de processus microbiologiques qui soit efficace et qui résiste aux conditions environnementales extrêmes. Il est en effet capital d'y arriver afin que la bioremédiation puisse concurrencer et remplacer les traitements physicochimiques du cyanure (Baxter, et al., 2006).

#### **1.7.5.Facteurs influençant la bioremédiation**

Plusieurs facteurs peuvent influencer favorablement ou défavorablement la bioremédiation. Ce sont la température, le pH du milieu de la bioremédiation, la concentration initiale en nutriments, la concentration initiale du cyanure, la quantité de microorganismes dégradeurs du cyanure (Figueira M., et al., 1996; Chaptawala K.D., et al., 1998; Dursun A.Y., et al., 1999).

##### **1.7.5.1.Effet du pH**

Le pH peut affecter deux paramètres de la bioremédiation à savoir la forme du cyanure et les bactéries épuratrices. En effet à pH acide, le cyanure se retrouve sous la forme de cyanure d'hydrogène très volatil et néfaste pour la santé. La bioremédiation peut se faire en milieu acide comme en milieu basique, cela dépend du type de microorganismes épurateurs et la forme de cyanure à dégrader. Mais plusieurs études ont montrées que le plus souvent il y'a une valeur optimale.

Chaptawala K.D. (1998) , en utilisant *Pseudomonas putida* ont constaté que le pH optimal est de 7,5 pour la bioremédiation du cyanure sous la forme CN<sup>-</sup>.La valeur initiale du pH a une grande influence sur la dégradation microbienne du cyanure ferreux par les *Pseudomonas fluorescens* P70, la dégradation maximale qui est de 30 mg/g/L et une croissance bactérienne considérable ont été détectées pour un pH égal à 5. Aux valeurs de pH 3 et 9, l'activité bactérienne est inhibée et aucune élimination significative du cyanure n'est observée (Dursun A.Y., et al., 1999). La souche C3 de *bulkhoderia cepacia* est capable de dégrader le cyanure pour des valeurs de pH comprises entre 8 et 10, avec une dégradation maximale de 1.85 mg CN/h à un pH égal à 10 (Adjei.D, et al., 2000).

Des études portant sur la dégradation du cyanure par les *fungus F.solani* en milieu basique (pH compris entre 9,2 et 10,7) ont montré que le cyanure était dégradé par hydratase et amidase. Un milieu basique réduit les risques de volatilisation du cyanure d'hydrogène, rendant l'utilisation des microorganismes et enzymes tolérant les conditions basiques plus attirante pour la dégradation du cyanure contenue dans l'eau.

## ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

Le pH du milieu de la biodégradation peut changer durant le test. Chapatawala et al. (1998) ont observé une petite augmentation du pH initial à la 120<sup>ème</sup> heure durant la bioremédiation du cyanure libre, des cyanates et du thiocyanate par des cultures immobilisées de *Pseudomonas putida*. Ils attribuent cette augmentation à l'accumulation de NH<sub>3</sub> formé par la division du groupe CN<sup>-</sup>. Après la 120<sup>ème</sup> heure, le pH commence à augmenter grâce à l'effet neutralisant de l'acide carboxylique formé durant l'expérience.

### **1.7.5.2. Effet de la concentration initiale en cyanure**

La concentration initiale des composés cyanurés est l'un des facteurs les plus importants de la biodégradation du cyanure. Le plus souvent ces composés cyanurés sont utilisés comme nutriment pour les bactéries. En effet le cyanure de par sa formule (C≡N) suggère la présence de deux éléments nécessaires à la croissance des bactéries à savoir le carbone et l'azote. Plusieurs études ont montré que la capacité des bactéries à se développer dans un milieu contenant le cyanure comme seule source de carbone et d'azote (Mekuto.L, et al., 2013; Sawadogo N., 2015; Razanamahandry L., et al., 2016).

Bien que l'utilisation du cyanure comme nutriment soit favorable à la croissance des bactéries, certaines concentrations de ce dernier peuvent inhiber cette croissance. Ainsi la plus petite concentration de cyanure à laquelle les bactéries ne peuvent se développer est appelée concentration minimale inhibitrice.

Concernant les études de Sawadogo N. (2015), cette concentration était de 100mg/L. Dursun et al (1999), en utilisant *Pseudomonas fluorescens* P70 pour dégrader le cyanure ferreux, ont noté que le taux d'élimination augmente avec l'augmentation de la concentration du cyanure ferreux à 50 mg/L et à 100 mg/L en présence de glucose à une concentration de 0,465 g/L. Les taux maximaux d'élimination du cyanure ferreux et de croissance bactérienne obtenus sous ces conditions sont respectivement de 30,7 mg/g/h et de 0,08 h<sup>-1</sup>. A des concentrations plus élevées, ces derniers diminuent parce que les ions de cyanure ferreux ont un potentiel inhibiteur sur la croissance cellulaire. Ainsi il ne peut y'avoir de croissance bactérienne en utilisant le cyanure ferreux comme seule source de carbone et d'azote.

L'augmentation de la concentration de KCN pour la dégradation du cyanure par les *Trametes versicolor* a montré une diminution du taux d'élimination du cyanure. Pour une concentration initiale de KCN de 25 mg/L, le taux de dégradation était de 84%, et pour une concentration de KCN de 400 mg/L le taux était de 27% (Cabuk A., et al., 2006).

### ***1.7.5.3. Concentration initiale du nutriment : cas du glucose***

Il existe plusieurs bactéries capables de croître dans un milieu contenant uniquement le cyanure comme source de nutriment en l'occurrence le carbone et l'azote. Mais d'autres comme les *Pseudomonas fluorescens* P70 et la souche C3 de *Bhurkholderia cepacia* ne peuvent pas croître dans un milieu contenant uniquement le cyanure comme nutriment. Dans ces cas-là, il est nécessaire d'ajouter une source externe de carbone comme le glucose en général (Dursun A.Y., et al., 1999), arabinose, fructose, galactose, mannose et xylose, mais il semble que l'hexose (fructose et glucose) favorise l'utilisation du cyanure, avec le pentose (arabinose et xylose) on note une faible dégradation du cyanure par les *B. Cepacia* (Adjei.D, et al., 2000) .

En utilisant les *Pseudomonas fluorescens* P70 pour la dégradation du ferrocyanure, il a été constaté que les faibles concentrations de glucose favorisent des rendements élevés pour le glucose et le cyanure ferreux. La concentration optimale du glucose était de 0,465 g.L<sup>-1</sup>, elle a permis une élimination par les bactéries de 98% du glucose et 60% du cyanure ferreux. Pour des concentrations en glucose plus faibles, le glucose a été totalement consommé par les bactéries mais le taux d'élimination du cyanure a baissé. Au-delà d'une concentration en glucose de 0,465 g/L, on constate généralement une diminution du rendement d'élimination du glucose.

### **1.8. Etude précédente sur la biodégradation du cyanure au LEDES : cas du site d'orpillage de Zougnazagmiline**

Cette recherche a été réalisée par Sawadogo N. (2015) et a eu pour objet d'étudier, à l'échelle du laboratoire, la biodégradation du cyanure libre par les bactéries isolées à partir des échantillons d'eaux et de sol prélevés sur ledit site. Son expérience s'est tenue sur 27 heures et a porté sur des concentrations de cyanure libre de 40, 60 et 80 mg/L. Un milieu de culture spécifique aux bactéries dégradeurs de cyanure a été utilisé pour l'ensemencement. Les résultats de ses ensemencements ont révélé la présence des bactéries sur l'ensemble des points de prélèvement d'eau et leur concentration allait jusqu'à 11500 UFC/mL. Les caractéristiques physiques de ces bactéries ont été observées au microscope. Certaines sont blanchâtres, d'autres luminescentes et en forme de chaînette et sont de taille variable. Ces colonies appartiennent à plusieurs familles de par leurs différences physiques. Au bout de 27 heures, un taux d'abattement de cyanure libre variant de 95 à 99 % a été obtenu et la concentration optimale de biodégradation était de 60 mg/L. Les microorganismes utilisés ont montré une croissance considérable dans les trois solutions de cyanure libre après une période de latence

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

de 3 heures. Ses travaux ont par ailleurs montré qu'une concentration de 100 mg/L était la dose létale pour les bactéries. Aussi, l'ammonium libéré suite à la biodégradation du cyanure constitue une source d'azote pour les bactéries.

## **II. MATERIEL ET METHODES**

Afin d'atteindre les objectifs de notre étude qui sont de conduire à l'échelle du laboratoire des tests de biodégradation à différentes conditions (pour différentes valeurs de pH et type de nutriment) et d'étudier les effets de chacun de ces paramètres, nous avons recouru à un certain nombre de matériels et une méthodologie bien précise qui va de la collecte des échantillons sur le site aux expériences en laboratoire.

### **II.1.Choix du site**

Ce travail fait suite à celui de Sawadogo N. (2015) sur la biodégradation du cyanure dans les eaux: cas du site d'orpaillage de Zougnazagmiline. Le choix de ce site a été fait lors des travaux de Roamba (2014), qui étaient d'identifier les risques environnementaux et sanitaires sur ce même site d'orpaillage au Burkina Faso, après divers examens des informations reçues à la direction générale du cadastre des mines, notamment sur les sites à fortes affluences. L'accessibilité au site et la disponibilité des données nécessaires à la réalisation du projet sont les principales raisons pour lesquelles le site de Zougnazagmiline a été choisi. Aussi, la bonne collaboration et la disponibilité des autorités tout au long de l'étude nous ont encouragés à retenir ce site pour ces recherches.

### **II.2.Présentation du site**

Le site d'orpaillage de Zougnazagmiline est situé dans la commune rurale de Boroum. La commune rurale de Bouroum quant à elle est située dans la province du Namentenga au Centre-Nord du Burkina Faso comme l'indique la figure 1. Le climat est de type sahélien et caractérisé par une saison sèche d'une durée de 7 à 8 mois allant d'octobre à mai et une saison pluvieuse de 4 à 5 mois allant de juin à septembre. La zone est constituée de cours d'eau temporaire, d'un barrage, de forages et de puits. Les sols sont de nature sableux, argilo-sableux, argilo-gravillonnaires, ferrugineux et hydro-morphes.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

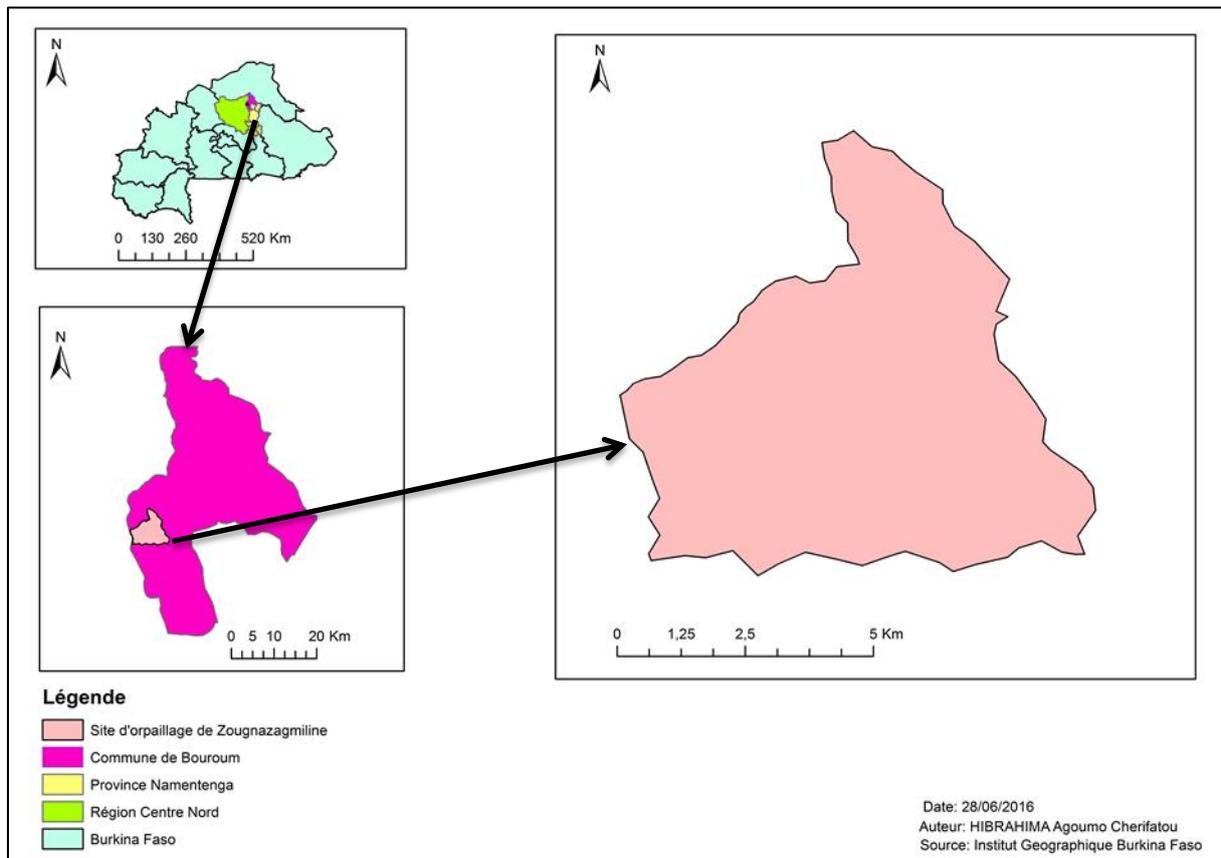


Figure 1: Localisation du site de Zougnazagmiline

## II.3. Points de prélèvement et échantillonnage

### II.3.1. Choix des points de prélèvement

La collecte des échantillons d’eaux et de sol sur le site de Zougnazagmiline a été faite aux différents points de prélèvement déjà établis lors des travaux de Sawadogo N. (2015) ainsi qu’à de nouveaux points qui ont été ajoutés ultérieurement. Les critères de détermination des points ajoutés comme des anciens sont le sens d’écoulement de l’eau, les cours d’eaux existants, la position de l’exutoire et des bassins de cyanuration qui sont considérés comme des sources potentielles de pollution de manière à étudier la propagation du cyanure à partir de ceux-ci. À ces critères s’ajoute la théorie de Mathilde. Cette théorie dit qu’un polluant dont la source est sur la rive droite du bassin versant, il n’y a aucune raison que ce polluant se retrouve sur la rive gauche. Si c’est le cas, c’est que cette contamination a une autre source se trouvant sur la rive gauche. Notre site se trouvant sur la rive droite, nous avons concentré nos points de prélèvement sur celle-ci. Au total 138 échantillons de sol ont été prélevés au niveau de 36 points et 15 échantillons d’eaux (13 forages, 1 barrage et 1 rivière) sur le site de Zougnazagmiline (figure 2).

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

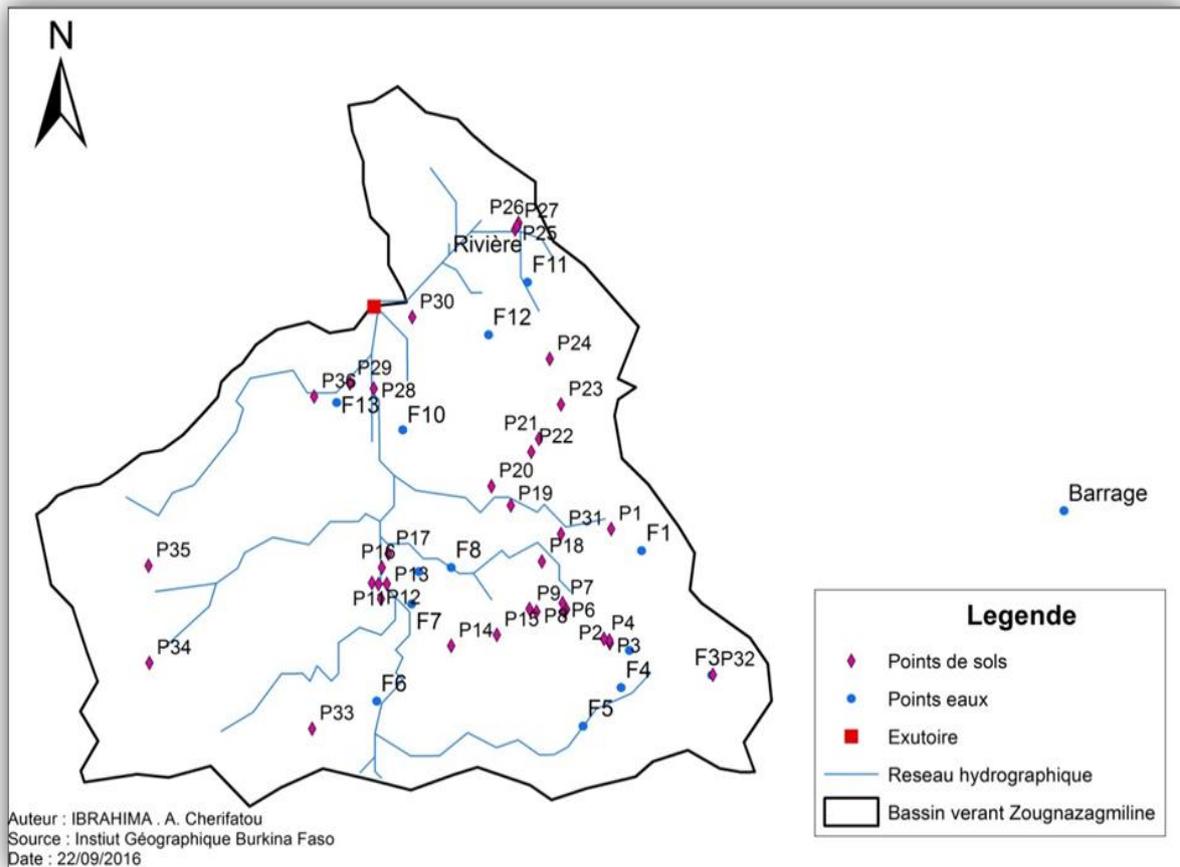


Figure 2:Points de prélèvement des échantillons de sol et d'eaux

### II.3.2.Prélèvements des échantillons d'eaux

Quinze (15) échantillons d'eaux ont été prélevés sur le site de Zougnazagmiline. Ces prélèvements ont été faits à l'aide des flacons en verre borosilicaté de 500 mL (photo 1) qui ont été préalablement stérilisés à 160° C au four pendant 20 minutes au laboratoire à la veille de la mission et étiquetés après le prélèvement. Des pastilles de NaOH ont été ajoutées à ceux-ci après lecture pour élever le pH afin d'éviter la volatilisation du cyanure. Les échantillons sont conservés à 4°C dans des glacières en présence d'accumulateurs de froid (photo 2) pour maintenir la flore microbienne intacte. Les analyses ont été faites 48 heures après le prélèvement, ce qui est dans la norme car le délai d'analyse pour les eaux est de 72 heures pour les paramètres microbiologiques.

# ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE



Photo 1: Flacons en verre borosilicaté

## II.3.3. Prélèvements des échantillons de sol

Les échantillons de sol ont été prélevés par carottage vertical à l'aide d'une tarière manuelle. La tarière a une hauteur de 1 m et est graduée en pas de 20 cm. Ainsi au niveau de chaque point, l'objectif est d'obtenir 5 échantillons de sol par subdivisions de 20 cm.

Les échantillons ont été conditionnés dans des sachets plastiques transparents, stériles et étiquetés. Après chaque prélèvement, la tarière était nettoyée afin d'éviter toute contamination d'un point à un autre. Les échantillons sont ensuite conservés dans des glacières avec des accumulateurs de froid à 4°C avant les analyses. Les échantillons ont été analysés au laboratoire LEDES (2iE) 3 jours après le prélèvement pour éviter la dégradation des paramètres microbiologiques. L'échantillon étant des sols et ayant été conservés dans les normes, toutes les caractéristiques microbiologiques sont restées intactes.



Photo 2: a) Glacière b) Conditionneurs de froid

## II.4. Isolation des familles de bactéries dégradeurs de cyanure

Dans les eaux comme dans le sol, il existe une multitude de bactéries diverses et variées. Ainsi, il convient donc dans le cadre de notre travail d'isoler le type qui nous intéresse à savoir les bactéries dégradeurs du cyanure.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

De ce fait, des analyses ont été faites sur les échantillons d'eaux et de sols prélevés à partir du site d'orpillage afin d'en isoler les bactéries dégradeurs du cyanure. Ainsi un milieu de culture, spécifique à ce type de bactéries, composé de l'agar noble, des sels minéraux et de cyanure comme seule source de carbone et d'azote, a été préparé (Oudjehani K., et al., 2002). La concentration de cyanure était de 23 mg/L car cette concentration se situe dans la fourchette de valeur (23 à 50 mg/L) qu'une bactérie doit pouvoir dégrader pour que la biodégradation du cyanure soit efficace (INERIS, 2011). En vue d'isoler le maximum de familles de bactéries dégradeurs du cyanure, la concentration du cyanure utilisée a été donc minimalisée. Le milieu ainsi composé est autoclavé à 121°C pour la préparation et la stérilisation. Le pH est ensuite ajusté à 9,5 pour éviter la volatilisation du cyanure sous forme de HCN. Ce milieu est ensuite coulé dans des boîtes de Pétri dans lesquelles seront ensemencées les échantillons. Cette étape est appelée ensemencement. On peut récapituler le processus de cette isolation en deux étapes qui sont la préparation du milieu de culture et l'ensemencement.

#### **II.4.1. Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture utilisé est un mélange constitué d'une solution minérale minimale (MSM), d'une solution de potassium de cyanure et d'agar noble.

La solution MSM est constituée à partir des mélanges MSM<sub>A</sub> et MSM<sub>B</sub>. Le MSM<sub>A</sub> est un milieu comprenant des sources d'azote, de phosphore et des oligo-éléments alors que le MSM<sub>B</sub> contient les métaux traces.

Pour la préparation du MSM<sub>A</sub>, des solutions ont été élaborées dans des fioles de 100 mL à partir de différentes quantités des composés suivants: 0,88 g (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O), 2,26 g (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 2,05 g [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], 0,052 g (MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) et 1 g (NaNO<sub>3</sub>).

Le MSM<sub>B</sub>, constitué de métaux traces a été par contre préparé dans une fiole unique de 100 mL à partir des composés suivants : 29,03 mg (CoSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O), 47,43 mg [Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 12H<sub>2</sub>O], 15,96 mg (CuSO<sub>4</sub>), 28,75 mg (ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O), 278,01 mg (FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O), 169,02 mg (MnSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O) et 48,39 mg (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 2H<sub>2</sub>O).

Par la suite, les volumes des sels du MSMA suivants: 9,6 mL (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O) +19,49 mL (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) +12,49 mL [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] +0,59 mL (MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) +17,69 mL (NaNO<sub>3</sub>), 1 mL du MSM<sub>B</sub> et 20 g d'Agar-agar technique ont été introduits dans une fiole de 1 L dont le volume fut complété avec de l'eau ultra-pure puis le mélange fut agité et homogénéisé pendant 5

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

minutes sur une plaque chauffante. Une fois homogénéisé, le milieu sera autoclavé à 121°C pendant au moins 3 h puis refroidi à une température d'environ 50°C avant l'ajustement de son pH.

Pour l'ajustement du pH, on a utilisé de la soude NaOH de concentration 10 N pour élever le pH à 8,5 avant d'ajouter la solution de cyanure de potassium KCN de concentration 23 mg/L. Enfin du NaOH a encore été ajouté pour élever à 9,5 afin d'éviter la volatilisation. Cette étape s'est déroulée en milieu stérile sous la hotte ventilée.

Le milieu ainsi préparé a été coulé dans des boîtes de Pétri qui serontensemencées 24h plus tard.

#### **II.4.2.ensemencement des bactéries**

Afin d'ensemencer les bactéries contenues dans le sol cyanuré, les échantillons de sol ont d'abord subi un traitement particulier. Dix (10) grammes de chaque échantillon de sol ont été pesés et introduits dans des béchers puis complétés jusqu'à 90 mL avec de l'eau peptonée, bouillon de culture permettant d'arracher les bactéries de leur support et faciliter leur ensemencement. Après cela, 100 µL ont été prélevés pour être ensemencés à la surface des boîtes de Pétri (figure 3). Après ensemencement, les boîtes de Pétri ont été introduites dans l'incubateur "Mammert" à une température de 28°C. Au 7<sup>ème</sup> jour, les boîtes de Pétri ont été retirées de l'incubateur et le dénombrement s'est fait à l'aide du compteur Colony Counter Digital S.

L'isolation des bactéries à partir des échantillons d'eau s'est faite suivant les mêmes procédures que celle des bactéries contenues dans le sol à la différence près que les échantillons d'eau n'ont subi aucun traitement préalable à l'eau peptonée. Ils ont été directement prélevés après agitation (figure 4).

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

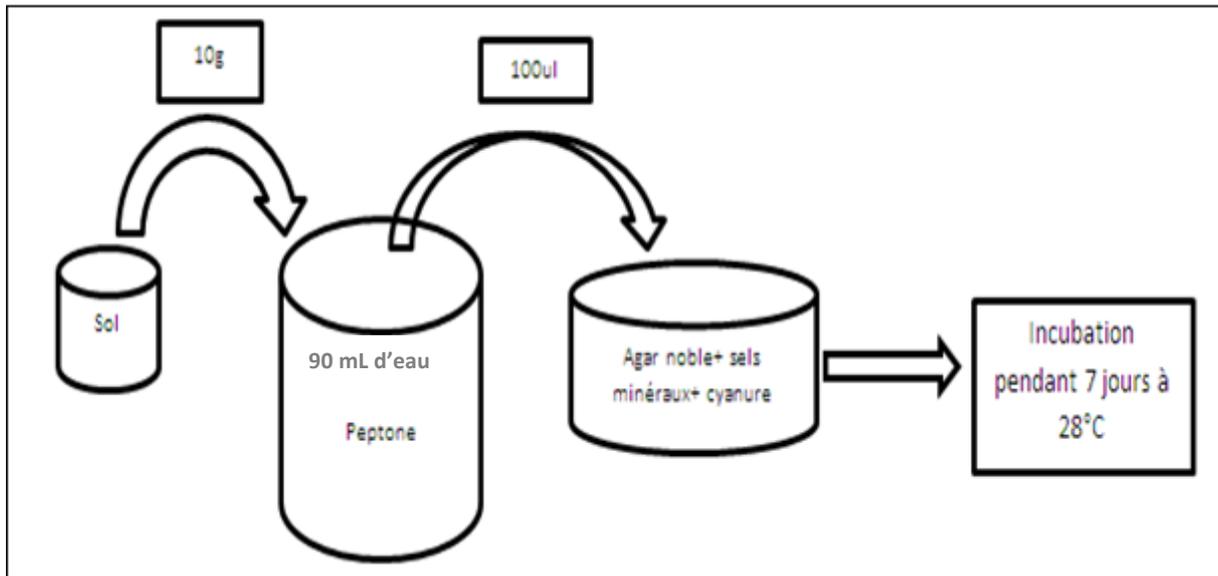


Figure 3:Ensemencement des bactéries dégradateurs du cyanure dans le sol

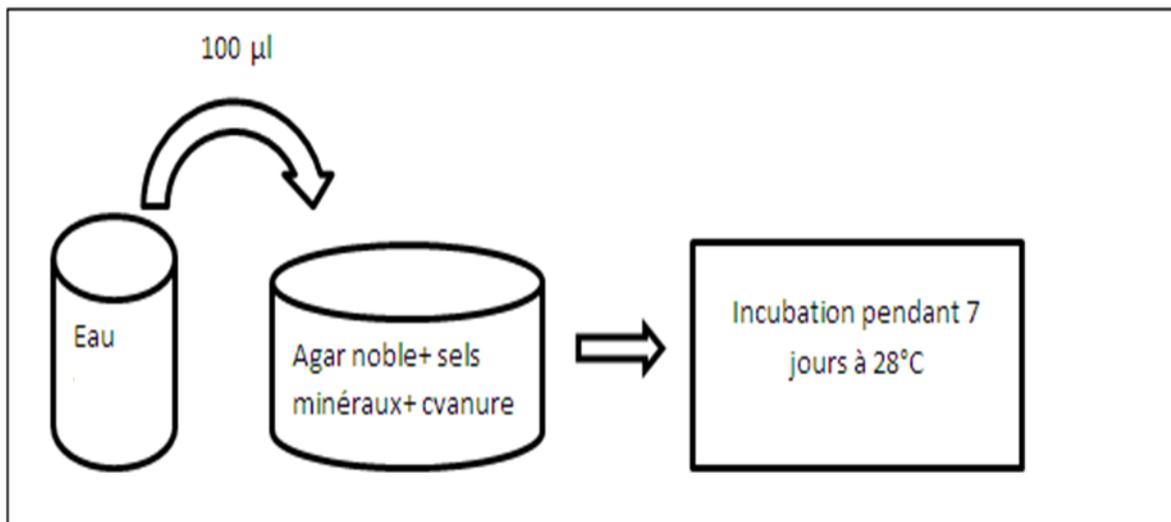


Figure 4:Ensemencement des bactéries dégradateurs du cyanure dans les eaux

Après ensemencement des bactéries pour en isoler celles capables de dégrader le cyanure, nous avons effectué une culture de ces bactéries. Pour se faire, un bouillon de culture est préparé dans un ballon à fond plat. Dans ce bouillon de culture, les colonies contenant les bactéries dégradateurs ont été ensemencées (figure 5) et conservées dans l'incubateur "Memmert" (photo 3) à 30°C pendant 24 heures puis au réfrigérateur à 4°C en attendant son utilisation. Toute cette opération s'est effectuée sous une hotte pour éviter la contamination par des microorganismes étrangers.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

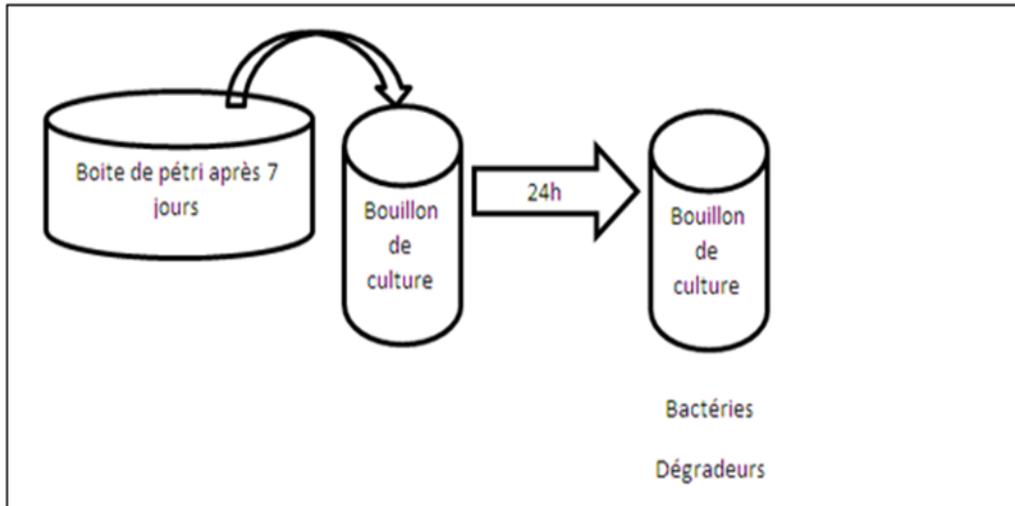


Figure 5:Récapitulatif de la méthode d'isolation des bactéries dégradeurs des eaux et des sols



Photo 3:(a) Incubateur "Mettmert"(b) pHmètre

## II.5. Effet du pH sur la biodégradation du cyanure libre

Ce test de l'effet du pH sur la biodégradation a pour but de déterminer l'influence du pH du milieu sur la capacité des bactéries à dégrader le cyanure libre afin de savoir si la biodégradation serait efficace ou non à différents pH.

Pour se faire quatre milieux ont été préparés ; ces milieux sont des solutions de cyanure libre de concentration  $C = 60 \text{ mg/L}$  et un volume  $V = 250 \text{ mL}$  contenues dans des erlenmeyers, une même quantité de 1 mL de solution de bactéries dégradeurs du cyanure dont la densité

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

bactérienne initiale est mesurée a été ajoutée aux quatre milieux. Les pH des milieux 1, 2, 3,4 sont respectivement de 5 ; 7 ; 9,5 et 10,5. Le choix de la concentration de 60 mg/L nous a été inspiré par la précédente étude de Sawadogo (2015), en effet c'est la concentration pour laquelle elle a eu le plus grand rendement de dégradation du cyanure. Ces milieux sont sous agitation magnétique de 200 rpm et le test se déroule sous la hotte ventilée.

L'ajustement du pH s'est fait par l'ajout d'acide chlorhydrique et de soude NaOH, de concentration 10 N chacun, grâce à une pipette pasteur selon qu'on veuille respectivement abaisser ou élever la valeur du pH.

Au cours de cette expérience, le suivi de la dégradation du cyanure est assuré par le prélèvement chaque 1 heure pendant 24 heures de chaque échantillon pour le dosage du cyanure libre, le dosage de l'ammonium, la mesure de la croissance bactérienne et les pH de tous les milieux ont été contrôlés pendant toute la durée de l'expérience.

Le processus expérimental est récapitulé à la figure 6.

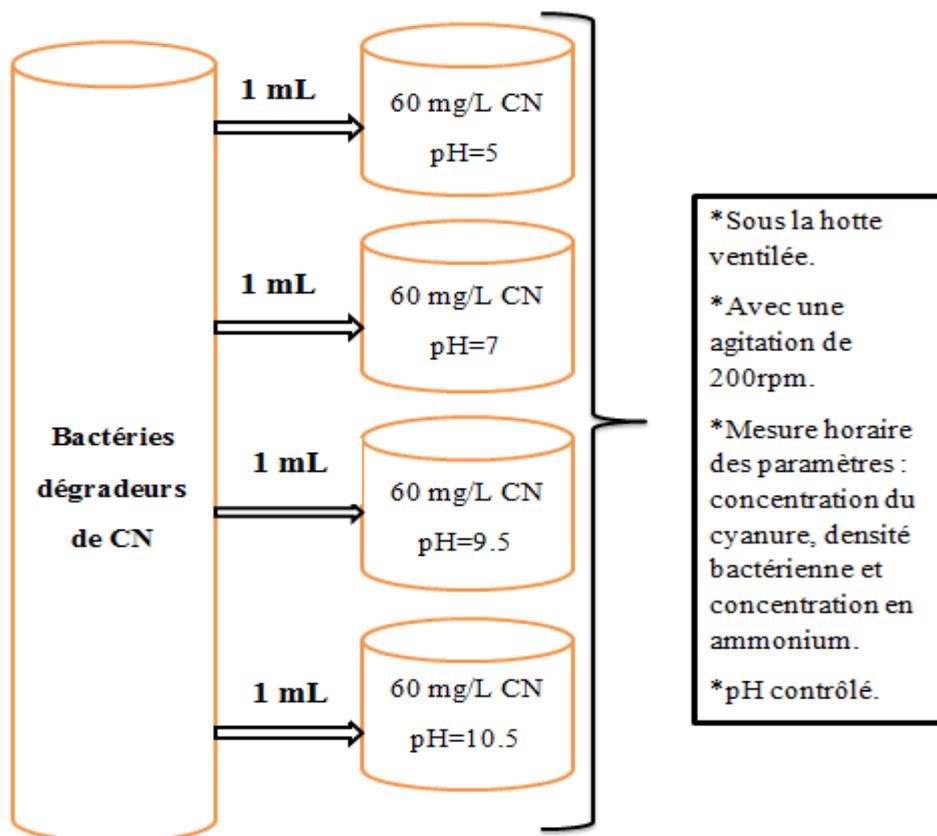


Figure 6:Récapitulatif du processus de l'expérience: effet du pH sur la bioremédiation

## **II.6.Effet des nutriments sur la biodégradation du cyanure libre**

Ce test a pour but de déterminer l'influence de la présence de nutriments dans le milieu sur l'efficacité de la biodégradation. De ce fait, deux catégories de nutriments à savoir les sources de carbone et les sources d'azote ont été ajoutées au milieu de biodégradation afin de savoir lequel des nutriments permettrait d'obtenir le plus grand taux d'abattement du cyanure.

Ainsi comme source de carbone on a choisi le glucose, le sucrose et le glycérol et comme sources d'azote on a choisi l'extrait de viande (meat extract), l'extrait de levure (yeast extract), le sulfate d'ammonium et la peptone.

Le choix de ces nutriments se justifie par le fait que leur utilisation soit récurrente dans la littérature dans le cadre des études portant sur la biodégradation du cyanure (Dursun A.Y., et al., 1999; Kumar V., et al., 2013; Mirizadeh S., et al., 2014).

Pour faire ce test, sept milieux ont été préparés. Ces milieux sont des solutions de cyanure libre de concentration  $C = 60 \text{ mg/L}$  et un volume  $V = 250 \text{ mL}$  contenues dans des erlenmeyers, une même quantité de 1 mL de solution de bactéries dégradeurs du cyanure dont la densité bactérienne initiale est mesurée a été ajoutée aux huit milieux. A chacun des milieux, ont été ajoutés individuellement les nutriments cités plus haut à une concentration de 20 mg/L. Ces milieux sont sous agitation magnétique de 200 rpm et le test se déroule sous la hotte ventilée. Au cours de cette expérience, le suivi de la dégradation du cyanure est assuré par le prélèvement chaque 1 heure pendant 24 heures de chaque échantillon pour le dosage du cyanure libre, le dosage de l'ammonium, la mesure de la croissance bactérienne et le pH de tous les milieux a été contrôlé pendant toute la durée de l'expérience.

## **II.7.Méthodes analytiques**

### **II.7.1.Suivi de la croissance bactérienne**

Au cours de nos analyses, la méthode d'évaluation de la croissance bactérienne a consisté à lire la densité optique des bactéries à une longueur d'onde de 600 nm à l'aide du spectrophotomètre d'absorption moléculaire HACH DR 5000 (photo 4).

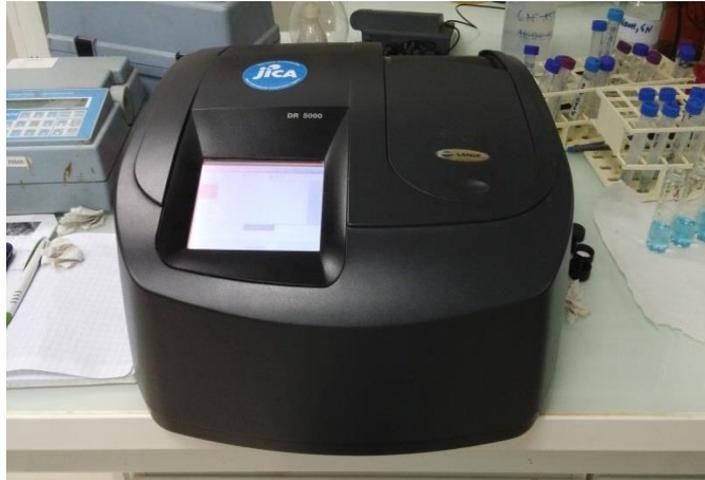


Photo 4:spectrophotomètre DR 500

### II.7.2.Dosage du cyanure libre

Le dosage du cyanure a été fait par la méthode Pyridine-Pyrazalone fournie par la compagnie HACH. Cette méthode consiste à l'ajout de réactifs pour l'obtention d'une couleur bleue et à la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 612 nm.

Avant la détermination des absorbances des échantillons, un test de sensibilité de l'appareil de mesure du cyanure libre a été réalisé pour obtenir une courbe d'étalonnage.

À cet effet, des solutions de cyanure  $CN^-$  de concentrations respectives 0, 50, 100, 150 et 200 mg/L ont été préparées. Elles sont appelées solutions étalons. Des cuves de 10 mL ont permis de doser le cyanure libre. Les réactifs cyaniver 3, cyaniver 4 et cyaniver 5 ont été utilisés. Dans cet ordre, ces réactifs ont été ajoutés respectivement aux échantillons après des temps d'attente de 30, 10 et 10secondes, les échantillons ont été agités et après 30 mn, leurs absorbances respectives ont été lues à l'aide du spectrophotomètre d'absorption moléculaire (SAM) HACH DR 5000 à une longueur d'onde de 612nm. Grâce à l'équation  $y = 0,0062x$  ( $R^2=0,997$ ) où y désigne l'absorbance et x la concentration (en  $\mu\text{g/L}$ ) comme le montre la figure 7, les concentrations des échantillons d'eau et du sol ont été obtenues.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

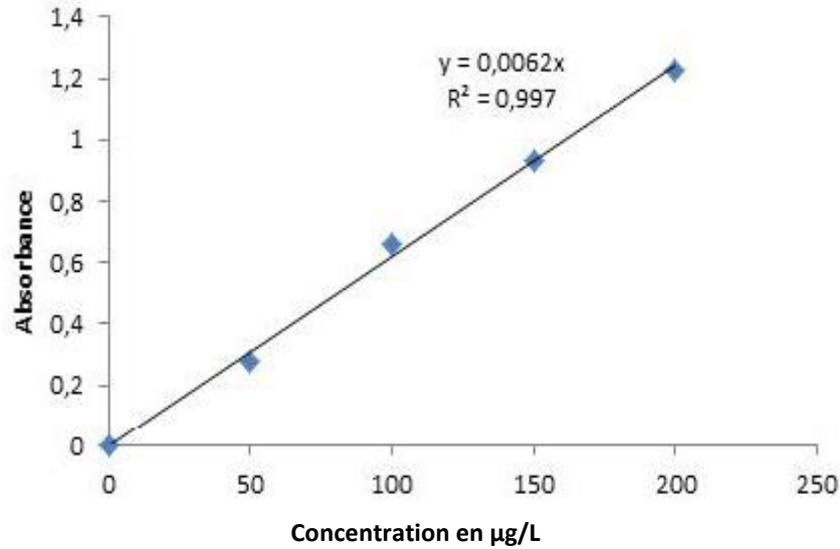


Figure 7: Courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration

### II.7.3. Dosage de l'ammonium

La concentration en ammonium est déterminée par spectrophotométrie d'absorption moléculaire par la méthode HACH à une longueur d'onde de 425 nm à l'aide du spectrophotomètre d'absorption moléculaire HACH DR 5000. La teneur en ammonium a été lue après ajout de trois réactifs selon l'ordre suivant: 3 gouttes du minéral stabilisateur + 3 gouttes de polyvinyle d'alcool + 1 mL de Nessler.

Pour le traitement des données et des résultats, plusieurs logiciels ont été utilisés. Il s'agit de:

- Excel 2013: calcul des teneurs en cyanure, en ammonium, densité bactérienne, rendements, graphes de comparaison d'abattement du cyanure.
- Origin6: tracé des graphes de biodégradation.

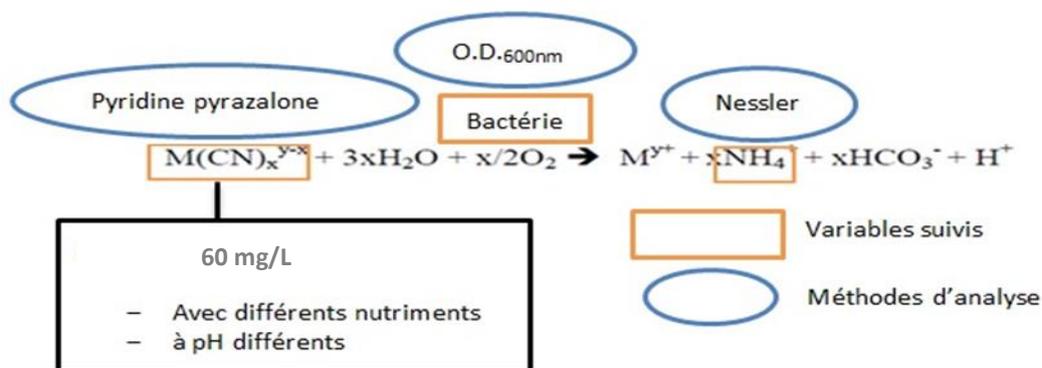


Figure 8: Récapitulatif des paramètres suivis et méthodes d'analyse

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

#### III.1. Concentrations du cyanure libre sur le site

Les analyses ont révélé que les concentrations de cyanure libre dans le sol sont comprises entre 0,0301 et 1,344 mg/Kg de sol (figure 9) et dans les eaux, elles variaient de 0,002 à 0,049 mg/L (figure 10). Les normes sont fixées à 0,07 mg/L de cyanure libre pour l'eau et 0,5 mg/Kg de sol. Nous constatons que la pollution des eaux n'est pas hors de la norme fixée par l'OMS. Par contre au niveau des sols, les concentrations de cyanure mesurées sont au-delà de la norme. Les concentrations du cyanure aussi bien dans les eaux que dans les sols sont supérieures à celles obtenues par Sawagodo N. (2015) qui variaient de 0 à 0,0112 mg/L pour les eaux de forages et de 0,023 et 0,902 mg/Kg pour les sols. Cela s'explique par le fait que sur le site de Zougnazagmiline, les processus de dégradation naturelle du cyanure sont beaucoup plus lents que l'apport de cyanure dû aux activités d'orpillage qui se poursuivent avec leur lot de pollution.

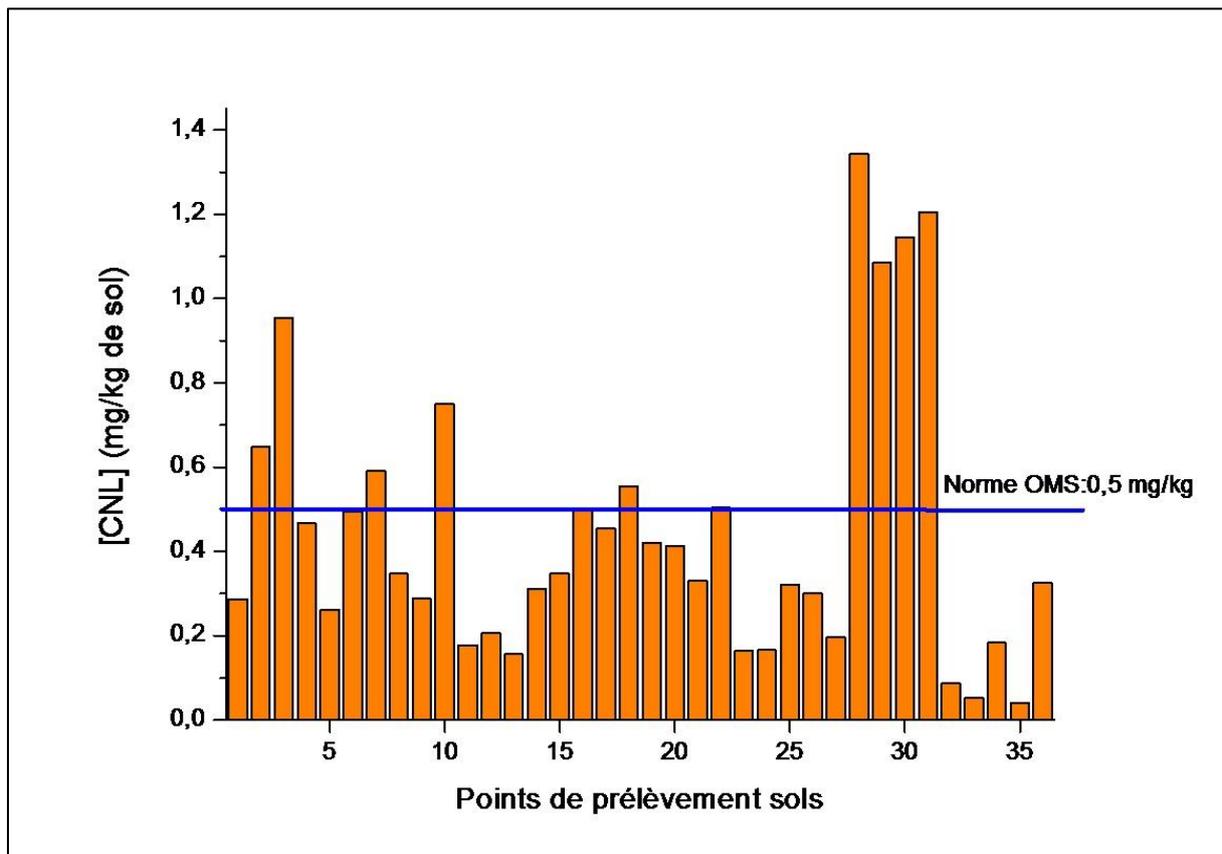
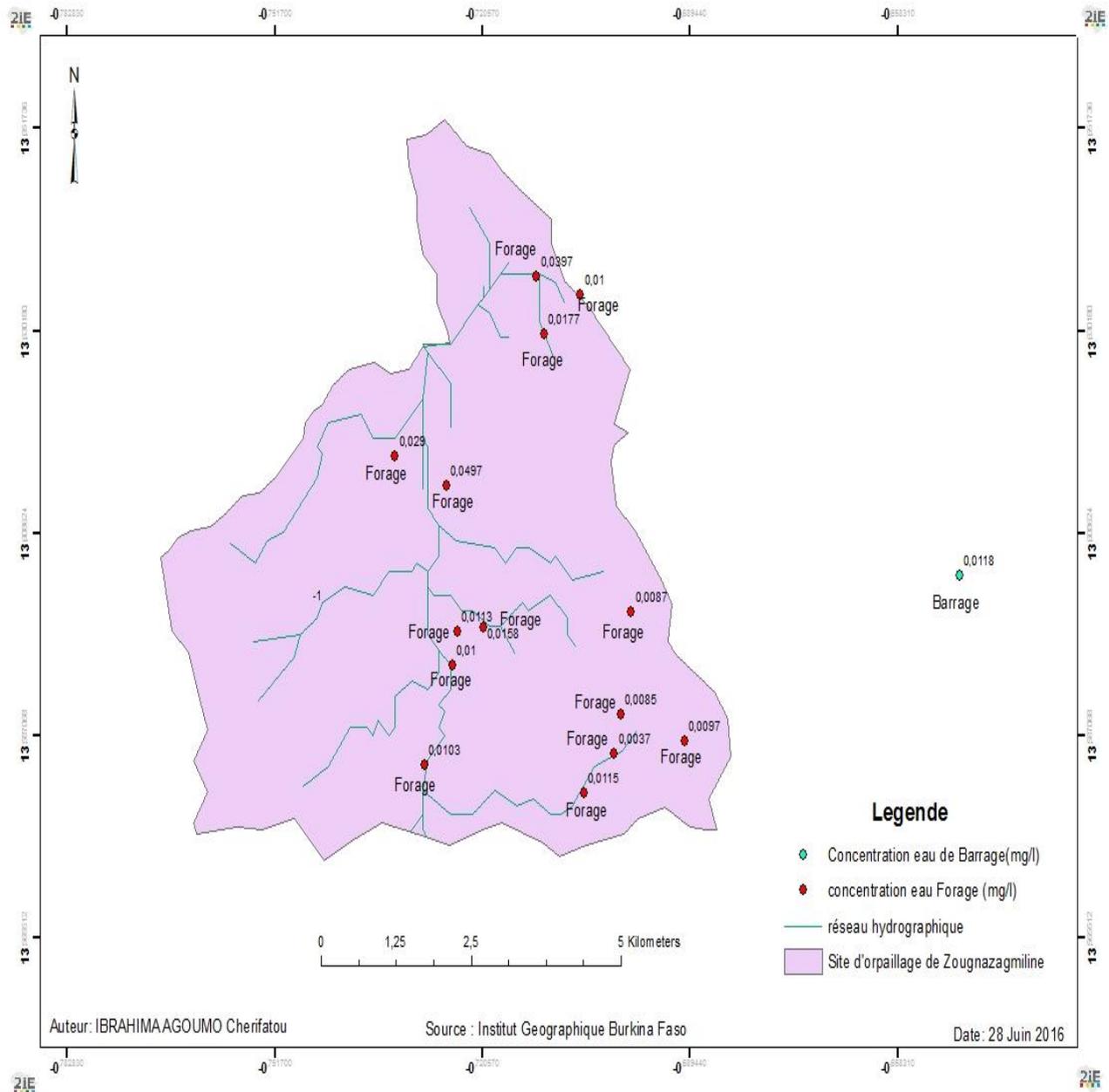


Figure 9: concentrations du cyanure au niveau du sol

**ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE**



**Figure 10:Concentrations en cyanure au niveau des points d'eau**

**III.2.Isolation des bactéries**

Les résultats de nos analyses ont montré la présence des bactéries dégradeurs du cyanure dans les eaux et dans le sol. Rappelons que le milieu utilisé pour la culture bactérienne était spécifique aux bactéries dégradeurs de cyanure. C'est un milieu sélectif comprenant l'azote, le phosphore, les oligo-éléments ainsi que les éléments traces. Dans les eaux, la concentration des colonies bactériennes a varié de 400 à 16000 UFC/mL. Dans les sols, elle a varié de 2500 à 190000 UFC/kg de sol. Ces concentrations sont supérieures à celles obtenues par Sawadogo N. (2015). Les observations au microscope ont permis d'apprécier leurs caractéristiques et

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

leurs familles. Comme dans le cas des études antérieures, certaines sont blanchâtres, d'autres luminescentes et en forme de chaînette comme le montre la figure 11. Ces bactéries appartiennent à plusieurs familles de par leurs différences physiques. Ingoversen K. et al (1991) ont isolé à partir des eaux usées des bactéries pouvant dégrader le cyanure par la même méthode et effectué des tests qui se sont avérés concluants; les colonies isolées avaient les mêmes caractéristiques. Cependant en faisant des tests ADN, ils ont découvert que c'étaient plusieurs bactéries différentes telles que *Klebsiellapneumoniae*, *Moraxella*, *Serratia*, et *Alcaligenes* qui ont été identifiés comme bactéries dégradeurs de cyanure par cette méthode.

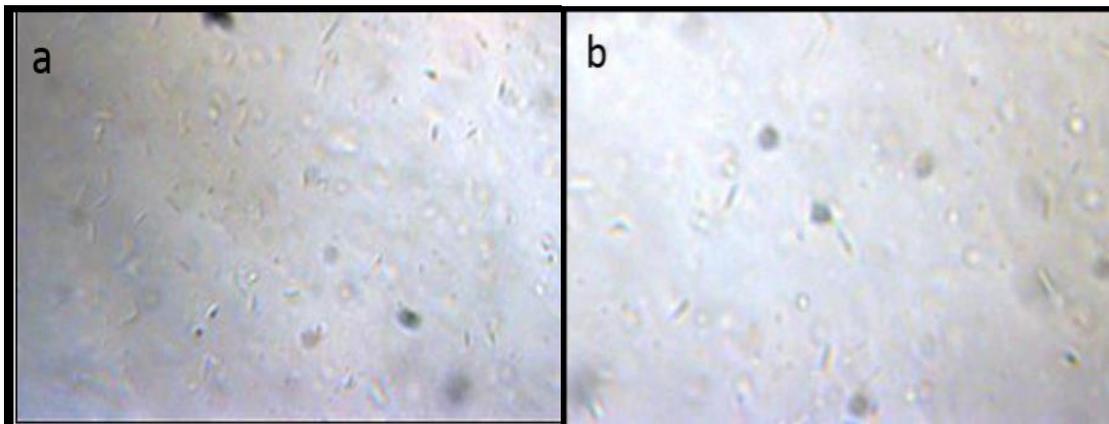


Figure 11:vue au microscope des bactéries de cyanure (a) Dans le sol et (b) Dans les eaux

### III.3.Effet du pH sur la biodégradation du cyanure libre

L'acidité ou l'alcalinité du milieu de biodégradation peut affecter les caractéristiques physiologiques et biochimiques des microorganismes épurateurs (Kumar V., et al., 2013) et conséquemment cela peut avoir des incidences sur la biodégradation du cyanure. De ce fait, il est important d'étudier la biodégradation à différentes conditions (acidité, alcalinité, neutralité).

Pour cette expérience nous cherchons dans un premier temps à savoir si la biodégradation est possible pour tous les pH grâce à l'interprétation des courbes de biodégradation (qui sont la dégradation du cyanure couplée à la croissance bactérienne et la production d'ammonium couplée à la dégradation du cyanure). Ensuite nous analyserons les taux d'abattement pour chaque valeur de pH grâce à des diagrammes comparatifs afin d'en déduire les valeurs plus favorables à la biodégradation.

La figure 12 traduit la dégradation du cyanure libre et la croissance bactérienne en fonction du temps pour une concentration de CN de 60 mg/L et respectivement pour les valeurs de pH égal à 5 ; 7 ; 9,5 et 10,5.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

Les courbes décroissantes représentent l'évolution de la concentration de cyanure pour les différentes valeurs de pH tandis que les courbes croissantes sont représentatives de l'évolution de la population bactérienne.

La concentration en cyanure varie peu au tout début de l'expérience, il en est de même pour la population bactérienne. En effet pour les bactéries on distingue deux phases de croissance (Prescott L., et al., 2002) : une phase de latence et une phase exponentielle. Le temps de latence d'une bactérie est le temps qu'elle met pour s'habituer à son nouvel environnement en particulier les ressources et à utiliser ces ressources de manière optimale (Prescott L., et al., 2002). Cette phase est nécessaire car le milieu peut être différent de celui auquel les microorganismes étaient habitués. Dans ce cas, ces cellules pourraient avoir besoin de sécréter de nouvelles enzymes pour utiliser ces nouveaux nutriments. Les bactéries ont en effet besoin de temps pour s'adapter à un changement d'environnement (Mekuto.L, et al., 2013). Mekuto.L et al. (2013) ont trouvé que le temps de latence du *bacillus Sp* consortium à une concentration en cyanure de 200 mg/L était de 3 jours, le nôtre est de 7 heures. Cette phase peut aussi être plus longue pour les mêmes microorganismes en fonction de l'âge des microorganismes. Par contre, Akcil et al (2003) ont trouvé un temps de latence de 5 à 8 heures pour le *Pseudomonas Sp* avec une concentration de 100 mg/L. Le temps de latence varie donc en fonction de la bactérie et aussi de la concentration en cyanure dans le milieu. Pendant la phase exponentielle, les microorganismes se développent et se divisent à la vitesse maximale car elles sont habituées au milieu et ont sécrété les enzymes nécessaires pour utiliser le cyanure présent (Prescott L., et al., 2002). L'augmentation de la population bactérienne en même temps que la diminution du cyanure, prouve que les bactéries consomment le cyanure comme source de nutriments (Potivichayanon S., et al., 2010).

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

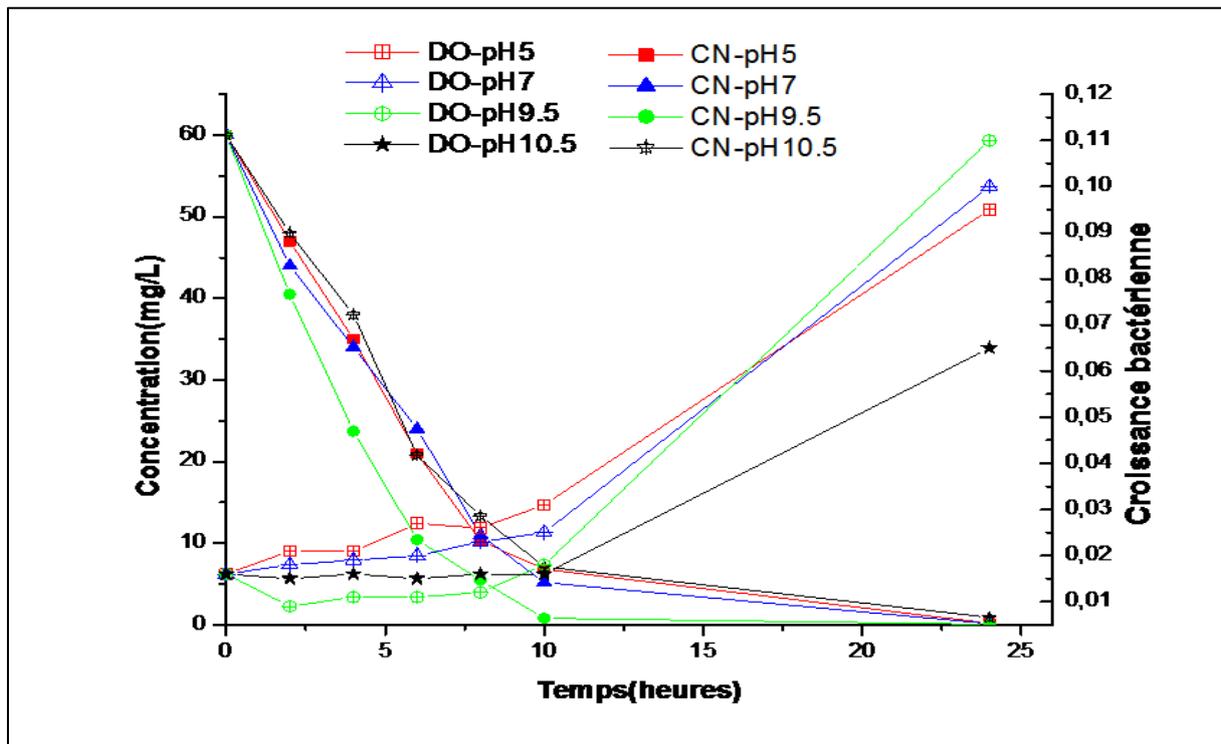


Figure 12: Dégradation du cyanure et croissance bactérienne à différents pH;  $[CN]_i = 60 \text{ mg/L}$ ; sans nutriments

$[CN]_i$ : Concentration initiale en cyanure

Dans tous les milieux, la dégradation du cyanure libre s'est produite en deux phases. Entre 0 et 10 heures de test, la dégradation a été rapide ainsi à 10h on a observé des taux de dégradation de 90,27 ; 91,3 ; 98 ; 89,12% respectivement pour pH=5, pH=7, pH=9,5, pH=10,5. La deuxième phase se caractérise avec une dégradation ralentie qui se situe entre 10 et 24 heures. Les rendements de biodégradation se sont légèrement améliorés, au bout de 24h. Pour les pH=5 ; pH=7 ; pH=9,5 ; pH=10,5 on a obtenu respectivement 98,6% ; 98,8% ; 99,8% ; 95,5%. Pour le pH=9,5 ; le taux de dégradation obtenu est semblable à celui de Sawadogo.N (2015) qui était de 99,3%. Cela s'explique par le fait que nos bactéries soient isolées à partir du même site et présentent les mêmes caractéristiques que celles de Sawadogo.N (2015) et aussi les mêmes modes opératoires ont été utilisés pour nos expériences.

La figure 13 représente les évolutions respectives des concentrations de cyanure et d'ammonium en fonction du temps pour une concentration initiale en cyanure de 60mg/L et pour des différentes valeurs de pH.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

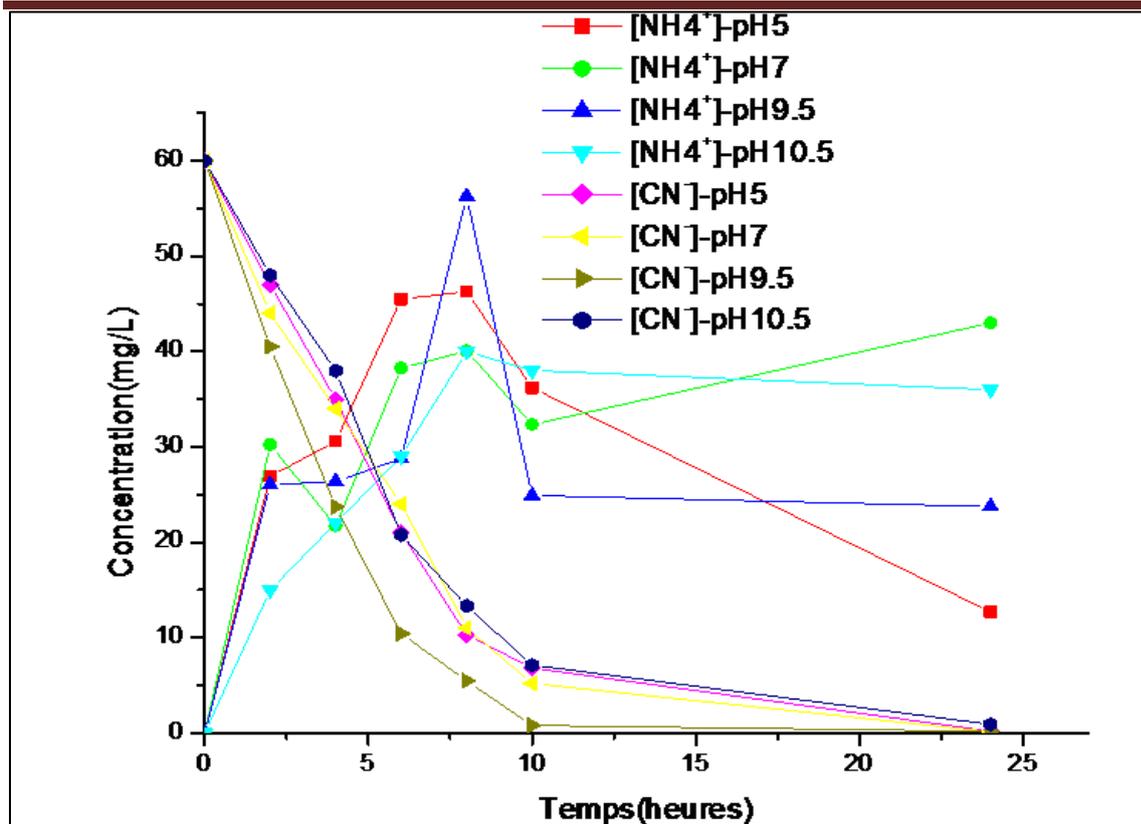


Figure 13: Dégradation du cyanure et production d'ammonium à différents pH ; [CN]<sub>0</sub>=60mg/L ; sans nutriments

Au cours des tests de biodégradation du cyanure libre, le produit de la réaction qui a été suivi est l'ion ammonium. Ces résultats sont conformes à ceux de Sawadogo N. (2015) qui a obtenu le même produit de dégradation durant ses tests. Cette conformité s'explique par le fait que les expériences se sont réalisées dans les mêmes conditions que les siennes. Aussi on observe une alternance d'augmentation et de diminution de la concentration en ammonium. Ces résultats sont en accord avec ceux de Mekuto L. et al. (2013) et Sawadogo N. (2015) selon lesquels la teneur en  $\text{NH}_4^+$  peut fluctuer lors des tests de biodégradation. En effet, les colonies dégradeurs de cyanure seraient constituées de différentes sortes de bactéries. Certaines seraient des bactéries nitrifiantes qui transformeraient l'ion  $\text{NH}_4^+$  en nitrites puis en nitrates (INERIS, 2011). Ainsi, l'augmentation de la concentration en  $\text{NH}_4^+$  concomitante à la dégradation du cyanure révèle que les bactéries ont utilisé le cyanure d'abord comme source de carbone à travers la libération de  $\text{NH}_4^+$  (Mekuto.L, et al., 2013). Par ailleurs, il peut arriver qu'au cours des tests de biodégradation, certaines des bactéries préfèrent l'ammonium au cyanure lorsqu'il atteint une certaine concentration.

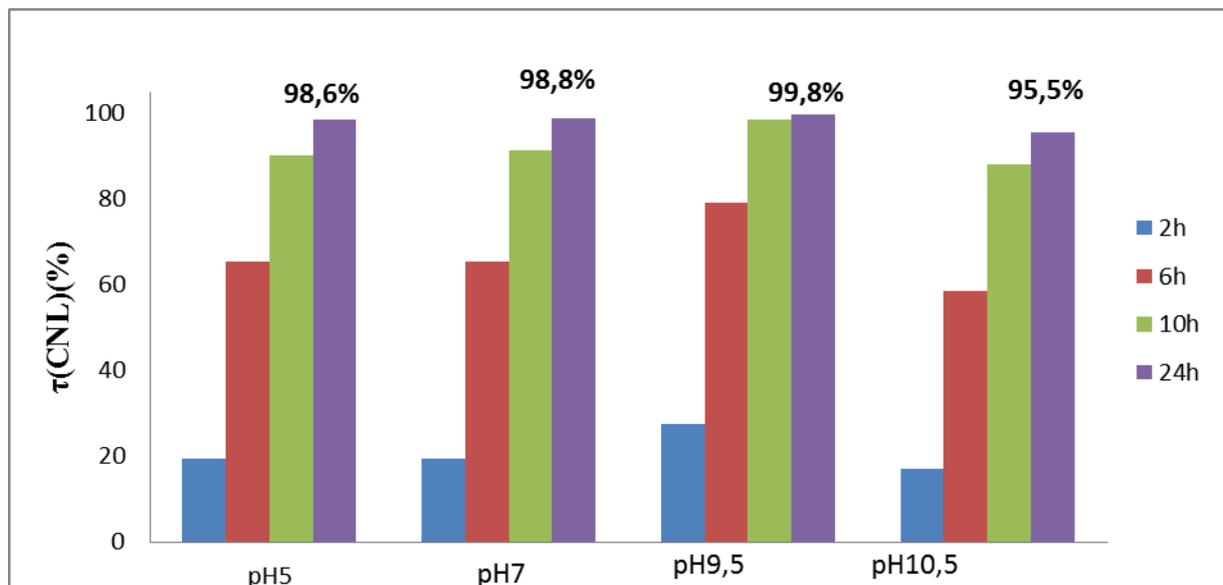
Un tel phénomène entrainerait la formation et la dégradation consécutive de  $\text{NH}_4^+$  par des bactéries nitrifiantes et fera baisser le taux de dégradation du cyanure. La dégradation du cyanure et de l'ammonium par *Bacillus sp* a montré que ces bactéries sont à la fois des

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

bactéries dégradeurs de cyanure et des bactéries nitrifiantes qui peuvent cependant être utilisées dans la réduction de  $\text{NH}_4^+$  (Mekuto.L, et al., 2013). Les microorganismes dégradeurs du cyanure peuvent alterner leur métabolisme selon la présence du cyanure ou de l'ammonium en utilisant ces deux substrats pour l'activation ou la désactivation du type de métabolisme dépendant du substrat disponible.

La figure 14 représente les taux d'abattement du cyanure pour les différentes valeurs de pH : 5 ; 7 ; 9,5 ; 10,5 à différents instants. Elle nous montre que la biodégradation du cyanure est efficace pour toutes les valeurs de pH étudiées avec un taux d'abattement minimal de 95,5%. En effet de par le fait que nous ayons isolé plusieurs espèces de bactéries, chaque espèce avec ses caractéristiques physiologiques et biochimiques qui lui sont propres, on pourrait émettre l'hypothèse selon laquelle pour une valeur de pH donnée on a au moins une espèce qui arrive à se développer et comme toutes ces espèces ont en commun le fait de dégrader le cyanure cela explique le fait que la biodégradation du cyanure soit efficace pour toutes les valeurs de pH.



$\tau$  (CNL) (%) : taux d'abattement du cyanure libre en pourcentage

Figure 14: Abattement du cyanure à différents pH ;  $[\text{CN}^-]$  initiale=60 mg/L; sans nutriments

Le pH=9,5 est le pH optimal car il permet d'obtenir le plus grand rendement de dégradation du cyanure avec 99,8% mais aussi la plus grande croissance bactérienne suivi du pH=7 et le pH=5 avec des taux d'abattement respectifs de 98,8% et 98,6%. Quant au pH=10,5 ; il a le plus faible taux d'abattement (95.5%) et la plus petite croissance bactérienne.

## ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

Globalement nous constatons que pour bon nombre d'études portant sur la biodégradation, nous avons des valeurs de pH respectives pour lesquelles la croissance des bactéries épuratrices est inhibée. Lors de leur étude portant sur la biodégradation du cyanure ferreux, Dursun A.Y. et al. (1999) ont montré que pour les valeurs de pH 3 et 9, la croissance des *Pseudomonas Fluorescens* est inhibée et aucune élimination significative du cyanure n'est observée. Aussi, Kumar V. et al. (2013) lors de son étude portant sur la dégradation du cyanure en utilisant comme bactéries les *Serratia marcescens* RL2b, a obtenu une meilleure dégradation pour le pH 6 avec un abattement de 95% mais au-delà de cette valeur de pH=6, on assiste à une brusque diminution du taux d'abattement jusqu'au pH=10 où ils ont obtenu un rendement de 20% seulement. Cela est dû au fait que les bactéries qu'ils ont utilisées se développent mieux en milieu acide et leur croissance est inhibée quand le pH tend vers la basicité. Adjei D. et al (2000) ont montré que la souche C3 de *bulkhoderia cepacia* est capable de dégrader le cyanure pour des valeurs de pH comprises entre 8 et 10 uniquement, avec une dégradation maximale de 1,85 mg CN/h à un pH égal à 10 mais pour les autres valeurs de pH, les bactéries ont du mal à croître, ce qui justifie leur incapacité à dégrader le cyanure de manière efficace. On se rend compte à travers ces exemples, qu'avec un seul type de bactérie, il est difficile que la biodégradation soit efficace pour une large gamme de pH, le plus souvent il y'a une seule valeur optimale et un petit intervalle de valeurs de pH pour lequel la dégradation serait possible car pour les autres valeurs de pH, la croissance des bactéries épuratrices est réduite voire inhibée. Ce qui nous permet contrairement à ces études d'obtenir une efficacité de la biodégradation avec différents types de pH (acide, basique, neutre) est le fait d'utiliser des colonies constituées de plusieurs différentes familles de bactéries dégradeurs du cyanure. Cela représente un avantage pour la mise en place de la bioremédiation sur le site car il ne sera alors pas nécessaire d'ajuster le pH du milieu.

### **III.4.Effet des nutriments sur la biodégradation du cyanure**

Le plus souvent le cyanure est utilisé comme nutriment par les bactéries. En effet le cyanure de par sa formule ( $C\equiv N$ ) suggère la présence deux éléments nécessaires à la croissance des bactéries à savoir le carbone et l'azote. Plusieurs études ont montré la capacité des bactéries à se développer dans un milieu contenant le cyanure comme seule source de carbone et d'azote (Mekuto.L, et al., 2013; Razanamahandry L., et al., 2016). Cependant la présence d'autres nutriments peuvent favoriser la croissance bactérienne ainsi favoriser la dégradation du cyanure. Pour connaître leurs effets sur nos tests de biodégradation, ces différents nutriments

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

ont été ajoutés à nos milieux de biodégradation et des graphes de biodégradation ont été établis pour les sources de carbone et d'azote.

Les figure 15 et figure 16 traduisent la dégradation du cyanure libre et la croissance bactérienne en fonction du temps pour une concentration initiale de  $CN^-$  de 60 mg/L, pour un  $pH=9,5$  et respectivement pour différentes sources de carbone et d'azote.

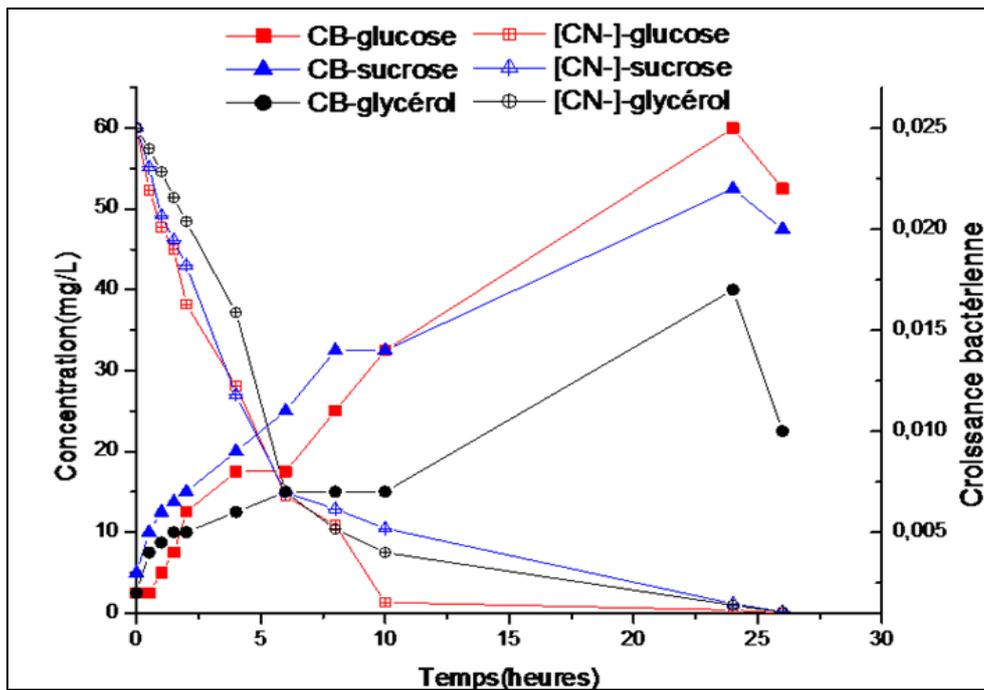


Figure 15: Dégradation du cyanure et croissance bactérienne avec différents sources de carbone ;  $pH=9,5$  ;  $[CN^-]_i=60$  mg/L

Parmi les sources de carbone et d'azote externes utilisées, ce sont le glucose et le sulfate d'ammonium qui ont permis d'avoir des croissances bactériennes plus importantes que quand le cyanure est l'unique nutriment. Avec le glucose et l'ammonium sulfate, les densités bactériennes finales au bout de 24h sont respectivement 10 et 22 fois supérieures aux densités initiales alors qu'en absence de ces nutriments la densité finale est 7 fois supérieure à la densité initiale. En effet la présence de certains nutriments accélère le métabolisme de ces microorganismes en agissant comme un facteur de croissance pour elles (Sawadogo N., 2015; Razanamahandry L., et al., 2016).

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

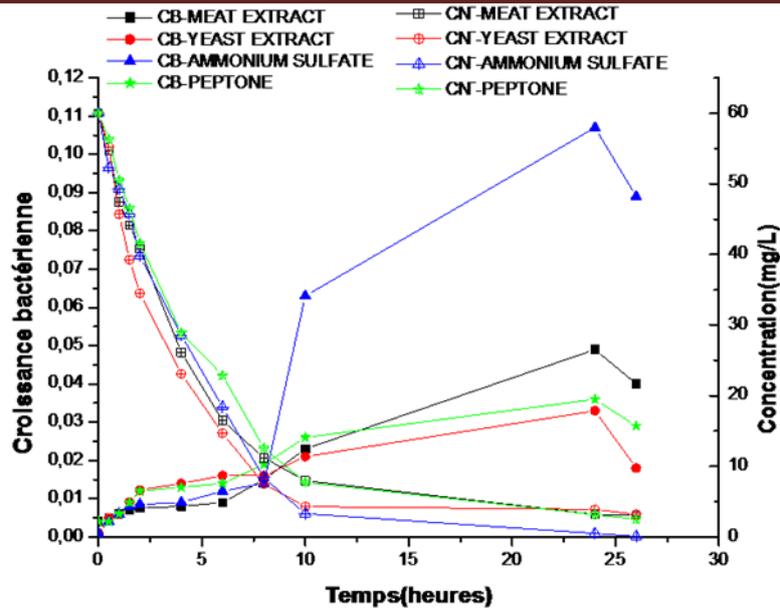


Figure 16: Dégradation du cyanure et croissance bactérienne pour différentes sources d'azote ; pH=9,5; [CN<sup>-</sup>]=60 mg/L

Pour les deux types de nutriments, on distingue deux phases de dégradation : une dégradation très rapide entre 0 et 10h et une dégradation lente entre 10 et 24h. Après 25h le nombre de bactéries décroît, cela est dû au fait que les nutriments ont été consommé par celles-ci.

L'ammonium est le produit de dégradation du cyanure qui a été suivi lors de notre étude comme pour les travaux portant sur la biodégradation du cyanure en conditions basiques de Mirizadeh S. et al (2014), les études de Sawadogo N. (2015) et celles de Razanamahandry L et al (2016).

Les figure 17 et figure 18 représentent les évolutions respectives des concentrations de cyanure et d'ammonium en fonction du temps pour une concentration initiale en cyanure de 60mg/L et un pH=9.5 pour différentes sources de carbone et d'azote respectivement. Pour les deux sources de nutriments on remarque de fortes productions d'ammonium dont les pics correspondent à des fortes dégradations de cyanure. On constate qu'il y'a une fluctuation de la concentration d'ammonium due à la formation et la dégradation consécutive de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> par des bactéries nitrifiantes qui font partie des colonies de bactéries qu'on a isolé. En effet dans certains cas, certaines bactéries capables de dégrader le cyanure en l'utilisant comme source de carbone se mettent à consommer l'ammonium produit par la dégradation du cyanure au bout d'un certain temps comme source d'azote. Ces bactéries ont donc une préférence pour l'ammonium par rapport au cyanure si ce dernier est présent en grande quantité (Mekuto.L, et al., 2013).

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

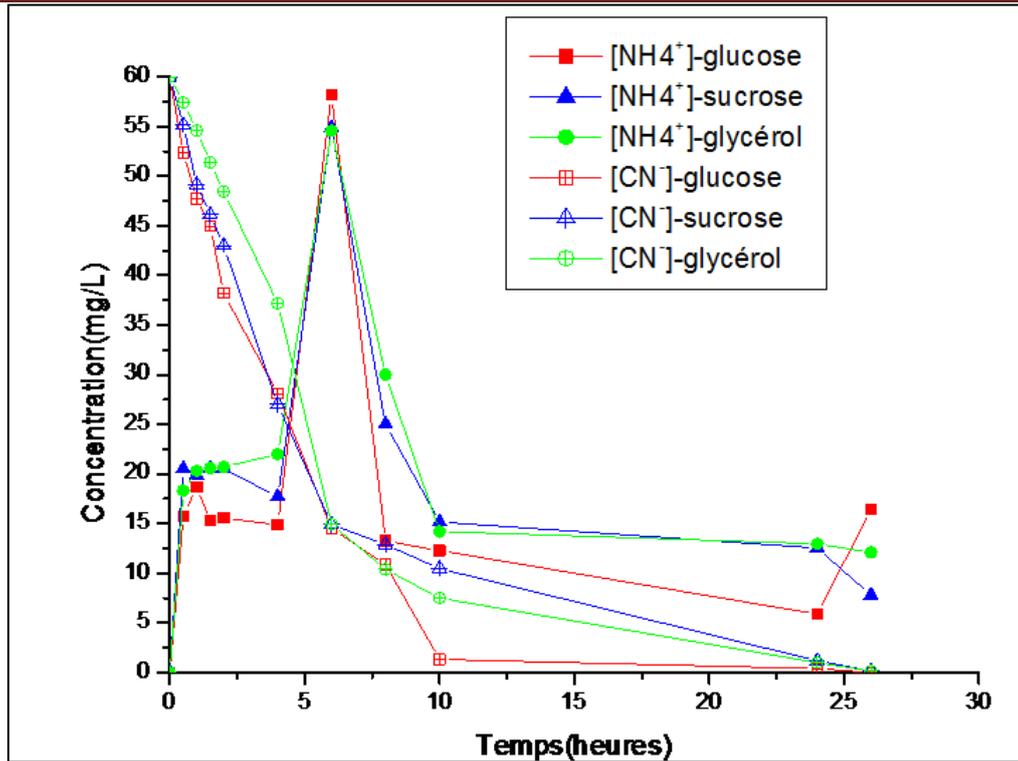


Figure 17: Dégradation du cyanure et production d'ammonium pour différentes sources de carbone; pH=9,5;

[CN<sup>-</sup>]<sub>i</sub> = 60 mg/L

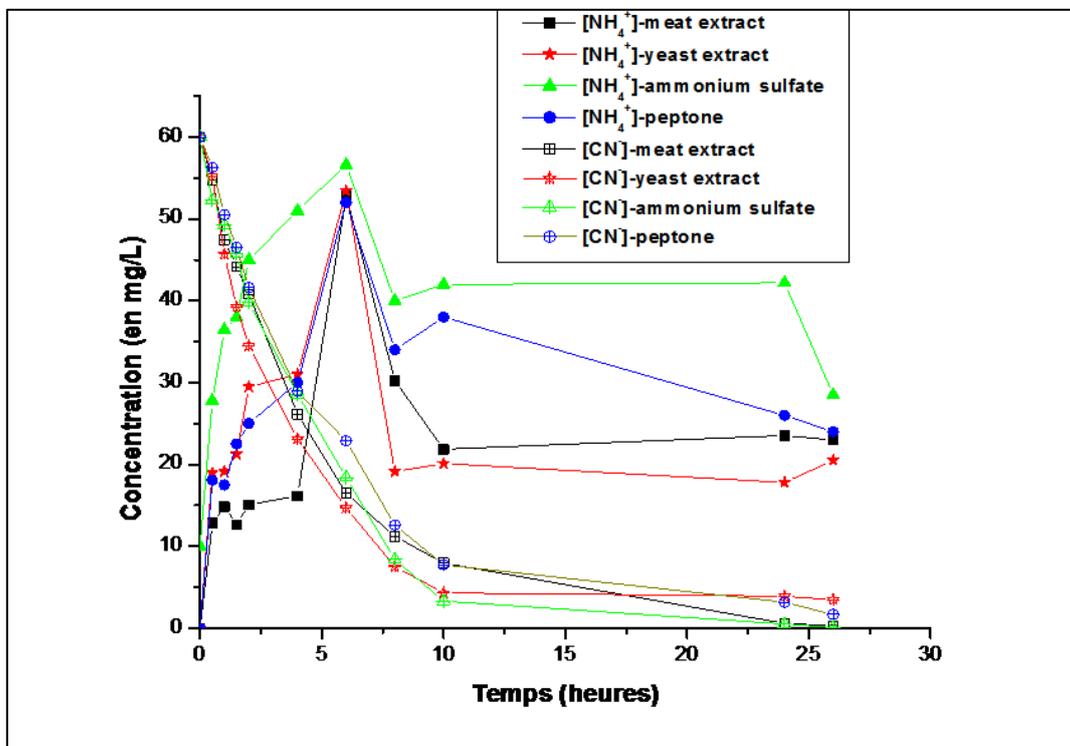
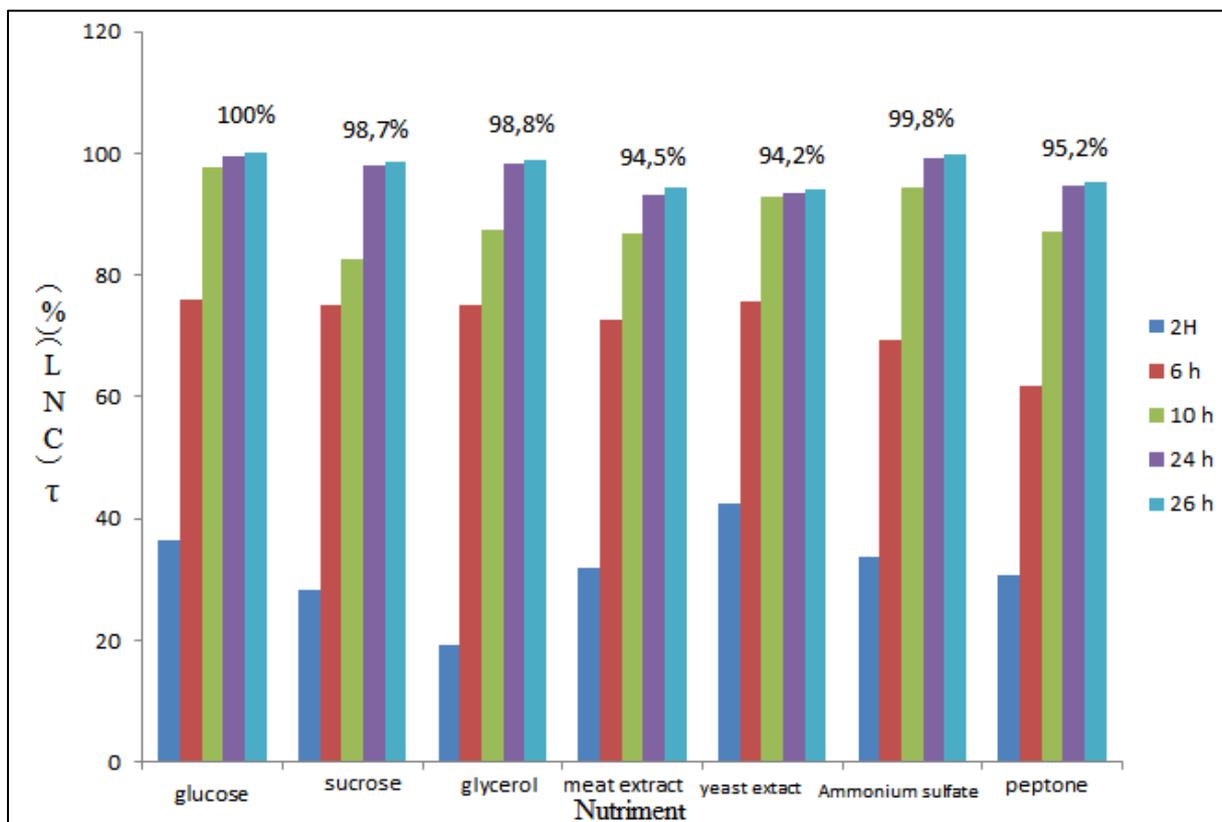


Figure 18: Dégradation du cyanure et production d'ammonium pour différentes sources d'azote; pH=9,5 ; [CN<sup>-</sup>]<sub>i</sub> = 60 mg/L

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

Les quatre figures précédentes (figures 15, 16, 17 et 18) montrent qu'il y'a biodégradation du cyanure pour tous les nutriments utilisés qu'ils soient sources d'azote ou sources de carbone. En effet, on assiste dans tous les cas à une croissance bactérienne simultanée à la dégradation du cyanure mais aussi à une production d'ammonium concomitante à la dégradation du cyanure.

Malgré que tous les nutriments étudiés permettent une bonne biodégradation du cyanure, certains sont plus optimaux que d'autres, la figure 19 nous présente les taux de dégradation du cyanure en fonction du type de nutriment utilisé.



$\tau$  (CNL)(%) :taux d'abattement du cyanure libre en pourcentage

Figure 19: Abatement du cyanure pour différents nutriments ; pH=9.5 ; [CN] initiale =60 mg/L

Quel qu'en soit le type de nutriment utilisé, le taux d'abattement minimal est de 94,21%. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Kumar V. et al. (2013).

Le glucose permet d'avoir le plus grand rendement de dégradation du cyanure avec un taux d'abattement de 100%. Il est donc le nutriment optimal suivi du sulfate d'ammonium avec 99,8% et l'extrait de levure (yeast extract) a le plus faible rendement avec 94,21%.

De même lors de plusieurs études sur la biodégradation du cyanure, le glucose s'est avéré être une source de carbone externe optimale. C'est le cas des études de Mirizadeh S. et al (2014)

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

sur la biodégradation du cyanure en conditions basiques qui ont trouvé un taux d'abattement du cyanure de 85% avec le glucose pour une concentration initiale en cyanure de 200 mg/L. Dursun A.Y. et al (1999) ont aussi prouvé que le glucose favorisait la dégradation du cyanure par les bactéries.

Par ailleurs, il est constaté que parmi tous les nutriments utilisés, c'est le sulfate d'ammonium qui permet d'obtenir la plus forte croissance bactérienne. Cela s'explique par le fait il y'ait, comme nous l'avons vu plus haut, des bactéries parmi les différentes familles utilisées qui ont une préférence pour l'ammonium. En effet, l'ammonium sulfate de formule chimique  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  se dissocie dans l'eau sous forme d'ion ammonium  $\text{NH}_4^+$  et d'ion sulfate  $\text{SO}_4^{2-}$ , du coup ces bactéries commencent d'abord par consommer cet ammonium ce qui les fait croître avant de consommer le cyanure et simultanément les autres familles de bactéries s'attaquent directement au cyanure, ce qui les fait croître également et l'ammonium issu de la dégradation du cyanure sera aussi consommé par ces bactéries qui le préfèrent. Le nombre important de bactéries qui en résulte justifie le fort taux de dégradation du cyanure de 99,8% en présence d'ammonium sulfate.

Kumar et al. (2013) ont aussi obtenu un fort de dégradation de cyanure de 100% avec l'ammonium sulfate.

Le glycérol et le sucrose ont aussi permis d'obtenir un fort abattement du cyanure de l'ordre des 98%, ce qui est compatible avec les résultats obtenus par Kumar et al. (2013) au bout de leur expérience.

D'après leurs fiches de composition, la peptone contient 14 à 15% d'azote total, l'extrait de levure 10 à 11,8% et l'extrait de viande 11,5% à 12,5%. Leurs teneurs en azote sont proches, cela pourrait expliquer le fait qu'on ait des taux de dégradation similaires en les utilisant comme sources d'azote pour la biodégradation du cyanure. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kumar et al. (2013) qui ont trouvé quasiment les mêmes taux de dégradations pour le peptone, l'extrait de levure et l'extrait de viande à la fin de leur expérience. Dans cette même logique, le sulfate d'ammonium permet un meilleur abattement du cyanure que ces derniers nutriments du fait qu'il contienne un pourcentage d'azote total de 21% qui est supérieur aux leurs.

## CONCLUSION

L'essor de l'orpaillage au Burkina Faso s'accompagne de beaucoup de dommages environnementaux tels que la pollution des eaux et sols par le cyanure. Cela engendre la diminution des ressources en eaux et des sols cultivables dans ces zones. La bioremédiation semble être une bonne alternative pour la réhabilitation de ces derniers. Mais pour que cette dernière puisse constituer un moyen de dépollution efficace de ces sols et eaux cyanurés, il faut l'optimiser en déterminant l'effet des paramètres l'influençant.

Notre étude porte donc sur l'analyse des facteurs influençant la biodégradation du cyanure. Une mission sur le site nous a permis de recueillir des échantillons d'eau et de sols pour effectuer l'isolation des bactéries capables de dégrader le cyanure.

Les analyses de ces échantillons ont montré la présence de microorganismes capables de dégrader le cyanure sur tous les points de prélèvement avec des concentrations variant de 400 à 16000 UFC/mL pour les eaux et de 2500 à 190000 UFC/Kg pour les échantillons de sol.

Par la suite, ces bactéries ont été utilisées pour mener des tests de biodégradation à différents conditions (en variant la valeur du pH du milieu de biodégradation et différentes sources de carbone et d'azote).

Ces tests nous ont permis de montrer que la biodégradation est efficace pour tous les pH étudiés : 5; 7; 9,5; 10,5 et pour tous les nutriments étudiés avec un abattement minimal de 95,5% pour la gamme de pH et de 94,21% pour les différents types de nutriments au bout de 24 h d'expérience.

Le pH 9,5 a permis d'obtenir le taux d'abattement le plus élevé qui est de 99,8% et pour les nutriments c'est le glucose et l'ammonium qui ont permis les dégradations les plus optimales avec respectivement 100% et 99,8% d'abattement.

Cette étude nous a permis d'avancer dans notre démarche qui vise au final la bioremédiation *in situ*, en effet le fait que ces microorganismes puissent dégrader le cyanure à une large gamme de pH (acide, neutre, basique) et en présence de plusieurs différents types de nutriments représente un atout pour notre projet de bioremédiation *in situ* quand on sait que sur le terrain les conditions sont variées et changeantes.

## **RECOMMANDATIONS**

Afin de compléter cette étude, il serait important d'identifier les différentes familles de bactéries détectées et développer une technique qui permettrait de les tester à grande échelle. Cela permettrait d'avoir une meilleure connaissance des microorganismes que nous utiliserons pour prédire leur comportement et contrôler leur population une fois la dégradation terminée afin de respecter l'équilibre microbologique de l'écosystème. Il faudra enfin envisager de tester ces bactéries à la dégradation du cyanure total surtout qu'il est la forme la plus retrouvée dans les sols.

De plus, une carte représentant la dispersion des bactéries est nécessaire pour comprendre leur comportement vis-à-vis du cyanure.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ackil A., Karahan A., Ciftci H., & Sagdic O. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* species). *Miner.Eng.* 16. P 560–567.
- Adjei.D, & Ohta Y. (2000). Factors Affecting the Biodegradation of Cyanide by *Burkholderia cepacia* Strain C-3. *Journal Of Bioscience and Bioengineering* 89. P 274-277.
- ATSDR. (2006). Toxicological profiles for cyanide. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA ; U.S department of Health and Human Services, Public Health Services, 2011, from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp8.pdf>.
- Baxter, Joanne, & Cummings.S.P. (2006). The current applications of microorganism in the bioremediation of cyanide contamination. *Antonie van Leeuwenhoek*. P 1-17.
- Botz.M., Mudder.T.I., & Ackil.A.U. (2005). Cyanide treatment:Physical;chimical and biological process. *Developments in Minerals Processing*,15. P 672-701.
- Cabuk A., & Taspinar U. (2006). Biodegradation of cyanide by a white rot fungus, *Trametes versicolor*. *Biotechnology Letter*. P 1313–1317.
- CES. (2012). Centre économique et social.Expansion du secteur minier et développement durable du Burkina Faso:cas de l'exploitation aurifère observatoire économique et social.
- Chaptawala K.D., Babu G., Vijaya O., Kumar K., & Wolfram J. (1998). Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilized cells of *pseudomonas putida*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 20.P 28-33.
- Charlier C., Gougnard T., Lamiable D., Pierre L., & Plomteux G. (2000). Cyanides and thiocyanates in a hospital toxicology laboratory. *Annals de toxicology analytique*, vol XII, n° 2.
- CIRDD. (2014). Centre international de ressources et d'innovation pour le développement durable. Récupéré sur [www.ciridd.org](http://www.ciridd.org).
- Commission Européenne. (2006). Traitements des déchets. [http://aida.ineris.fr/bref/bref\\_pdf/sic\\_bref\\_projetfr1006.pdf](http://aida.ineris.fr/bref/bref_pdf/sic_bref_projetfr1006.pdf).
- Dubey S.K, & Holmes D.S. (1995). Biological cyanide destruction mediated by microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.P 11.
- Dursun A.Y., Alik A.C., & Aksu Z. (1999). Degradation of ferrou(II) cyanide complex ions by *Pseudomonas fluorescens*. *Process Biochemistry* 34.P 901–908.
- Environnement Canada. (1997). Rapport sur l'industrie canadienne de traitement des surfaces métalliques.Consommation of raw materials and options for water pollution control.Analyse économique et technique.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

- Figueira M., Ciminelli V., & Linardi V. (1996). Cyanide degradation by an *Escherichia coli* strain. *Canadian Journal of Microbiology* 42. P 519 –523.
- Howard J. E. (1995). Chronic toxicity for rats of food treated with hydrogen cyanide. *J. Agri. Food Chem.*, 3 : 325.
- INERIS. (2011). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France: cyanure. DRC-11-118962-11076A, 81p.(<http://rsde.ineris.fr/>ou <http://www.ineris.fr/substances/fr/>)
- Ingoversen K., Hojer-Pedersen B. & Godtfredsen S.(1991). Novel Cyanide-hydrolyzing enzyme from *Alcaligenes xylosoxidans* sub sp. *Denitrificans*. *Environmental Microbiology*.vol. 57. P 1783–1789.
- Kouadio K. (2014). Risques environnementaux et sanitaires sur les sites d'orpaillage au Burkina Faso: cycle de vie des principaux polluants et perceptions des orpailleurs (cas du site de Galgouli dans la commune rurale de Kampti, région du Sud-Ouest). Mémoire de fin de cycle.
- Kumar V., Kumar V., & Bhalla T.C. (2013). In vitro cyanide degradation by *Serratia marcescens* RL2b. *Int. J. Environ. Sci.* 3. P 1969-1979
- kumar, Bhalla, & Virender. (2015). Packed bed reactor for degradation of simulated cyanide-containing wastewater. *3 Biotech*.
- Logsdon M.J., Mudder T.I., Karen H., & Terry I. (1999). The management of cyanide in the gold extension. *International Council on Metals and The Environment*. P 45-51
- MECV. (2011). Analyse économique du secteur des mines liens pauvreté et environnement. Projet initiative pauvreté et environnement(IPE).
- Meech J.A. (1986). Cyanide effluent control by freeze. *The processing, Environmental Geochemistry and Health*. P 80-84.
- Mekuto L., Ntwampe S.K.O., & Kena M. (2015). Free cyanide and thiocyanate biodegradation by *Pseudomonas*.
- Mekuto.L, Jackson A., & Ntwampe O. (2013). Biodegradation of Free Cyanide Using *Bacillus* Sp. Consortium Dominated by *Bacillus Safensis*, *Lichenformis* and *Tequilensis* Strains: A Bioprocess Supported Solely with Whey. *J. Bioremed Biodeg*.
- Mirizadeh S., Yaghmaei S., & Nejad Z. G. (2014). Biodegradation of cyanide by a new isolated strain under alkaline conditions and optimization by response surface response.
- Oro'J, & Lazcano-Araujo.A. (1981). The role of HCN and its derivatives in prebiotic evolution. In B, Conn EE, Knowles CJ, Westley J, Wissing F: London: Academic Press . P 517-541.
- Oudjehani K., Zagury G & Deschènes L. (2002). Natural attenuation potential of cyanide via microbial activity in mine tailings. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 58. P 409-415.
- Potivichayanon S., & Kitleartpornpaioat R. (2010). Biodegradation of Cyanide by a Novel Cyanide degrading Bacterium. *World Academy of Science, Engineering and Technology*.P 66.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

- Prescott L., Harley P., & Klein A. (2002). Microbiologie 2ème édition française, Traduction de la 5ème édition américaine par Claire Michelle Bacq Calberg et Jean Dusart (Université de Liège).
- Razanamahandry L., Andrianisa A., Karoui H., & Yacouba H. (2016). Biodegradation of free cyanide by bacterial species isolated from cyanide-contaminated artisanal gold mining catchment area in Burkina Faso. *Chemosphere* 157.P 71–78.
- Roamba J. (2014). Risques environnementaux et sanitaires sur les sites d'orpaillage au Burkina Faso:cycle de vie des principaux polluants et perception des orpailleurs(cas du site de Zougnezagmiline dans la commune de Bouroum,région du centre-nord).
- Roger P., & Jack V. (2000). Laboratoire de Microbiologie IRD Institut de Recherche pour le Développement IRD (ex ORSTOM).
- Santé Canada. (2011). Le cyanure. <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/cyanide-cyanure/index-fra.php>.
- Sawadogo N. (2015). Bioremédiation du cyanure sur les sites d'orpaillage au Burkina Faso:cas du site de zougnezagmiline. Mémoire de fin d'études 2iE.
- Towill L., Drury J.S., Whitfield B.L., Lewis E.B., Galyan E.L., & Hammons A.S. (1978). Reviews of the environmental effects of pollutants:part V;cyanide. EPA 600/1-78-027. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Health Effects Research Laboratory, Cincinnati.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

---

**ANNEXES**

Annexe I: Fiche de composition de quelques nutriments ..... II  
Annexe II: Réactifs utilisés pour le dosage des paramètres suivis ..... III

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE  
LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE  
D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

**Annexe I: Fiche de composition de quelques nutriments**

1) Fiche de composition de l'extrait de levure

**EXTRAIT DE LEVURE**

**DESCRIPTION**

Apparence : Poudre fine de couleur beige clair

Solubilité : totale à 10 % dans l'eau déminéralisée à température supérieure à 40°C

**COMPOSITION CHIMIQUE**

(pour 100 g de produit)

Extrait sec	94,0 - 98,0
Azote total	10,0 - 11,8
Azote aminé	4,8 - 6,3
Protéines (Nx6,25)	62,5 - 73,8
Hydrates de carbone (valeurs indicatives)	7,0 - 13,0
Cendres déchlorurées (valeurs indicatives)	11,5 - 15,5
Chlorure de sodium	< 0,5
pH à 25°C	6,8 - 7,2

2) Fiche de composition de la peptone

Peptone is manufactured by controlled enzymatic hydrolysis of animal tissues. It is used as an organic nitrogen source in microbiological culture media for cultivation of a variety of bacteria and fungi.

All the raw materials used in the manufacture are of Indian origin, where no TSE/BSE has been reported.

Description	Light to medium tan, free flowing, homogeneous powder
Solubility (2.0% solution)	Light to medium amber, clear
Final pH at 25°C	7.0 ± 0.5 (2%)
Stability after autoclaving	Light to medium amber, clear
Loss on Drying	< 5.0%
Total Nitrogen	14.0 – 15.5%
Total Aerobic Microbial Count	< 10,000 cfu/gm
Growth Promoting Properties	Good

**We also offer**  
PI 051 Peptone, Granulated for bacteriology

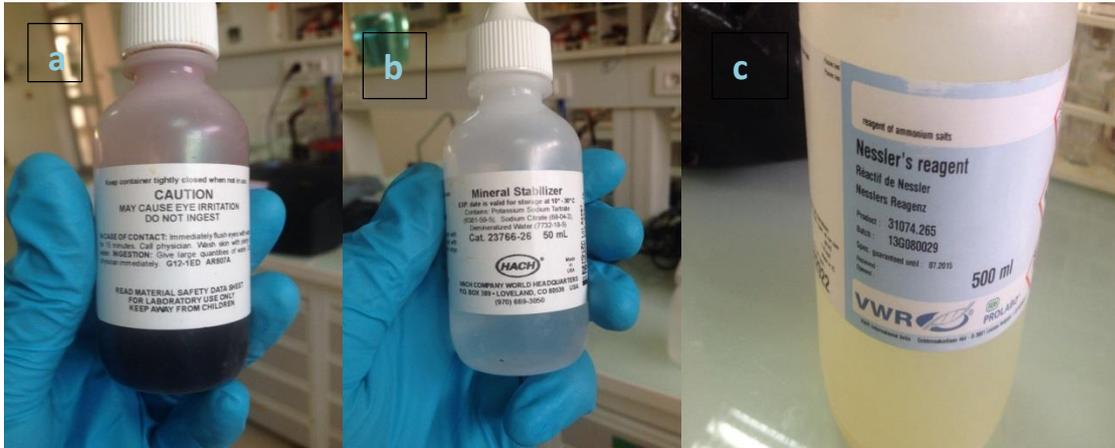


3) Fiche de composition de l'extrait de viande

<b>Related Categories</b>	Base Ingredients for Media, Microbiology, Protein Sources (Peptones & Extracts), Protein Sources (derived from animal tissue), Protein Sources (milk derived), <a href="#">More...</a>
<b>grade</b>	<b>for microbiology</b>
<b>concentration</b>	<b>≤7% Cl<sup>-</sup> (as NaCl)</b>
<b>impurities</b>	<b>coagulable protein, none detected</b>
<b>ign. residue</b>	<b>11.5-12.5% total nitrogen (N)</b>
<b>loss</b>	<b>3.5-4.5% amino nitrogen</b>
<b>ign. residue</b>	<b>≤18%</b>
<b>loss</b>	<b>≤6% loss on drying</b>
<a href="#">Show More (10)</a>	

# ANALYSE DES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DU CYANURE LIBRE DANS LES EAUX PAR DES BACTERIES ISOLEES SUR LE SITE D'ORPAILLAGE DE ZOUGNAZAGMILINE

## Annexe II: Réactifs utilisés pour le dosage des paramètres suivis



1) Les réactifs pour le dosage de l'ammonium a) Polyvinyle d'alcool gouttes b) Minéral stabilisateur c) Nessler.



2) Les réactifs pour le dosage du cyanure libre : a) cyaniver 3, b) cyaniver 4, c) cyaniver 5.