



Licence Sciences et Techniques (LST)

Technique d'Analyse et Contrôle de Qualité
« TACQ »

PROJET DE FIN D'ETUDES

**Analyses physico-chimiques et bactériologiques des
eaux traitées (région Meknès)**

Présenté par:

◆ **FOUDIL Haitam**

Encadré par:

◆ **Mr BOUHLAL Abdelaziz (ONEE)**

◆ **Pr ZAITAN Hicham (FST)**

Soutenu Le 09 Juin 2017 devant le jury composé de:

- **Pr E. LAMCHARFI**

- **Pr B. IHSSANE**

- **Pr H. ZAITAN**

Stage effectué à ONEE, Meknès

Année Universitaire 2016 / 2017

Liste des abréviations

MES : matières en suspensions
NTU : Unité Néphélométrique de Turbidité
TA : Titre Alcalimétrique
TAC : Titre Alcalimétrique Complet
TH : Titre hydrotimétrique
EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique
Tb : Tombé de burette
Oxy : Oxydabilité
DPD :Diéthyl Paraphéylène Diamine

Liste des figures

Figure 1: Méthode de la membrane filtrante	19
Figure 2:Incorporation par gélose	19
Figure 3:Test présomptif des coliformes	21
Figure 4:Test confirmatif des coliformes	21
Figure 5: Test présomptif des E.colie.....	22
Figure 6:Test confirmatif des E.colie	22
Figure 7:Test présomptif des entérocoques	23
Figure 8: Test confirmatif des entérocoques	23
Figure 9: Test des micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs	25
Figure 10:Test sur les micro-organismes revivifiables	26
Figure 11:courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre des nitrates	29
Figure 12: courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre de l'ammonium	30
Figure 13: courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre du bore	31

Liste des tableaux

Tableau 1 Comparaison entre les normes marocaine, OMS, Canada et UE	5
Tableau 2 :Bactéries recherchées et leurs paramètres	19
Tableau 3:Résultats des analyses bactériologiques	27

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
Chapitre 1 : Etude bibliographique	3
I. Normes applicables à l'eau de boisson	4
1) Norme Marocaine (NM 03.7.001).....	4
2) Comparaison entre les Normes	6
II. Effets d'eau sur la santé.....	7
a. Bore :	7
b. Fluor :.....	7
c. Sulfate :	8
d. Nitrate :	8
e. Bactéries :.....	8
Chapitre 2: Partie expérimentale	9
I. Analyses physico-chimiques.....	10
1) Indicateurs globaux de qualité.....	10
a. Température.....	10
b. Mesure de pH	10
c. Mesure de la turbidité	10
d. Mesure de la conductivité	11
e. Test du chlore Cl	11
2) Analyses réalisées au laboratoire	11
a. L'oxydabilité	11
b. Détermination de la dureté totale (TH)	12
c. Détermination de la dureté calcique Ca_2^+	13
d. Détermination de la dureté magnésien Mg_2^+	13
e. Dosage des chlorures par le nitrate de mercure	13
f. Détermination de l'alcalinité de l'eau (TA).....	14
g. Détermination des nitrates (NO_3^-) : méthodes à la sulfanilamide après réduction....	15
h. Détermination de l'ammonium par spectrophotomètre UV-Visible.....	16
i. Détermination du bore par spectrophotomètre UV-Visible	17
II. Analyses bactériologiques	19
1. Méthodes d'analyses :.....	19
2. Méthodes de recherche et dénombrement des micro-organismes dans les eaux traitées.....	20
3. TESTS PRESOMPTIFS et TESTS CONFIRMATIFS	21
Chapitre 3 : Résultats expérimentaux et discussions	27

CONCLUSION	33
ANNEXES	34
REFERENCES	36

DESCRIPTION GENERALE SUR L'ONEE

Généralités sur l'ONEE

L'ONEE (office national de l'électricité et de l'eau potable) est le fruit d'un regroupement (avril 2012) entre deux offices : l'office national de l'eau potable (ONEP) et l'office national de l'électricité (ONE) .

La création de l'ONEE par dahir a été en 1929 sous le nom de REIP Régie d'Exploitation Installation et Planification ; puis REI Régie d'Exportation Industrielle sous nom ONEP en 1972 et enfin sous nom ONEE en 2012.

L'ONEE est un établissement public à caractère industriel et commercial doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière.

ONEE branche eau, Acteur principal dans le secteur de l'eau potable et de l'assainissement, les missions principales de cet Office sont :

- ↪ Planification de l'approvisionnement en eau potable (AEP) à l'échelle nationale.
- ↪ Production de l'eau potable.
- ↪ Distribution de l'eau potable pour le compte des collectivités locales.
- ↪ Gestion de l'assainissement liquide pour le compte des collectivités locales.
- ↪ Contrôle de la qualité des eaux.

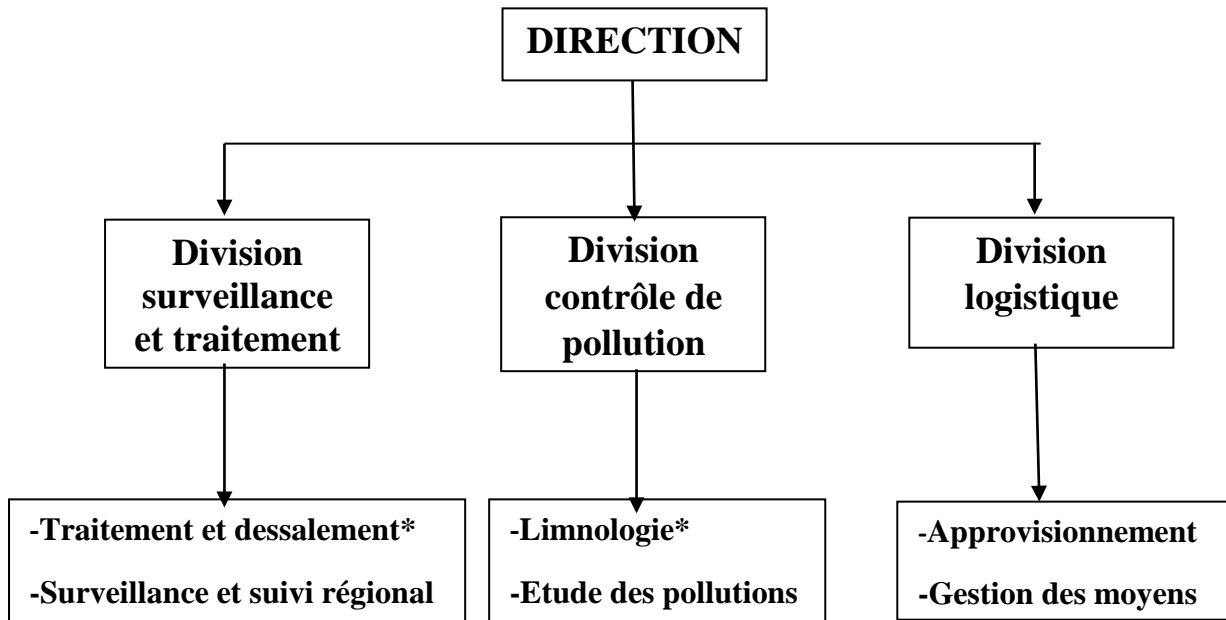
L'office considéré comme le premier producteur avec 767 millions m³ (soit 80% de la production nationale en eau potable) couvre les besoins de 96% de la population urbaine du royaume et constitue le premier distributeur avec 1,2 millions de clients répartis sur plus de 500 communes.

En perspective 2011-2015 l'ONEE-BRANCHE EAU a mis au point un programme de développement pour la pérennisation et la sécurisation des infrastructures d'approvisionnement du milieu urbain en eau potable d'un montant de plus de 13,4 Milliards de dirhams :

- ↪ Equiper un débit supplémentaire de 14 m³/s ;
- ↪ Améliorer le rendement des réseaux de distribution à 76% ;
- ↪ Augmenter le taux de branchement individuel à 96%

L'ONEE branche eau, dispose d'un laboratoire central et de 112 laboratoires décentralisés dont 72 laboratoires d'eau potable répartis sur tout le royaume. Ces laboratoires, comme c'est illustré sur l'organigramme ci-dessous effectuent des contrôles de qualité physiques, chimiques et bactériologiques qui respectent les normes marocaines.

LABORATOIRE CONTROLE QUALITE DE L'EAU
ORGAIGRAMME



Le laboratoire de contrôle de qualité des eaux a été créé en 1968 ; c'est un département de l'Office National d'Eau Potable qui a été érigé à la fin de 1990, en direction autonome au sein de l'office.

Dans un proche avenir, le laboratoire sera doté d'un Département Pollution et Assainissement qui comprendra une division spécifique à l'assainissement.

Laboratoire régional de Meknès

A tous les stades de la production de l'eau allant de l'adduction* du traitement jusqu'à la distribution, la qualité de l'eau fait l'objet de nombreux contrôles physiques, chimiques et bactériologiques qui respectent les normes marocaines et qui sont assurés par le laboratoire régional de Meknès.

Pour cela le laboratoire régional de Meknès dispose d'une salle d'analyse :

- Physico-chimique.
- Bactériologique

INTRODUCTION

L'eau est essentielle à la santé et au maintien des écosystèmes qui fournissent notre alimentation ainsi que d'autres biens et services essentiels. Environ 2,5% de l'eau présente sur terre est de l'eau douce, en bonne partie inaccessible.

Pour boire et satisfaire ses besoins d'hygiène, chaque personne a besoin, chaque jour, de 20 à 50 litres d'eau ne contenant ni produits chimiques dangereux ni contaminants microbiens. Il est prouvé que les investissements en faveur de l'eau de boisson salubre et de l'amélioration de l'assainissement améliorent la santé et la productivité économique

Plus d'un milliard de personnes n'ont pas accès à une source d'eau sûre et 2,6 milliards de personnes ne disposent pas de moyens d'assainissement satisfaisants. Le manque de moyens d'assainissement entraîne une contamination microbienne généralisée de l'eau de boisson [1].

Alors, il ne faut pas s'imaginer que l'eau, parce qu'elle coule à travers un robinet est toujours bonne à la consommation. Tout dépend de la façon dont elle est purifiée et acheminée, c'est-à-dire de la qualité, de l'entretien, et du contrôle des réseaux.

Quelque soit son mode d'acheminement, une eau, pour pouvoir être consommée sans danger doit répondre à un certain nombre de critères stricts, appelés critères de potabilité :

- **La potabilité microbiologique** : désigne l'absence de micro-organismes susceptibles de provoquer des maladies.
- **La potabilité chimique** : désigne l'absence de substances toxiques.

Pour pouvoir être consommée agréablement l'eau doit être limpide, claire et ne doit présenter ni saveur, ni odeur désagréable. Cependant une eau qui ne satisfait pas pleinement à ces critères ne présente pas forcément de risque pour la santé.

Le présent travail porte sur l'étude de la conformité des eaux provenant de l'eau du robinet de Meknès vis-à-vis les normes marocaines NM 03.7.001. Lors de ce travail, nous avons pris en compte les différents paramètres physico-chimiques et bactériologiques .

Chapitre 1 :

Etude bibliographique

Ce chapitre contient trois axes principaux :

- **Le premier axe** sera réservé à une présentation des Normes applicables à l'eau de boisson. Aussi il va consacrer une partie sur La Norme Marocaine (NM 03.7.001). Puis on fera une petite comparaison entre les Normes du Maroc, Canada, OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et l'Union Européen
- **Le deuxième axe** sera consacré à la présentation des effets d'eau sur la santé plus précisément sur l'effet du 'Bore', 'Fluor', 'Sulfate', 'Nitrate' et l'effet 'des Bactéries'.

I. Normes applicables à l'eau de boisson

Il est universellement admis que l'eau destinée à la consommation humaine doit être exempte de substances chimiques et de micro-organismes pouvant présenter un danger pour la santé. Non seulement elle doit être saine, c'est-à-dire non dangereuse, mais, compte tenu des circonstances, elle doit être aussi agréable que possible à consommer. La fraîcheur, la clarté, l'absence de couleur et de toute saveur ou odeur déplaisante sont des qualités d'une importance primordiale pour les eaux destinées à l'alimentation publique.

Dans plusieurs pays, Ils sont parvenus à fixer des normes de qualité de l'eau applicables sur leurs territoires respectifs et réaliser une certaine uniformité dans les méthodes d'analyse et dans l'expression de leurs résultats. Le but de ces normes est promouvoir l'amélioration de la qualité des eaux de boisson et d'encourager les pays qui ont des possibilités techniques et économiques développées à atteindre des normes supérieures aux minimums spécifiés dans les Normes Internationales pour l'Eau de Boisson. [2]

I. 1) Norme Marocaine (NM 03.7.001)

La Norme Marocaine (NM 03.7.001) est homologuée par arrêté conjoint du Ministre de l'Industrie, de Commerce et de la Mise à Niveau de l'Economie et du Ministre de l'Equipement et du Transport et du Ministre de la Santé.

L'Objectif de la présente norme est de fixer les exigences auxquelles doit satisfaire la qualité des eaux d'alimentation humaine (Toute eau destinée à la boisson quel que soit le mode de production et de sa distribution).

La présente norme est applicable a toutes les eaux qui, soit en l'état « naturel », soit après traitement, sont destinées à la boisson, à la cuisson, à la préparation d'aliments ou à d'autres usages domestiques, qu'elles soient fournies par un réseau de distribution, à partir d'un camion-citerne, en bouteilles ou en conteneurs, y compris les eaux de source.

Elle exige que l'eau d'alimentation humaine ne doit pas contenir en quantités dangereuses ni micro-organismes, ni substances chimiques nocifs pour la santé ; en outre, elle doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent. Ces exigences s'imposent aussi bien à l'entrée du système de distribution que chez le consommateur.

La vérification de conformité des eaux exigences spécifiées se fera suivant les modes opératoires fixés par les normes marocaines homologuées ou suivant les méthodes analytiques de référence.

Les tolérances admissibles aux dispositions de la présente norme doivent respecter les recommandations et les dispositions. En cas de non-conformité confirmée aux spécifications de la présente norme d'un ou de plusieurs paramètres de qualité, les organismes concernés devront en premier lieu définir et mettre en œuvre les mesures correctives immédiates requises pour la situation.

I. 2) Comparaison entre les Normes

Tableau 1 : Comparaison entre les normes marocaine, OMS, Canada et UE

PARAMETRES	EXPRESSION DES RESULTATS	Marocaine	OMS	CANADA	UE
Potentiel Hydrogène	Unités pH	6,5<pH<8,5	6,5<pH<9,5	6,5<pH<8,5	6,5<pH<9,5
Conductivité	μS/cm à 20 °C	2700	-----	-----	2500
Chlorures	Cl ⁻ : mg/l	750	250	250	250
Sulfates	SO ₄ ²⁻ : mg/l	400	500	500	250
Nitrites	NO ₂ ⁻ : mg/l	0,5	0,2	3	0,5
Nitrates	NO ₃ ⁻ : mg/l	50	50	45	50
Fluorures	F ⁻ : mg/l	1,5	1,5	1,5	1,5
Ammonium	NH ₄ ⁺ : mg/l	0,5	0,3	-----	0,5
Bore	B : mg/l	0,3	0,5	5	1

D'après le tableau ci-dessus, on constate qu'il y'a une ressemblance d'exigence dans certains paramètres, alors qu'elle y a une différence dans les autres.

L'écart entre ces normes est dû à la différence des circonstances ; Le développement industriel et l'agriculture intensive pratiquée dans certains pays créent pour les approvisionnements en eau, des risques qui n'existent pas toujours dans les autres pays. [3]

II. Effets d'eau sur la santé

Puisqu'elle ne contient ni protéines, ni glucides et ni lipides, l'eau n'est pas un aliment. Elle ne fournit pas d'énergie brute. Par contre, l'eau est essentielle à la vie. C'est grâce à l'eau que le corps peut utiliser l'énergie présente dans les aliments.

Cependant, les constituants d'eau ne doivent pas dépasser des quantités bien déterminées pour éviter toutes les influences indésirables dont on va parler ci-dessous :

a) Bore :

Le bore agit de la même façon sur l'homme que sur les autres mammifères. Une fois inhalé ou absorbé, le bore se répand à travers tout le corps et une partie est incorporée dans les os. Puis, le bore est rapidement excrété, sauf le bore dans les os qui prend plus de temps à être éliminé.

Les rares études sur les êtres humains ont révélé que l'exposition à court terme au bore peut entraîner une irritation des yeux, des voies respiratoires supérieures et du nasopharynx. Cette irritation disparaît tout simplement quand il n'y a plus d'exposition.

Quand l'homme consomme de grandes quantités de nourriture contenant du bore, la concentration en bore de notre organisme peut augmenter jusqu'à atteindre des niveaux inquiétants pour la santé. En effet, le bore peut infecter l'estomac, le foie, les reins et le cerveau.

b) Fluor :

Le fluor et le cerveau :

Toutes les intoxications au fluor génèrent des troubles psychiques graves : perte de volonté, folie, surtout lorsque cette intoxication se produit pendant la phase de croissance. Ce n'est pas pour rien que l'eau des boissons ne doit absolument pas dépasser un seuil critique de fluor pour être potable. Le fluor va se fixer sur la glande pinéale, à forte dose cela va entartrer cette glande, et chez certains sujets elle va apparaître comme un morceau de calcium lors d'une IRM. Cette calcification va entraîner progressivement divers troubles comme de la dépression, de l'anxiété, de la boulimie/anorexie, des insomnies, une baisse immunitaire ainsi qu'une diminution des facultés spirituelles, et au final une schizophrénie et/ou d'autres formes de maladies mentales

L'effet du fluor sur les dents et les os :

Le fluor désorganise la structure minérale des dents et de l'ossature, favorisant des micro fractures au niveau du squelette ... Il agit lentement, en profondeur et favorise ainsi les scoliose, les cyphoses, ainsi que l'ostéoporose...Il va largement favoriser une dégénérescence accélérée de l'organisme avec divers troubles cardiaques et psychiques, et même des dégâts génétiques.

c) Sulfate :

Les personnes pas habituées à boire de l'eau avec un niveau important de sulfate peuvent souffrir de déshydratation et de diarrhées en buvant celle-ci. Les enfants sont souvent plus sensibles au sulfate que les adultes. Par mesure de sécurité, l'eau avec un niveau de sulfate excédant 400mg/L ne devrait pas être utilisée pour la préparation de nourriture pour bébés. Des enfants plus vieux et des adultes s'habituent aux eaux dont la concentration en sulfate est élevée après quelques jours.

d) Nitrate :

La toxicité des nitrates est discutée. Elle résiderait dans la production de nitrites qu'ils favorisent. Environ 20% des nitrates sont transformés par la flore buccale en nitrites qui sont alors facilement absorbés par l'intestin et l'estomac. Plus le PH de l'estomac est élevé, moins l'acidité y est forte, comme c'est le cas chez le nourrisson par exemple, plus la prolifération de bactéries réductrices des nitrates en nitrites est favorisée.

Les nitrites provoqueraient des cas de méthémoglobinémie : résultant d'une oxydation de l'hémoglobine, la formation de méthémoglobine en grande quantité réduit l'oxygénation des cellules, peut se manifester par une cyanose, coloration bleutée de la peau et des muqueuses, et provoquer l'asphyxie et la mort. Les nourrissons de moins de trois mois sont les plus exposés à ce risque en raison de la faible acidité de leurs estomacs, de leur tendance à développer des infections gastro-intestinales et de leur faible capacité à régénérer l'hémoglobine à partir de la méthémoglobine.

e) Bactéries :

Les bactéries pathogènes comme le colibacille (*Escherichia coli* : E. coli) peuvent déclencher des maladies gastro-intestinales, de la diarrhée et des vomissements. Le colibacille peut constituer un danger de mort pour les bébés, les enfants, les personnes âgées et celles dont le système immunitaire est affaibli.

Chapitre 2:

Partie expérimentale

I. Analyses physico-chimiques

Les paramètres à analyser sont choisis en fonction de l'objectif recherché, ils sont classés en deux catégories d'analyses :

Des indicateurs globaux de qualité : la température, le pH, la turbidité et la conductivité.

Des polluants spécifiques : l'ion ammonium, le Bore, les nitrates...

I. 1) Indicateurs globaux de qualité

a) Température

La température de l'eau est un paramètre de confort pour les usagers. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment). De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu.

La température doit être mesurée sur site. Les appareils de mesure de la conductivité ou du pH possèdent généralement un thermomètre intégré.

b) Mesure de pH

Le pH ou potentiel Hydrogène mesure la concentration en ions H_3O^+ ($pH = -\log [H_3O^+]$) de l'eau. Il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité. Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau.

La mesure du pH se fait par **Potentiomètre** à l'aide d'électrode de verre ; cette méthode est utilisée pour tout type d'eau aussi bien sur le terrain qu'au laboratoire.

c) Mesure de la turbidité

La turbidité est un paramètre organoleptique et une expression des propriétés optiques d'une eau à absorber ou /et à diffuser de la lumière. Elle traduit la présence de particules en suspension dans l'eau (débris organiques, argiles, organismes microscopiques...). Son unité est le NTU (**Unité de Turbidité Néphélométriques**).

La méthode néphélométrie est basée sur la comparaison de la lumière diffractée par l'échantillon d'eau, avec celle d'un étalon de référence dans les mêmes conditions.

d) Mesure de la conductivité

La conductivité représente l'un des moyens de valider les analyses physicochimiques de l'eau, en effet des contrastes de conductivités mesurées sur un milieu permettent de mettre en évidence des pollutions, des zones de mélange ou d'infiltration. Elle sert aussi d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau.

Elle correspond à la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm² de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm.

L'unité de conductivité est le micro-siemens par centimètre (μS/cm), la valeur en μS/cm correspond à la salinité en mg/l. On utilise également la résistivité, inverse de la conductivité, mesurée en ohms.cm : Résistivité (ohms.cm) = 1 000 000 / conductivité (en μS/cm).

Nous mettons le **Conductimètre** en marche, nous l'étalonnons avec une solution de KCL de concentration connue, et donc de conductivité connue. Nous Plongeons l'électrode dans notre échantillon et nous lisons la conductivité relative à notre échantillon directement sur l'appareil en (uS/cm) ou en (mS/cm). Nous rinçons l'électrode après chaque mesure. Les lectures se font à une température constante de 20°C ou à 25°C.

e) Test du chlore Cl

Le test du chlore sert à déterminer la quantité du chlore résiduel dans l'échantillon à l'aide du DPD. L'apparition d'une coloration rose nous permet de la comparer à des couleurs avec des concentrations données.

I. 2) Analyses réalisées au laboratoire

a) L'oxydabilité

L'oxydabilité permet de déterminer la quantité de la matière organique qui existe dans l'eau.

Cette notion permet d'estimer la pollution organique globale d'une eau naturelle et d'apprécier l'efficacité du traitement auquel elle est soumise.

✓ Principe

L'échantillon à analyser est placé dans un bain-marie en présence d'une quantité connue de permanganate de potassium et dans un milieu acide pendant une période donnée. La partie du permanganate non réagi est déterminée on la titrant par l'excès d'une solution d'acide oxalique.

✓ Mode Opérateur

Un volume de 100ml de l'échantillon est transféré dans un erlenmeyer de 250 ml puis on ajoute :

1ère étape :

- 2ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄).
- chauffer au bain marie à 100°C pendant 10 min.

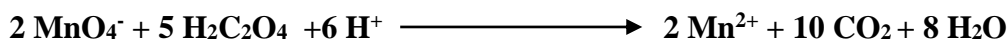
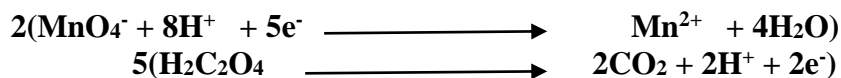
2ème étape :

- 10 ml de KMnO₄ N/10(10ml de KMnO₄).
- chauffer au bain-marie à 100°C pendant 10 min.

3ème étape :

- 10ml de Na₂C₂O₄ N/100 est ajouter, la solution devient incolore.
 - Titrer ensuite en retour par KMnO₄ N/100 jusqu'à l'apparition d'une teinte rose (**Tb**)
- N.B.** le blanc et le contrôle doivent être préparés de la même façon que les échantillons.

✓ Réaction en jeux :



b) Détermination de la duresse totale (TH)

✓ Principe

Le calcium et le magnésium présents dans l'eau sont complexés par l'EDTA.

Le noir ériochrome qui donne une couleur rose en présence des ions calcium et magnésium est utilisé comme indicateur pour la détermination de la duresse totale.

Le degré hydrotimétrique s'exprime en méq/l ou en degré français (°F).

✓ Mode opératoire

A 100ml d'eau à analyser, Nous ajoutons 5ml de solution tampon, une petite spatule d'indicateur de noir Eriochrome et nous titrons avec EDTA jusqu'au virage du rose au bleu.

NB:

$$\text{- TH en méq/l} = \text{TB} * 0,4$$

$$\text{- TH en } F^{\circ} = \text{TB} * 0,4 * 5^{\circ}F$$

c) Détermination de la dureté calcique Ca^{2+}

✓ Principe

La dureté calcique d'une eau est la concentration en ions calcium dans cette eau.

✓ Mode opératoire

Nous ajoutons 5ml de NaOH (4N) à 100ml de l'échantillon à examiner, plus une pincée d'indicateur (calcons). Nous observons une couleur rose; le titrage est effectué par l'EDTA 0.02M jusqu'au virage du rose au bleu.

N.B : - l'addition du NaOH a pour but de précipiter le Mg^{2+} sous forme $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

$$\text{- } [\text{Ca}^{2+}] = \text{TB} * 0.8 * 20.04 \text{ (mg/l)}$$

d) Détermination de la dureté magnésien Mg^{2+}

A partir de la concentration de Ca^{2+} et TH Nous pouvons calculer la concentration de Mg^{2+} :

$$\text{- } [\text{Mg}^{2+}] = |\text{Tb (TH)} - \text{Tb}(\text{Ca}^{2+})| * 0,4 * 12,16 \text{ mg/l}$$

e) Dosage des chlorures par le nitrate de mercure

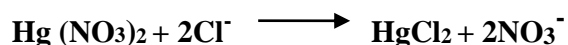
✓ Principe

Les chlorures se trouvent dans les eaux brutes sous forme de : **Chlorure de calcium** CaCl_2 , **Chlorure de Magnésium** MgCl_2 , **Chlorure de Sodium** NaCl ... Ils sont dosés, en milieu acide par le nitrate mercurique en présence d'un indicateur de pH à base de Diphénylcarbazone.

✓ Mode opératoire

Nous prenons 100 ml de l'échantillon, avec 5 gouttes d'indicateur coloré de pH, Nous ajoutons l'acide nitrique (HNO₃) N/3 goutte à goutte jusqu'à l'apparition d'une coloration jaune foncée. Puis nous ajoutons un excès de trois gouttes, nous dosons avec le nitrate mercurique (Hg (NO₃)) N/10 jusqu'à l'apparition de la Première teinte violette.

✓ Réaction mise en jeu



NB. La teneur en chlorures Cl⁻ calculer par: $V_{\text{eq}} \times 35,5 \text{ mg/l}$

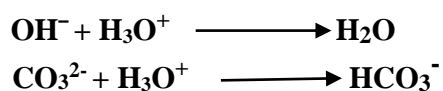
f) Détermination de l'alcalinité de l'eau (TA)

Le titre alcalimétrique (TA) correspond à la neutralisation des ions hydroxydes et à la transformation de la moitié des ions carbonate en hydrogénocarbonates (HCO₃) pour un acide fort.

Pour TA Nous ajoutons quelques gouttes de phénophtaléine (Indicateur de pH avec une zone de virage de 8.3 à 10), a 100 ml d'échantillon :

- Si la coloration est rose (TA # 0) nous dosons alors à l'aide du HCL (N /10) jusqu'à décoloration
- Si on n'a pas de coloration rose (TA=0), donc pH de l'eau est inférieur à 8.3. Nous passons directement à TAC.

Les réactions mises en jeu sont :



$$\text{NB. TA} = [\text{OH}^-] + \frac{1}{2}[\text{CO}_3^{2-}]$$

Ainsi le titre alcalimétrique est calculé à l'aide de l'équation suivante :

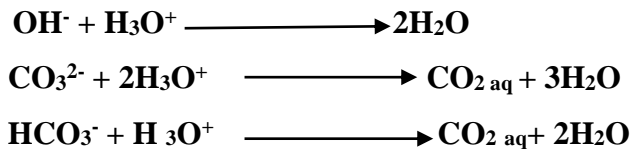
$$\text{TA} = V_{\text{tb}} (\text{még/l}) = V_{\text{tb}} * 5 \text{ } ^\circ\text{F degré Français.}$$

Le Titre Alcalimétrique Complet (TAC) correspondant à la neutralisation des ions OH⁻, HCO₃⁻, CO₃⁻.

Pour déterminer le TAC, nous utilisons l'hélianthine (avec une zone de virage de 3.3 à 4.6), que nous ajoutons à 100 ml d'échantillon pour donner une coloration jaune, ce qui nécessite un dosage par HCl.

Nous ajoutons un volume V_{tb}' d'acide chlorhydrique à l'aide d'une burette, tout en agitant après chaque goutte versée jusqu'à l'apparition d'une coloration jaune orangée.

Les réactions mises en jeu sont :



NB. $\text{TAC} = [\text{OH}^-] + [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{HCO}_3^-]$

Ainsi on calcule le titre alcalimétrique complet à l'aide de l'équation suivante :

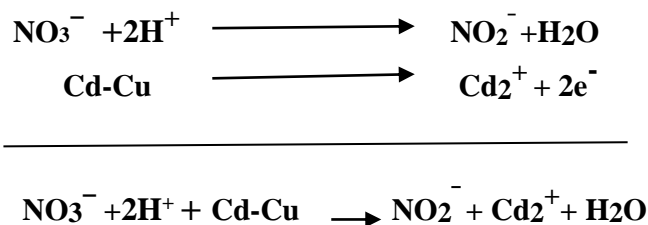
$$\text{TAC} = (V_{tb} + V_{tb}') \text{ (még/l)} = (V_{tb} + V_{tb}') * 5 \text{ }^\circ\text{F}$$

g) Détermination des nitrates (NO_3^-) : méthodes à la sulfanilamide après réduction

✓ Principe

le nitrate est d'abord réduit en nitrite en milieu alcalin, ce dernier réagit avec le sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui se combine en milieu acide avec le dihydrochlorure de N-(1-naphtyl)-éthylène diamine (N.E.D) pour former un composé rosé à violet dont l'absorbance à 520 nm est proportionnelle à la concentration des ions nitrite et nitrate.

✓ Réaction mise en jeu :



✓ **Mode opératoire :**

Préparation de la solution fille :

Nous avons préparé une solution étalon de nitrates d'une concentration de 10 mg/l à partir d'une solution mère de 100 mg/l déjà préparé.

Préparation des échantillons :

Les échantillons à analyser ont été préparés de la manière suivante :

- 1) Ajouter à 50 ml de chaque échantillon 1.25 ml de la solution tampon concentrée.
- 2) Passer ce mélange ainsi résultant dans la colonne de réduction : verser les premiers 25ml et on garde les derniers 25ml.
- 3) Ajouter 1ml de la solution AS à ces 25ml gardés
- 4) Finalement, ajouter 1ml de la solution NED
- 5) Laisser reposer pendant 30 min.
- 6) Mesurer l'absorbance à 540nm des étalons et des échantillons en respectant la série d'analyse
- 7) Reporter les résultats et tracer la courbe d'étalonnage pour en déduire par la suite les concentrations des échantillons

h) Détermination de l'ammonium par spectrophotomètre UV-Visible

✓ **Principe**

En milieu alcalin, l'ammonium réagi avec l'hypochlorite et donne une monochloramine avec du phénol, en présence du nitroprussiate et un excès d'hypochlorite, du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage colorimétrique à la longueur d'onde 630nm.

✓ **Mode opératoire**

Préparation des étalons

A partir de la solution mère (SM) (1000mg/l), une solution fille a été préparée de 10mg/l. c'est à partir de cette solution qu'on va préparer 5 concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5

; 1) mg/l et une concentration de 1mg/l préparer à partir d'une solution SM (10mg/l) c- à-d de contrôle dans des fioles de 50ml.

1ml de citrate de sodium est ajouté à 25ml de chaque concentration, puis on ajoute 1ml du phénol et 1ml de la solution de cyanure.

Préparation des échantillons

Les échantillons à analyser ont été préparés de la manière suivante :

25 ml de chaque échantillon est additionné avec :

- 1 ml de citrate de sodium
- puis 1ml de phénol
- et finalement 1ml de cyanure.

N.B. les échantillons doivent être neutralisés par NaOH (40%°) avant d'être utilisés pour le dosage.

Après l'ajout de ces réactifs il faut bien mélanger, et laisser reposer pendant une durée de 4h à 24h dans l'obscurité.

Finalement on mesure l'absorbance à 630 nm.

i) Détermination du bore par spectrophotomètre UV-Visible

✓ Principe

En milieu tamponné, le bore donne avec l'azométhine H (condensation de 1, acide 8-O, 1-naphtol, 3-6 di sulfonique et de l'aldéhyde salicylique) un complexe jaune caractéristique dont l'intensité est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420 nm avec une cuve de trajet optique de 10 mm.

✓ Mode opératoire

Préparation solution fille :

A Partir de la solution mère 1000mg/l on prépare 100mg/l d'étalon de bore.

Nous avons préparé une solution étalon de nitrates d'une concentration de 10 mg/l à partir d'une solution mère de 100 mg/l déjà préparé.

Préparation des étalons à partir de la solution fille :

Nous préparons quatre étalons à partir de la solution fille afin de tracer la courbe d'étalonnage.

Nous prenons 0,00 (blanc) ; 0,5 ; 1 ; 1,5 et 2 mg/l respectivement 0,00 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1 ml de la solution fille puis nous complétons avec de l'eau distillée désionisée jusqu'à 50 ml.

Préparation des échantillons :

Les échantillons à analyser ont été préparés de la manière suivante :

- 1) Transférer 4 ml de l'échantillon dans un flacon en polyéthylène
- 2) Ajouter 1 ml de la solution tampon
- 3) Finalement, ajouter 1 ml de la solution d'azométhine-H
- 4) Mélanger et laisser reposer pendant deux heures.
- 5) Mesurer l'absorbance à 420 nm des étalons et des échantillons en respectant la série d'analyse
- 6) Reporter les résultats et tracer la courbe d'étalonnage pour en déduire par la suite les concentrations des échantillons

Avant d'élargir les paramètres physico-chimiques analysés, une validation d'analyse s'impose comme suit

- ✓ **Duplicata** : Deux parties aliquotes distinctes obtenues à partir d'un même échantillon et soumises à toutes les étapes de la procédure analytique.
Le %d'écart entre les 2 résultats doit-être inférieur ou égale à 20% pour les échantillons liquides.
- ✓ **Blanc** : Nous utilisons l'eau distillée qui est traitée comme les étalons
- ✓ **Matériaux de référence (MR)** : Matériau ou substance dont certaines propriétés sont suffisamment homogènes et bien définies pour permettre de les utiliser pour l'étalonnage d'un appareil.
- ✓ **Ajout dosé** : C'est une méthode qui permet de faire des analyses qualitatives par ajout des étalons directement dans l'échantillon

- ✓ **vérification de l'étalonnage** : La qualité de l'étalonnage est vérifiée par le calcul du coefficient de corrélation linéaire (R^2) de la courbe de l'étalonnage. La valeur de (R^2) doit-être supérieure ou égale à 0,995.

II. Analyses bactériologiques

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes, soit celles qui sont indicatrices de contamination fécales ou d'efficacité de traitement. Le type d'analyses bactériologiques dépend de la nature de l'eau à analyser :

- **Pour l'analyse de l'eau traitée**, nous utilisons deux méthodes :
 - La technique de la filtration sur membrane ou membrane filtrante.
 - L'incorporation en gélose.
- **Pour l'analyse de l'eau brute**, nous utilisons :
 - La méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

NB : Dans la suite de ce rapport on va travailler seulement sur les analyses des eaux traitées.

II. 1) Méthodes d'analyses :

a) Technique de la filtration sur membrane

La méthode de filtration sur membrane consiste à recueillir, identifier et dénombrer à travers la surface d'une membrane filtrante stérile les bactéries recherchées dans un échantillon d'eau (Figure 1)



Figure 1 : Méthode de la membrane filtrante

b) L'incorporation en gélose

La méthode d'incorporation en gélose consiste à dénombrer les micro-organismes revivifiables présents dans le milieu de travail. La mise en culture sur une gélose nutritive d'un d'échantillon d'eau d'un volume de 1 ml vise à la recherche des germes totaux et comptage des colonies après incubation de deux boîtes de pétris (Figure 2).



Figure 2 : Incorporation par gélose

II. 2) Méthodes de recherche et dénombrement des micro-organismes dans les eaux traitées

Les bactéries recherchées sont mentionnées dans le tableau ci-après :

Tableau 2 : Bactéries recherchées et leurs paramètres

La bactérie	Milieu de culture	Température d'incubation (°C)	La durée d'incubation par heure	Le diamètre des pores en micromètre
La bactérie coliforme	Tergitol	37	48	0,45
Escherichia Coli		44	24 à 48	
Entérocoques intestinaux	Slanetz	37	48	0,45
Les spores clostridium	TSC	37	48	0,2
Les micro-organismes revivifiables 37 C	Gélose à l'extrait de levure	37	48	—
Les micro-organismes revivifiable 22 C		22	48 à 72	—

II. 3) TESTS PRESOMPTIFS et TESTS CONFIRMATIFS

a) *Les coliformes* : Bactéries lactose-positives pouvant former des colonies en aérobie à $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ sur un milieu de culture lactosé sélectif et différentiel avec production d'acide dans les (21 ± 3) h et qui sont oxydase-négatives. [4]

- Méthode d'analyse

Pour la méthode d'analyse des coliformes, nous plaçons aseptiquement la membrane filtrante stérile sur le disque poreux à l'embase de l'entonnoir. En suite nous plaçons l'entonnoir de filtration stérile sur la fiole à vide. Après nous agitons vigoureusement l'échantillon, puis nous versons 100 ml dans l'entonnoir. Et nous prenons la membrane avec une pince flambée et refroidie en la saisissant par son extrême bord. En fin nous plaçons cette membrane sur le milieu de culture Tergitol en veillant à ce qu'aucune bulle ne s'interpose entre la membrane et le milieu de culture. (Figures 3 – 4).

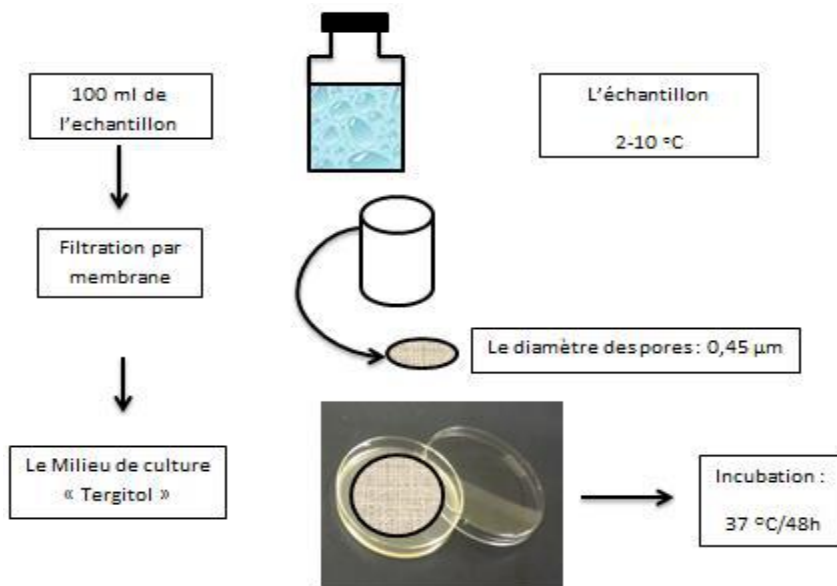


Figure 3 : Test présomptif des coliformes

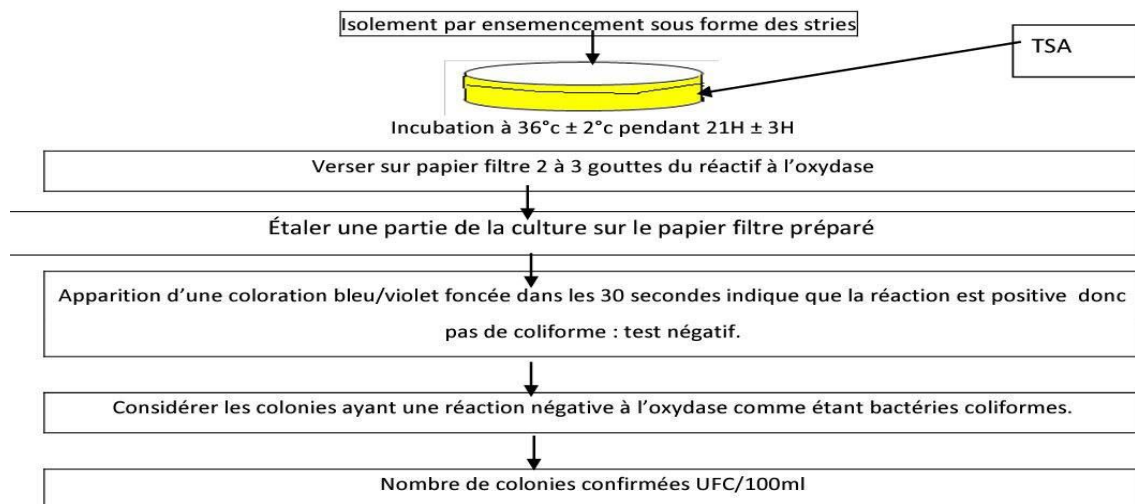


Figure 4 : Test confirmatif des coliformes

b) *Escherichia coli* : Bactéries coliformes et qui produisent également l'indole à partir du tryptophane dans les (21+3) h à (44+0,5) °C. [4]

- Méthode d'analyse

Pour la méthode d'analyse des *Escherichia coli*, nous plaçons aseptiquement la membrane filtrante stérile sur le disque poreux à l'embase de l'entonnoir. En suite nous plaçons l'entonnoir de filtration stérile sur la fiole à vide. Après nous agitons vigoureusement l'échantillon, puis nous versons 100 ml dans l'entonnoir. Et nous prenons la membrane avec une pince flambée et refroidie en la saisissant par son extrême bord. En fin nous plaçons cette membrane sur le milieu de culture Tergitol en veillant à ce qu'aucune bulle ne s'interpose entre la membrane et le milieu de culture. (Figures 5 – 6).

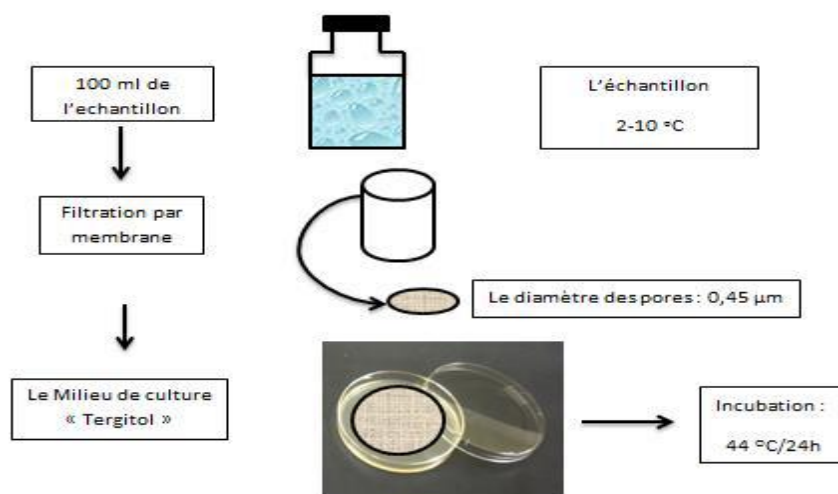


Figure 5 : Test présomptif des *E.colie*

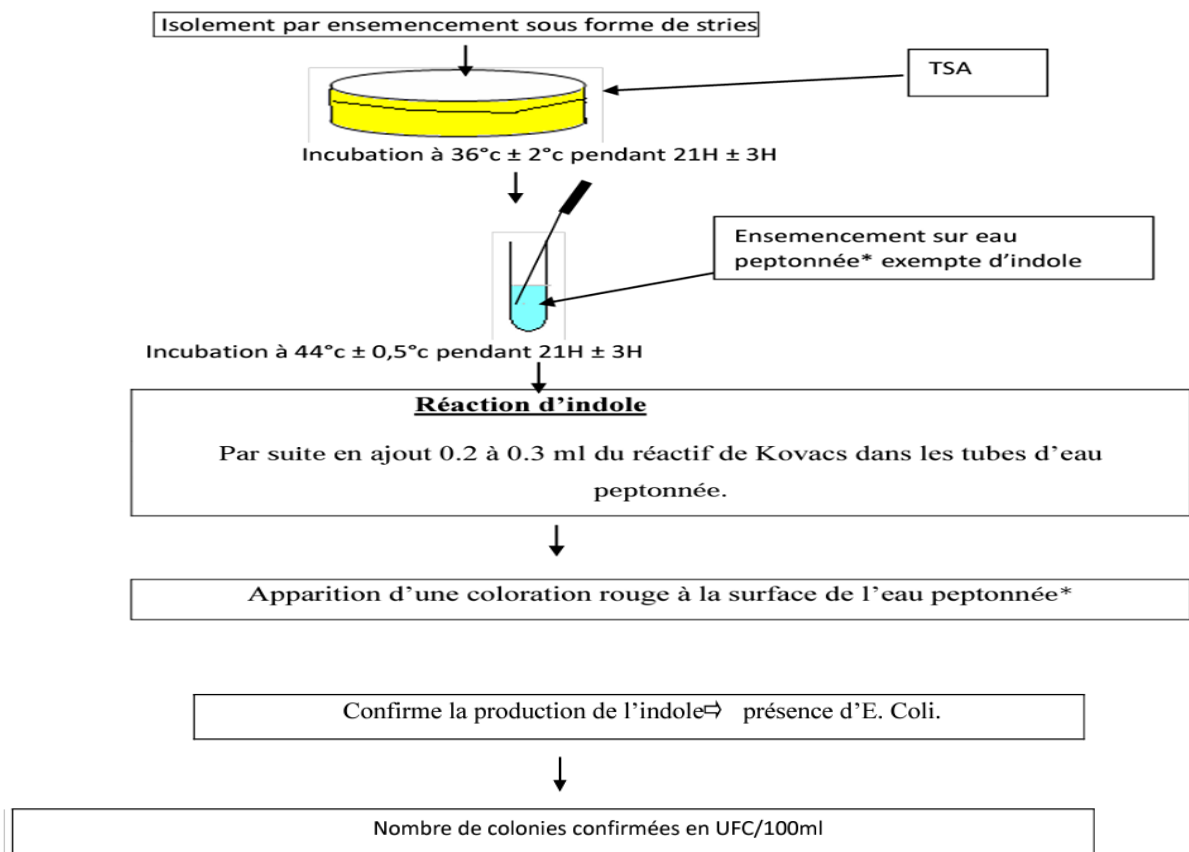


Figure 6 : Test confirmatif des E.colie

c) Les entérocoques : Bactéries capables de réduire le chlorure en formazine. [4]

- Méthode d'analyse

Pour la méthode d'analyse des entérocoques, nous plaçons aseptiquement la membrane filtrante stérile sur le disque poreux à l'embase de l'entonnoir. En suite nous plaçons l'entonnoir de filtration stérile sur la fiole à vide. Après nous agitons vigoureusement l'échantillon, puis nous versons 100 ml dans l'entonnoir. Et nous prenons la membrane avec une pince flambée et refroidie en la saisissant par son extrême bord. En fin nous plaçons cette membrane sur le milieu de culture SLANETZ en veillant à ce qu'aucune bulle ne s'interpose entre la membrane et le milieu de culture. (Figure 7 – 8).

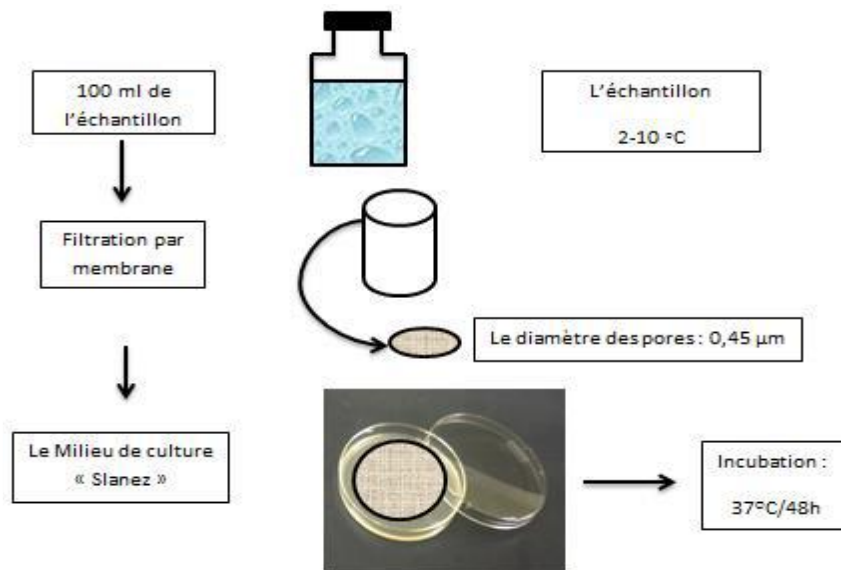


Figure 7 : Test présomptif des *entérocoques*

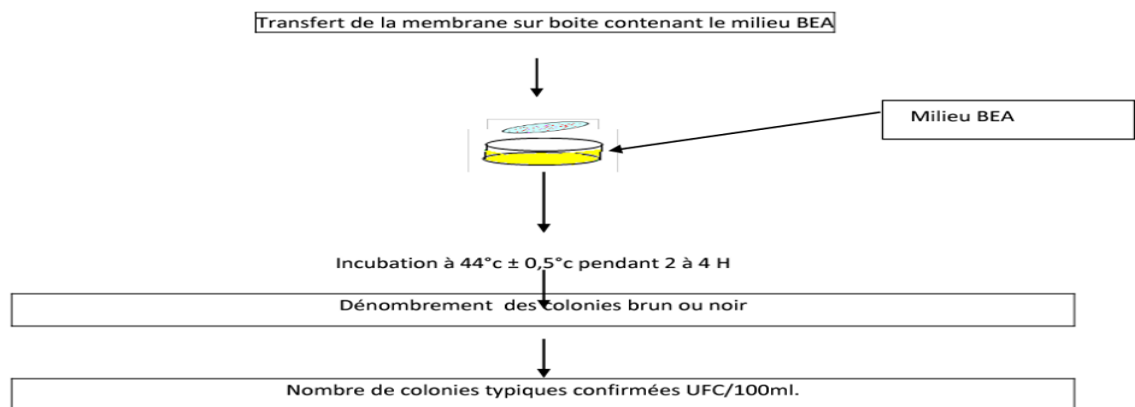


Figure 8 : Test confirmatif des *entérocoques*

d) Les micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridia*) :

Micro-organismes anaérobies formant des spores et sulfito-réducteurs, appartenant à la famille des Bacillacés et au genre *Clostridium*. [4]

- Méthode d'analyse

Pour la méthode d'analyse des spores clostridium, nous plaçons aseptiquement la membrane filtrante stérile sur le disque poreux à l'embase de l'entonnoir. En suite nous plaçons l'entonnoir de filtration stérile sur la fiole à vide. Après nous agitions vigoureusement l'échantillon, puis nous versons 100 ml dans l'entonnoir. Et nous prenons la membrane avec une pince flambée et refroidie en la saisissant par son extrême bord. En fin nous plaçons cette

membrane sur le milieu de culture TSC inversement en veillant à ce qu'aucune bulle ne s'interpose entre la membrane et le milieu de culture. (Figure 9).

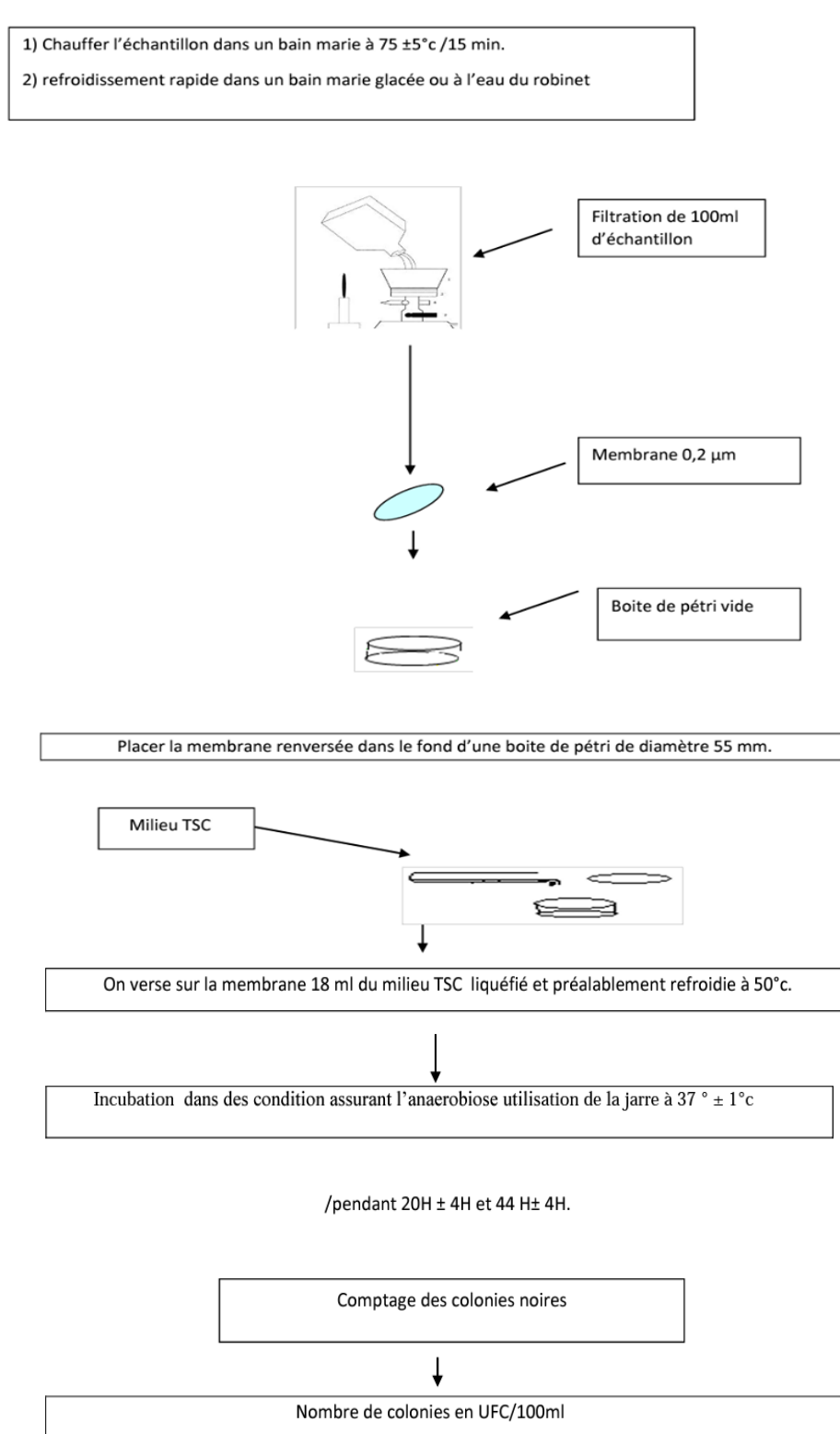


Figure 9 : Test des micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs

e) *Les micro-organismes revivifiables* : Toute bactérie aérobie, levure et moisissure, capable de former des colonies dans un milieu de culture nutritif gélosé. [4]

- Méthode d'analyse

Nous utilisons des boîtes de pétri d'un diamètre de 90 mm. Deux boîtes reçoivent chacune 1 ml d'eau analysé. Nous coulons dans chacune des boîtes la gélose nutritive préalablement fondue. Nous agitons doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, puis on laisse refroidir. Une boîte est incubée à 22°C /72h l'autre est maintenue à 37°C / 48h. Les colonies seront comptées à l'aide d'un appareil du comptage et les résultats sont exprimés pour 1 ml d'eau. (Figure 10)

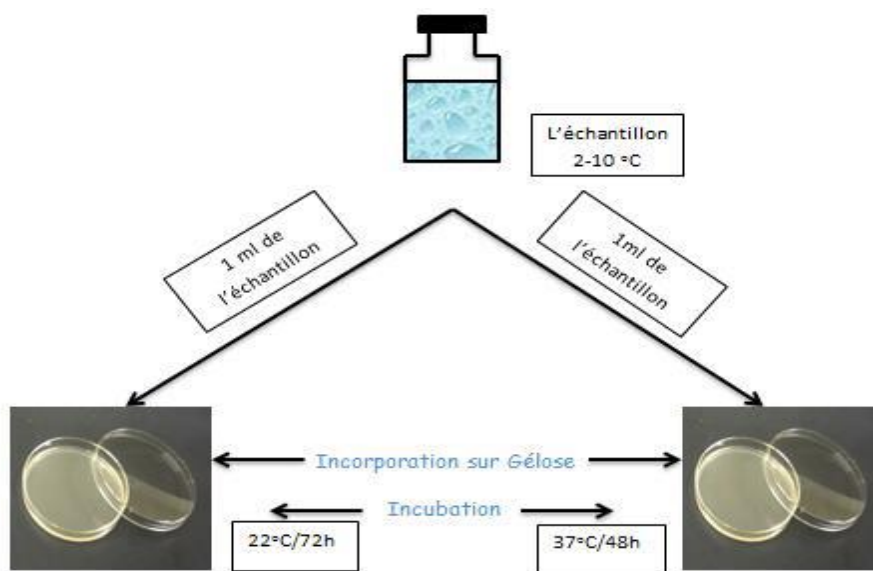


Figure 10 : Test sur les micro-organismes revivifiables

Chapitre 3 :

Résultats expérimentaux et discussions

Signalons que parmi les échantillons sur lesquels j'ai travaillé, un échantillon d'eau prélevé dans l'eau du robinet d'une localité de la région est utilisé pour étudier ses caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques.

Les résultats des analyses bactériologiques obtenus sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Résultats des analyses bactériologiques

Paramètre	Résultat
E. coli	0/100
coliformes	0/100
Entérocoques intestinaux	0/100
Spoires clostridium	0/100
Micro-organismes revivifiables à 22°C et 37°C	0/100

D'après le tableau 3, il a été montré que les analyses bactériologiques effectuées sur l'eau du robinet sont négatifs ce qui montre que ces analyses sont en conformité avec les normes marocaines.

Les analyses physico-chimiques ont été réalisées sur un échantillon prévenant de l'eau du robinet à savoir : pH, Conductivité, TH, TA, TAC, Oxydabilité, Nitrates, Ammonium, Bore... etc.

L'oxydabilité :

La détermination de la quantité de la matière organique qui existe dans l'eau est réalisée selon le mode opératoire cité dans la partie **I. 2) a)**.

Echantillon	Volume tombé de la burette (ml)	Norme marocaine
Eau du robinet	0,5	5 mg O₂/l

L'oxydabilité est de l'ordre de **0,4 mg O₂/l**, cette valeur inférieure à 5mg/l donc elle est en accord avec les normes marocaines.

Détermination des nitrates (NO_3^-) : méthodes à la sulfanilamide après réduction :

La détermination de la quantité des nitrates qui existe dans l'eau est réalisée selon le mode opératoire cité dans la partie **I. 2) g)**.

L'étude de cette analyse par un spectrophotomètre de 540 nm exige un étalonnage de la méthode (figure11).

✓ La courbe d'étalonnage :

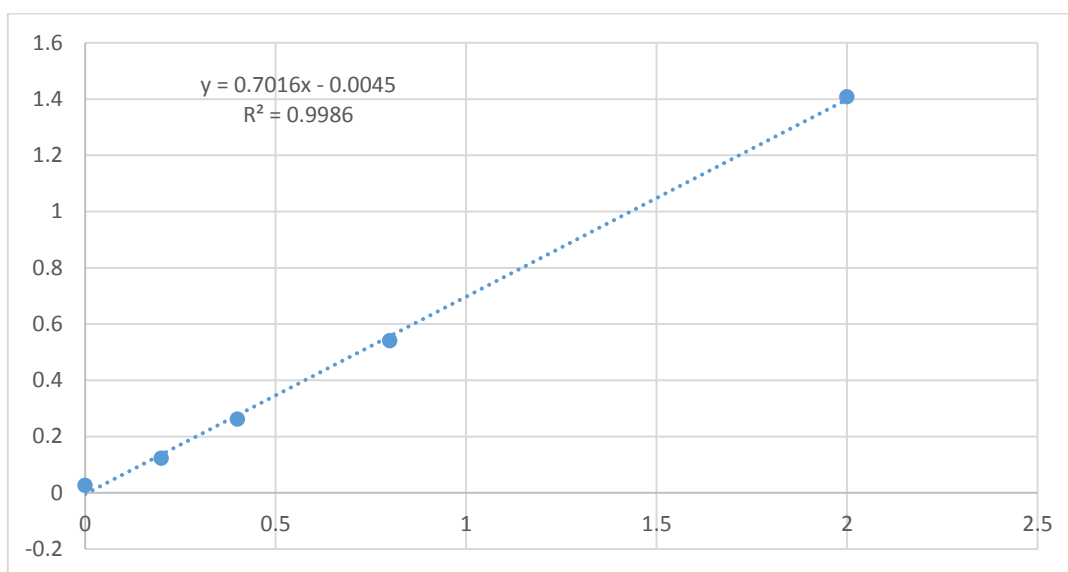


Figure 11 : courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre des nitrates

La courbe d'étalonnage est une courbe droite avec un coefficient de détermination de ($R^2= 0,998$)

✓ Détermination de la concentration de l'échantillon :

ECHANTION	CONCENTRATION (mg/l)	Norme marocaine	absorbance
Eau du robinet	0,17	50mg/l.	0,005

La concentration des nitrate est de l'ordre de est de l'ordre de **0,17 mg/l** , cette valeur inférieure à 50mg/l donc elle est en accord avec les normes marocaines

Détermination de l'Ammonium par spectrophotomètre UV-Visible :

La détermination de la quantité des nitrates qui existe dans l'eau est réalisée selon le mode opératoire cité dans la partie **I. 2) h)**.

L'étude de cette analyse par un spectrophotomètre dans une longueur d'onde de 630 nm exige un étalonnage de la méthode (figure12).

✓ La courbe d'étalonnage :

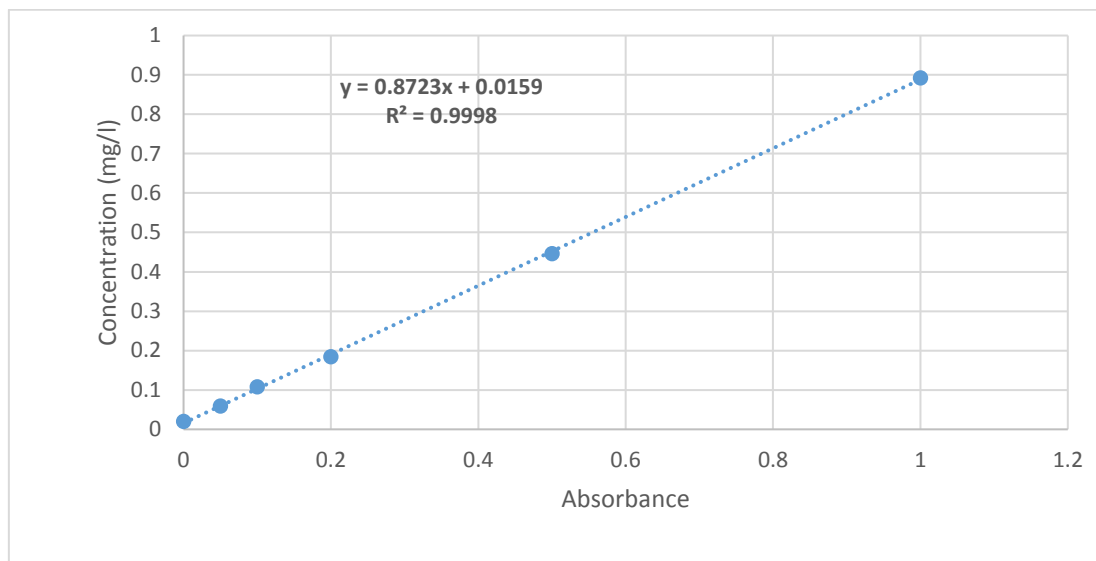


Figure 12 : courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre de l'ammonium

La courbe d'étalonnage est une courbe droite avec un coefficient de détermination de ($R^2= 0,999$)

✓ Détermination de la concentration de l'échantillon :

ECHANTILLON	CONCENTRATION (mg/l)	Norme marocaine	absorbance
Eau Robinet	0,06	0,5mg/l	0,048

La concentration de l'ammonium est de l'ordre de est de l'ordre de **0,06 mg/l** , cette valeur inférieure à 0,5mg/l donc elle est en accord avec les normes marocaines

Détermination du bore par spectrophotomètre UV-Visible :

La détermination de la quantité des nitrates qui existe dans l'eau est réalisée selon le mode opératoire cité dans la partie **I. 2) i)**.

L'étude de cette analyse par un spectrophotomètre dans une longueur d'onde de 630 nm exige un étalonnage de la méthode (figure13)

✓ La courbe d'étalonnage

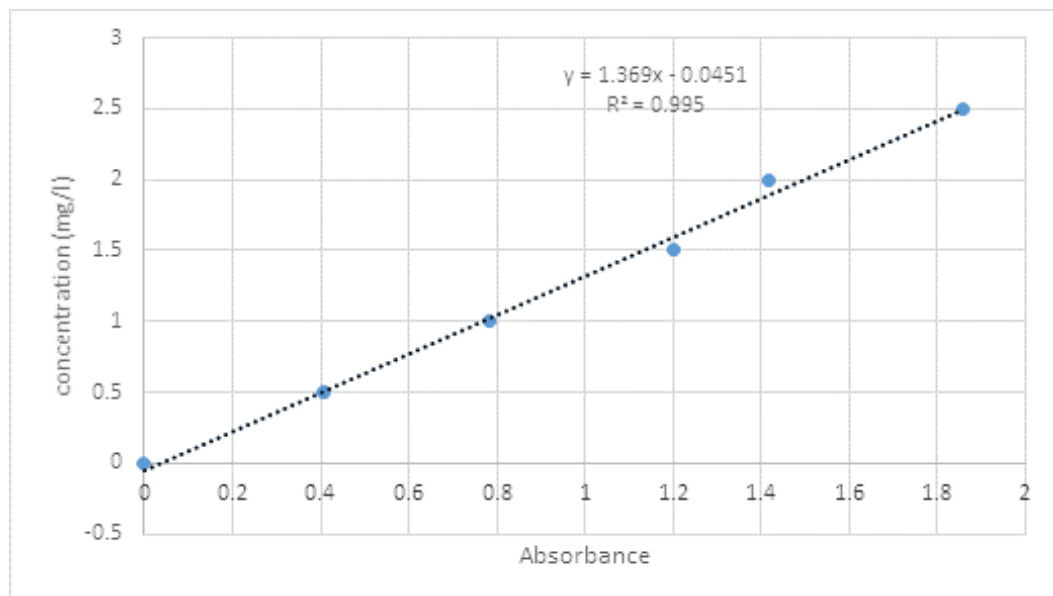


Figure 13 : courbe d'étalonnage de la méthode de dosage par spectrophotomètre du bore

La courbe d'étalonnage est une courbe droite avec un coefficient de détermination de ($R^2= 0,995$)

✓ Détermination de la concentration de l'échantillon :

ECHANTILLON	CONCENTRATION (mg/l)	Norme marocaine	Absorbance
Eau Robinet	0	0,3 mg/l	0,07

La concentration du Bore est nulle, d'où montre que l'eau traité ne contient pas du bore

Détermination des autres paramètres :

Les résultats des autres paramètres physico-chimiques qui ont été réalisées sont donnés dans le tableau suivant :

Paramètre	Température (°C)	pH	Turbidité (NTU)	Conductivité (μS/cm)	Dureté totale (°F)	Chlorure (mg/l)
Eau Robinet	20	7,754	0,39	603	29	41,18

Conclusion

Le stage effectué au laboratoire de la direction régionale de L'ONEE de Meknès m'a permis de mettre en pratique mes connaissances théoriques acquises durant mes études et de faire une approche plus claire sur les difficultés du monde du travail.

Mon intégration positive au sein de l'équipe du laboratoire a été une occasion pour réaliser plusieurs tâches que je considère comme le support de mon stage et de prendre conscience de l'importance du traitement de l'eau pour la protection du consommateur de toute contamination.

Signalons que les résultats d'analyse effectuée sur divers échantillons prélevés dans plusieurs points de la région répondent aux normes marocaines.

Je suis ainsi convaincu de l'intérêt que nous devons réserver à la préservation de l'eau en évitant de la gaspiller.

Enfin, il importe d'exprimer ma satisfaction d'avoir suivi ce stage dans de bonnes conditions, j'espère qu'il serait une expérience professionnelle pour mon avenir.

ANNEXES

➤ ANNEXE 1 : *Interprétation de la valeur du degré hydrotimétrique de l'eau :*

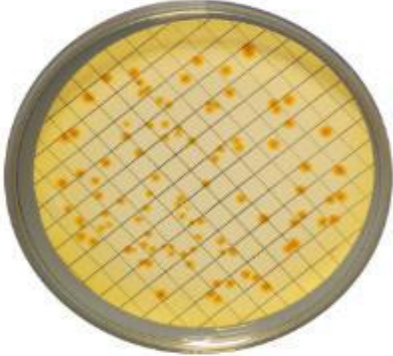
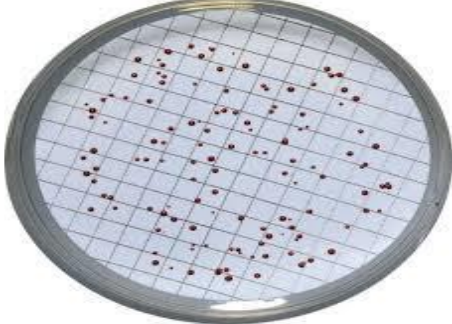

<i>Valeur du degré hydrotimétrique</i>	<i>Interprétation</i>
0 - 1,4 méq/l = 0 et 7°F	Très douce
1,4 - 2,8méq/l = 7 et 14°F	Eau Douce
2,8 - 4,4méq/l = 14 et 22 °F	Moyennement dure
4,4 - 6,4méq/l = 22 et 32 °F	Eau Assez dure
6,4 - 8,4méq/l = 32 et 42 °F	Eau Dure
plus que 8,4méq/l = plus que 42 °F	Eau Très dure

➤ ANNEXE 2 : *Exemple de Préparations des milieux de cultures*

☞ **Milieu Tergitol** : Mettre en suspension 51,1 grammes de milieu déshydraté dans un litre de l'eau distillée ou déminéralisée. Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète. Répartir à raison de 100 ml par flacon. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir et maintenir le milieu à 47 °C . Ajouter stérilement 1 ml de supplément TTC 12,5 mg reconstitué (BS026) par flacon. Homogénéiser parfaitement. Couler en boîte de pétri stériles.

☞ **Milieu TSC** : Mettre en suspension 42 grammes de milieu déshydraté dans un litre de l'eau distillée ou déminéralisée. Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète. Répartir en tube 20*200 ml, à raison de 20 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir et maintenir le milieu à 47 °C. Ajouter stérilement 0,2 ml de supplément sélectif D-Cyclosérine reconstitué (BS006) par tube. Homogénéiser parfaitement.

➤ ANNEXE 3 : *Le cas positif des analyses bactériologiques*

<p><i>E. coli + Coliformes</i></p>	
<p><i>Entérocoques</i></p>	
<p><i>Clostridium</i></p>	

→ ANNEXE 4 : *Paramètres bactériologiques :*

PARAMETRE	VMA
Escherichia coli	0/100
Entérocoques intestinaux	0/100
coliformes	0/100
Spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia)	0/100

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]. = <http://www.who.int/>

[2] = NORMES EUROPEENNES APPLICABLES A L'EAU DE BOISSON Deuxième édition (Organisation mondiale de la santé Genève) page 8-9

[3] = Norme Marocaine (Qualité des eaux d'alimentation humaine) NM 03.7.001 2006.)

[4] (VEOLIA environnement « le cahier des chroniques scientifiques » page 3 David Benanou, responsable de l'équipe expertise en chimie du centre de recherche sur l'eau Veolia)