



Université Sidi Mohamed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques Fès
Département de Chimie



LSTTACQ

Techniques d'analyses et Contrôle de Qualité

Contrôle et suivi de la qualité de l'eau potable à la ville de Fès

Réalisé par :
Soumia FELLAH

Encadré par:

- Mr. A. BOUKIR (FST)
- Mr. K. FARHAT (QEE)

Année Universitaire : 2010-2011

Le caractère banal de l'eau qui nous environne fait parfois oublier que ce liquide qui nous est si familier s'avère en réalité le fluide le plus indispensable à la vie. L'histoire de l'eau se confond avec celle de l'humanité et tout le développement industriel s'est construit en partenariat avec l'eau.

L'eau est un élément vital pour l'homme, elle est :

- **Indispensable** par le rôle fondamental qu'elle joue dans son métabolisme,
- **Nécessaire** pour l'amélioration de l'hygiène et du confort en ce qui concerne ses conditions de vie,
- Et **utile** à la sécurité et au progrès de son approvisionnement alimentaire.

L'homme pour satisfaire sa soif, puise de l'eau dans les réserves disponibles dans la nature, que ce soit des eaux souterraines ou des eaux de surface stagnantes (lacs) ou en écoulement (rivières, fleuves). Malheureusement, les activités humaines ont provoqué la dégradation de la qualité de cette eau naturelle qui est devenue un vecteur de transmission privilégié de nombreuses maladies hydriques.

De nos jours, disposer d'eau potable 24 heures sur 24 à domicile est un confort auquel certaines personnes se sont si bien habitués qu'ils n'ont pas toujours conscience d'habiter une région privilégiée de la planète. Chaque année, dans le tiers-monde, des millions de personnes sont privés de l'eau qui leur serait nécessaire et meurent encore pour avoir consommé de l'eau non potable. Il apparaît aujourd'hui que les consommateurs humains sont de plus en plus sensibles à la qualité de l'eau qui leur est fournie et de plus en plus désireux d'être informés sur sa provenance, sa composition et les contrôles de qualité dont elle fait l'objet.

La recherche de la qualité qui préside à l'ensemble du processus de production **Recherche de la qualité** et de distribution constitue la préoccupation première et constante des professionnels de l'eau. S'exprimant au fil de l'eau, elle nécessite une connaissance poussée sur le **plan analytique** de l'eau disponible, en vue de:

- La sélection de la meilleure ressource naturelle en eau brute.
- La définition des traitements de purification nécessaires pour ramener les teneurs des composés considérés comme indésirables à des valeurs fixées par les normes.
- Et enfin un suivi permanent par des contrôles répétés afin de garantir la qualité de l'eau distribuée.

Ce dernier point constitue l'objectif principal de ce travail. En effet, ce travail consiste d'une part à évoluer la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau potable distribuée par la RADEEF (mission confiée au QEE) dans la ville de Fès.

Introduction

L'eau destinée à la consommation humaine est considérée comme potable si elle répond à des exigences de qualité bien définies sur le plan de ses caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques qui ne doivent pas porter atteinte à la santé du consommateur.

Pour la qualité des eaux distribuées, on se réfère essentiellement à deux aspects :

- La **satisfaction** de l'utilisateur est subjective, car elle est fondée essentiellement sur la **qualité organoleptique et visuelle** «l'eau doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent»;
- La **composition et sa compatibilité avec l'hygiène et la protection de la santé publique** (qualité sanitaire).

I. Normes marocaines relatives à la qualité de l'eau potable

La qualité des eaux distribuées est définie par des normes marocaines qui se réfèrent aux réglementations marocaines en vigueur (l'article 59 et 60 de la loi 10-95, l'article 14 du décret n°2-05-1326 relatif aux eaux à usage alimentaire(annexe I), les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (directives établies en 1983) et la réglementation internationale.

I.1. Norme marocaine NM 03.7.001

Cette norme fixe les exigences auxquelles doit satisfaire **la qualité** des eaux d'alimentation humaine. Elle définit l'eau potable comme étant toute eau destinée à la boisson et/ou utilisée pour la préparation, le conditionnement ou la conservation des denrées alimentaires destinées au public, quel que soit le mode de production et de sa distribution.

Selon la NM 03.7.001, l'eau potable ne doit contenir, ni quantité dangereuse, ni substances chimiques nocives pour la santé, ni micro-organismes, et doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent.

Les critères de qualité auxquels doit répondre l'eau potable sont spécifiés.

1.2. Norme marocaine NM 03.7.002

La norme marocaine 03.7.002 se réfère à la norme marocaine relative aux spécifications des eaux d'alimentation humaine NM 03.7.001. Elle définit le contrôle et la surveillance des eaux desservies pour l'alimentation humaine et fixe la fréquence d'échantillonnage et les types d'analyses nécessaires à cette fin.

La norme 03.7.002 a précisé aussi les différents paramètres qu'il faut analyser d'une manière régulière pour assurer la surveillance et le contrôle de la qualité de l'eau. Elle les a classés en trois types d'analyse à savoir :

❖ Analyse de type I

C'est une analyse effectuée à l'entrée du système de distribution et à l'intérieur du réseau de distribution au niveau de certains points judicieusement choisis. Elle comprend les paramètres suivants :

la température, le pH, la dose du désinfectant résiduel, les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les germes totaux à 22 et 37°C.

❖ Analyse de type II

C'est une analyse de surveillance effectuée sur chaque captage, à l'entrée du système de distribution si l'eau subit un traitement outre que celui de la désinfection et à l'intérieur du réseau de distribution quand s'y effectue un mélange d'eau ou en cas d'analyses de confirmation d'une pollution bactérienne.

En plus des paramètres de qualité compris dans l'analyse de type I, l'analyse de type II comprend les paramètres de qualité suivants:

La conductivité, l'ammonium, les nitrites, les nitrates, l'oxydabilité au permanganate de potassium, le dénombrement des spores des clostridiums sulfito-réducteurs et le dénombrement des streptocoques fécaux.

❖ Analyse de type III

Appelée analyse complète, est utilisée pour les mêmes fins que l'analyse de type II, sauf pour la confirmation de la pollution bactérienne à l'intérieur du réseau de distribution, et sert également à l'étude des ressources en eau que l'on se propose à utiliser pour l'approvisionnement public en eau. Elle comprend les paramètres suivants :

- Tous les paramètres pour lesquels une valeur maximale admissible est fixée par les normes applicables à l'eau d'alimentation humaine en vigueur au moment du prélèvement ;
- Tout paramètre de qualité qui, compte tenu des caractéristiques particulières de l'alimentation en eau de l'agglomération considérée, peut contribuer à une meilleure évaluation hygiénique de l'eau destinée à l'alimentation humaine ;
- Et tout paramètre de qualité nécessaire à l'évaluation de la balance ionique.

II. Paramètres influençant la qualité de l'eau

Les normes décrites précédemment, précisent les références de qualité à respecter (Valeur Maximale Admissible : VMA) pour un certain nombre de paramètres influençant la qualité de l'eau potable et qui peuvent être regroupés en cinq catégories :

- **Les paramètres organoleptiques :**

Ce sont les paramètres qui mesurent les qualités sensibles de l'eau (odeur, couleur, saveur...). Ils n'ont pas de critères sanitaires directs, étant donné que l'eau peut être trouble et consommable.

- **Les paramètres physico-chimiques :**

Ils sont en relation avec la structure naturelle des eaux. On y retrouve des caractéristiques que l'eau brute a pu acquérir dans son parcours naturel : la température, la conductivité (paramètre en rapport direct avec la dureté et la teneur globale en minéraux dissous), le pH (ce dernier doit être supérieur à 6,5 et inférieur à 9 unités) mais également la teneur en oxygène dissous, le carbone organique dissous, la valeur de la turbidité et des matières en suspension (MES).

- **Les substances indésirables :**

Ce sont des substances tolérées à très faible quantité (métaux lourds, matières azotées, phosphatées par exemple). En effet, le fluor est indispensable à la santé en faible quantité. Quant aux nitrates, leur seuil est fixé à 50 mg/L; au-delà de cette valeur, ils peuvent provoquer la mort chez les nourrissons.

- **Les substances toxiques :**

Les normes retenues par ce groupe tiennent compte de la marge d'incertitude adoptée en toxicologie. Les teneurs tolérées sont en très petite quantité (chrome et plomb par exemple). La teneur de ce dernier est très faible (50µg/L), compte-tenu du fait que cela pourrait provoquer, en grandes quantités, des troubles neurologiques.

- **Les paramètres microbiologiques :**

L'eau doit être exempte de bactéries et de virus pathogènes, comme les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les salmonelles. La présence dans l'eau de ces bactéries indique une contamination d'origine fécale et donc la possibilité que des germes pathogènes dangereux soient présents dans l'eau. En revanche, la présence, en petites quantités, de germes banals est admise.

Tous ces paramètres peuvent évoluer en cours de distribution en provoquant l'altération de la qualité de l'eau distribuée avec une ampleur qui dépend de la qualité de l'eau introduite dans le système de distribution, de la nature et la structure du réseau ainsi que de l'entretien de ce dernier.

III. Désinfection de l'eau

La désinfection a pour but d'éliminer les microorganismes pathogènes et de garantir l'absence de tous germes infectieux (bactérie et virus) dans les eaux distribuées [1].

La réduction des germes peut être obtenue par des procédés d'enlèvements physiques, tels que la coagulation/floculation ou filtration, ou par des procédés d'inactivation chimiques, comme les oxydants (chlore, ozone, dioxyde de chlore...) ou par différentes molécules à caractère non oxydant. L'inactivation par rayonnements UV peut également être utilisée [1].

Les procédés chimiques sont les plus utilisés, car ils associent à une sécurité satisfaisante la plus grande facilité de mise en œuvre. En effet, pour qu'un produit soit un désinfectant efficace pour l'eau potable, il doit posséder deux critères importants correspondant à deux effets différents :

Un effet bactéricide décrit la capacité de destruction des germes à une étape donnée du traitement ;

Un effet rémanent, c'est la capacité de se maintenir dans l'eau au cours de son cheminement dans le réseau. Cet effet rémanent permet de garantir la qualité bactériologique de l'eau dans le réseau de distribution. Il s'agit à la fois d'un effet

bactériostatique contre la reviviscence bactérienne en réseau et d'un effet bactéricide contre les pollutions faibles et ponctuelles survenant dans le réseau.

Le meilleur désinfectant est celui qui présente un équilibre entre les deux effets.

Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques principales des produits utilisés pour la désinfection

Effet	O ₃	Cl ₂	ClO ⁻	Chloramine	UV
Bactéricide + Virulicide	+++	++	++	+	++
Rémanent	0	+	++	+++	0

Donc à partir de ce tableau, on peut conclure que la bonne méthode de désinfection est celle de la chloration.

❖ Chloration (demande en chlore)

Le chlore est un agent très actif, qui réagit rapidement avec les substances organiques ou non, présentes dans l'eau. Il faut l'ajouter à l'eau en quantité suffisante pour que les réactions soient complètes et qu'il reste assez de chlore libre et/ou de chloramines pour exercer une action bactéricide.

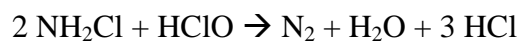
Pour cela on procède par deux étapes :

- Détermination du degré chlorométrique de l'eau de javel : qui consiste à déterminer expérimentalement le degré chlorométrique de l'eau de javel et le comparer à celui indiqué sur l'emballage, afin de l'utiliser pour la désinfection des échantillons contaminés.
- Détermination du break point :

La dose nécessaire ou la demande en chlore est déterminée expérimentalement par la méthode dite au break point, cette méthode consiste à introduire dans une série de flacons, ayant la même capacité et contenant le même volume d'eau brute, des doses croissantes de chlore. Après un temps de contact correspondant en général à la durée de séjour de l'eau dans l'installation, on procède à la mesure du chlore résiduel dans chaque flacon et on établit la courbe représentative du chlore résiduel en fonction du chlore introduit à partir de laquelle on déduit le break point ou point de rupture, celui-ci correspond à la dose de chlore minimum de la courbe pour laquelle il ne subsiste plus de chloramine dans l'eau.

En effet l'action du chlore passe par trois étapes :

- Dans la première étape, le chlore réagit chimiquement avec les substances réductrices disponibles dans l'eau (le Fer, les sulfures, les sulfites, les nitrites...) puis avec la matière organique et donne des composés chlorés.
- Quand ces substances ont été détruites, une étape suivante commencerait dans laquelle il se forme les composés chlorés, principalement les chloramines, qui agiraient comme chlore résiduel, ce qui donnerait un certain caractère désinfectant au système.
- Quand tout l'ammoniac et les amines organiques ont réagit au chlore, après le sommet de la courbe, il commence une étape de destruction de ces composés chlorés formés dans l'étape antérieure. On y ajoute encore du chlore, il n'y a pas un accroissement de la quantité de chlore disponible, bien au contraire on observe une diminution car on consomme tant de chlore résiduel qui avait été formé, comme l'hypochlorite ajouté. L'équation suivante permet de montrer cet effet:



Ainsi la capacité désinfectante du système se réduit dans cette étape.

Après le point de rupture (*break point*), toute la quantité du chlore ajoutée reste sous forme de chlore libre. Pour ceci, on considère qu'à partir de ce point, la désinfection et/ou l'élimination de matière organique oxydable par chlore, ont déjà eu lieu, et l'eau contient une valeur donnée de chlore libre résiduel.

La demande de chlore est la différence qui existe entre la quantité de chlore appliquée à l'eau et celle de chlore libre disponible. Ainsi, on peut considérer que la demande en chlore correspond à peu près à la dose dans laquelle le point de rupture est atteint.

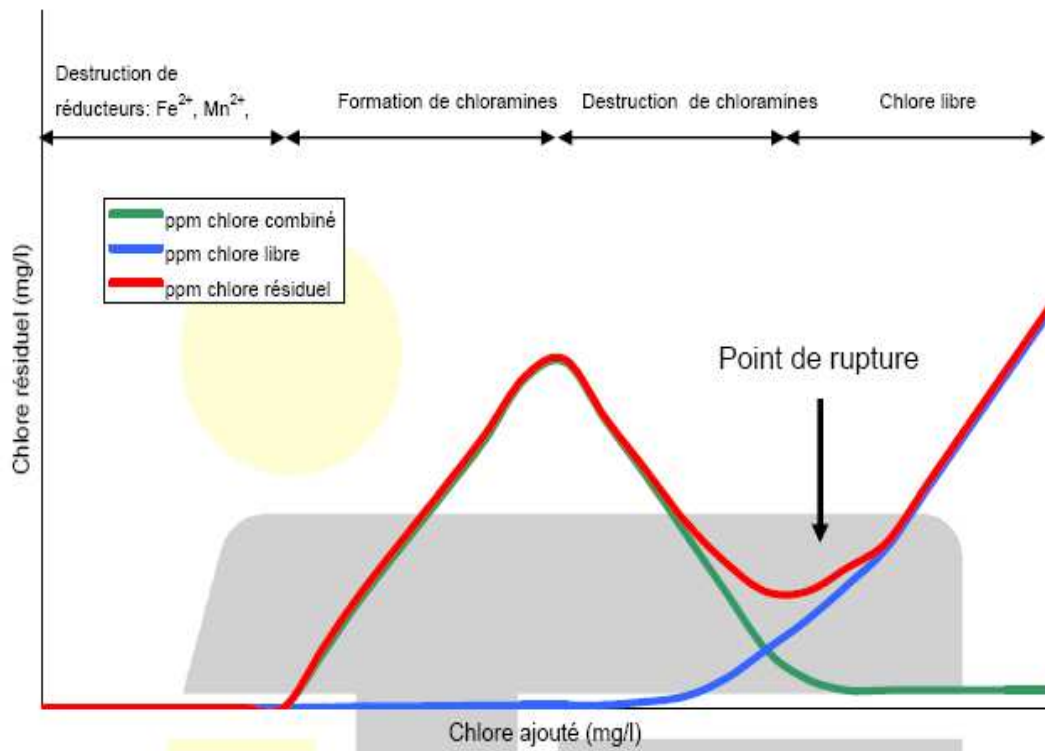


Figure 1 : Evolution de la teneur en chlore résiduel en fonction du chlore ajouté

Le chlore libre résiduel peut apparaître sous forme de Cl_2 , $HClO$ et/ou ClO^- , dépendant du pH de travail, et par conséquent il correspond à la somme de ces trois espèces

Conclusion :

Au cours de ce chapitre nous avons donné un aperçu général sur la réglementation de l'eau potable et les paramètres influençant sa qualité sans pouvoir négliger un autre paramètre aussi important qui est la teneur en chlore résiduel.

Cette partie bibliographique est nécessaire pour pouvoir aborder la partie expérimentale.

Introduction

La vérification de la conformité des eaux potables aux normes exigées se pratique à travers les analyses physico-chimiques et bactériologiques qu'on propose de découvrir dans ce chapitre.

I. Analyses physico-chimiques

I.1. Analyses physiques

a) Température

La température est un facteur très important (réduit les teneurs en oxygène), sa mesure doit se faire au moment du prélèvement de l'échantillon à l'aide d'un thermomètre.

b) pH

Le pH est un indicateur de l'acidité ou de l'alcalinité de l'eau. Il dépend de la présence des ions H_3O^+ dans le milieu analysé selon la relation :

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

La mesure de pH de l'eau se fait par la méthode potentiométrique (à l'aide d'un pH-mètre doté d'une électrode en verre, la mesure se fait directement sur l'échantillon d'eau).

Mode opératoire :

- ✓ Etalonner l'appareil,
- ✓ Mettre dans un bêcher une quantité suffisante d'eau à analyser,
- ✓ Et en fin placer les électrodes du pH-mètre (Figure 2) dans l'eau.

Expression des résultats:

Le pH-mètre nous donne directement la valeur du pH.



Figure 2 : pH-mètre.

c) Conductivité

La conductivité d'une eau est un critère qui donne une information sur sa composition chimique. Elle dépend de la concentration totale des ions, de leur concentration relative, de leur mobilité, de leur valence et de la température. Elle permet ainsi d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une conductivité élevée traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée. La conductivité est exprimée en micro Siemens par Centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) mesurée à la température de 20°C à l'aide d'un conductimètre (Figure 3).



Figure 3 : Conductimètre.

d) Turbidité

Principe :

La turbidité désigne la teneur d'un liquide en matières qui le troublent. Elle est causée par des particules en suspension qui absorbent, diffusent et/ou réfléchissent la lumière.

Elle est mesurée au laboratoire à l'aide d'un turbidimètre (Figure 4). Les unités de mesure sont les UTN (unités de turbidité néphéométriques).



Figure 4 : Turbidimètre.

Mode opératoire:

- Calibrer l'appareil avec l'étalon adéquat,
- Remplir le tube avec l'échantillon,
- Et lire la valeur de turbidité affichée.

II.2. Analyses chimiques

a) Oxydabilité

L'oxydabilité au permanganate de potassium (KMnO_4), appelée aussi indice de permanganate d'une eau, correspond à la quantité d'oxygène cédée par l'ion permanganate et consommée par les matières oxydables contenues dans un litre d'eau.

Principe :

Le test consiste à mesurer en milieu acide la quantité d'oxygène utilisée pour la réduction du permanganate de potassium par les matières oxydables contenues dans une eau. Cette quantité est ensuite exprimée en quantité de dioxygène théoriquement équivalente [3].

- On oxyde par un excès de permanganate de potassium en milieu acide et à ébullition (10 min) des matières oxydables contenues dans la prise d'essai de l'échantillon.

- On réduit l'excès de permanganate par une solution d'oxalate de sodium ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) en excès connu.

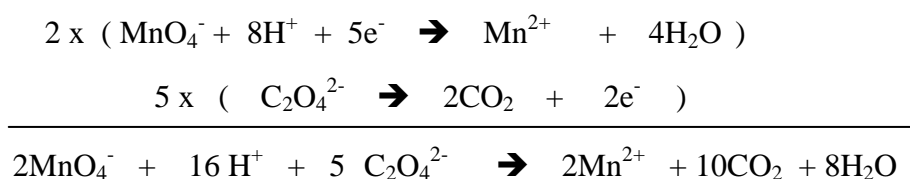
- On titre avec un dosage en retour l'excès d'oxalate par le permanganate de potassium.

Réactions mises en jeu :

La réaction d'oxydation est :



La réaction de décoloration est :



NB : Il s'agit de déterminer le nombre de mole d'électrons cédé par la matière organique, qui est égal à celui capté par le dioxygène. Selon l'équation suivante 1 mole d' O_2 (soit 32 g) capte 4 moles d'électrons.

Réactifs :

- Solution de KMnO_4 de normalité 0,01 N (2mmol/L)
- Solution d'oxalate de sodium de normalité 0,01 N (5 mmol/L)

Mode opératoire :

↳ L'échantillon

- Introduire une prise d'essai de 25 mL dans un erlenmeyer,
- Ajouter 5 mL de l'acide sulfurique,
- Chauffer pendant 10 min à ébullition douce,
- Ajouter 5 mL de la solution KMnO_4 et maintenir à l'ébullition pendant 10 min,
- Ajouter 5 mL d'oxalate de sodium,
- Attendre la coloration de la solution (bien agiter)
- Titrer à chaud avec la solution de KMnO_4 jusqu'à l'apparition d'une légère coloration rose pâle persistante environ 30 secondes,
- Noter le volume de la tombée de burette.

↳ Le blanc

- Parallèlement à l'essai, on procède à un essai à blanc dans les mêmes conditions en utilisant 25 mL d'eau distillée ;
- Noter le volume de KMnO_4 consommé, soit V_0 (V_0 ne doit pas dépasser la valeur 0,3).

Etalonnage de la solution de permanganate :

Dans le même erlenmeyer de dosage du blanc

- Ajouter de nouveau 5 ml d'oxalate de sodium
- Réchauffer 2 à 3 minutes à la température de 80 °C,
- Titrer avec la solution de permanganate de potassium jusqu'à apparition d'une légère teinte rose pâle persistante 30 secondes. Noter le volume V_2 .

Expression des résultats :

L'indice de permanganate (IP), exprimé en milligrammes d'oxygène par un litre d'échantillon, peut alors se calculer comme suit :

$$\text{IP (mg de O}_2 \text{ /L)} = f (V_1 - V_2) / V_2$$

$$\text{Avec } f = V_4 \times [\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4] \times \text{MO} / V_5$$

Dans les conditions de la norme : $f = 16$

V_0 : le volume de permanganate versé pour l'essai à blanc (tombé de burette sur le blanc),

V_1 : le volume de permanganate versé pour l'échantillon (tombé de burette sur l'échantillon),

V_2 : le volume de permanganate versé pour l'étalonnage (sur la solution de blanc),

V_4 : le volume d'oxalate utilisé pour l'étalonnage (5 mL),

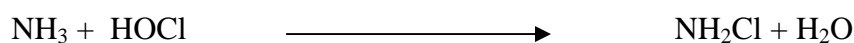
V_5 : le volume de l'échantillon (25 mL),

MO : masse molaire de l'oxygène (16 g/mol).

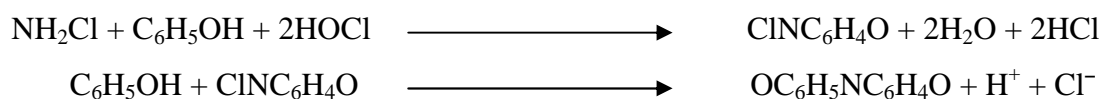
b) Dosage des ions ammoniums NH_4^+

Principe :

En milieu alcalin, les ions NH_4^+ réagissent quantitativement avec l'hypochlorite et donnent des monochloramines selon la réaction suivante :



Ces derniers forment avec le phénol et en présence de nitroprussiate (catalyseur), du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage colorimétrique. Ainsi les réactions mises en jeu sont les suivantes :



Réactifs :

☞ Solution chlorée

- Hydroxyde de sodium : **20g**
- Citrate trisodique ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) : **380g**
- Hypochlorite de sodium (NaOCl) remplace l'acide dichlorocynurique ($\text{C}_3\text{HCl}_2\text{N}_3\text{O}_3$) : **4g**
- Eau déionisée qsp **1000mL** (quantité suffisante pour : qsp)
 - ✓ Dissoudre l'hydroxyde de sodium et le citrate trisodique dans 800mL (ED),
 - ✓ Porter la solution à l'ébullition, maintenir celle-ci pendant 20 min,
 - ✓ Après refroidissement, ajouter le perchlorate de sodium puis ajuster à 1000 mL.

☞ Solution de nitroprussiate de sodium et de phénol

- Phénol : **35 g**
- E.D : (quantité suffisante pour : qsp) **1000 mL**.

Transverser la solution dans un flacon brun et conserver au réfrigérateur, cette solution est stable pendant un mois.

☞ Solution mère étalon à 0.1g / L de NH_4^+ :

- Chlorure d' NH_4^+ : **0.297g**
- E.D : qsp **1000 mL**

☞ Solution fille étalon à 0.001g/L d'ammonium

- Solution mère : **1 mL**.
- E.D : qsp **100 mL**.

Etablissement de la courbe d'étalonnage:

Dans une série de fioles jaugées de 100 mL, préparer une série de dilution :

Tableau 2 : Gamme étalon des ions ammoniums.

Gamme d'étalonnage de 0,05 à 1 mg de NH ₄ ⁺ /L	
V(solution à 1mg/L)/mL	[NH ₄ ⁺] en mg /L
5	0,05
10	0.1
25	0.25
50	0.5
75	0.75
100	1

- ✓ Compléter le volume à 100 mL et homogénéiser,
- ✓ Prélever 20 mL de chacune des solutions obtenues et les introduire dans une série de 6 tubes à essai,
- ✓ Ajouter dans l'ordre et sans attendre entre chaque ajout :
 - 1 mL de la solution de nitroprussiate de sodium et de phénol,
 - 1 mL de la solution chlorée,
- ✓ Agiter et placer les fioles à l'obscurité pendant 6 h,
- ✓ Effectuer les lectures au spectrophotomètre à une longueur d'onde de **630 nm** et tracer la courbe d'étalonnage.

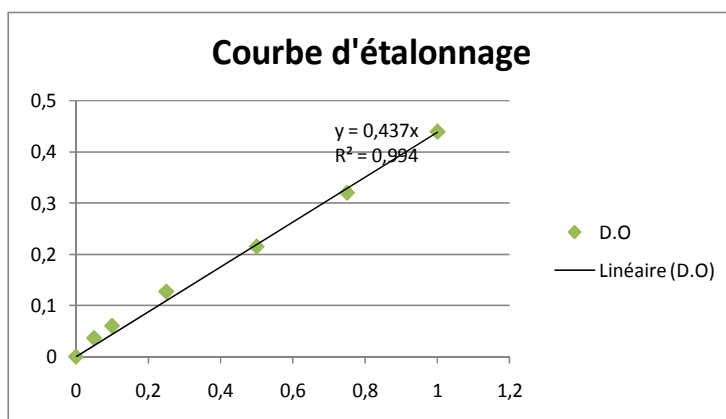


Figure 5: Courbe d'étalonnage (dosage des ions ammoniums).

La courbe ci-dessus présente la variation de la densité optique (D.O) en fonction de la concentration en ion NH₄⁺ des solutions étalons. C'est une droite linéaire passant par l'origine de pente **a = 0,437** et un bon coefficient de corrélation : **R² = 99,4%**. Ces paramètres nous renseignent sur le bon étalonnage de notre spectrophotomètre, et ainsi les résultats obtenus seront bien corrélés.

Remarque : Des erreurs aléatoires, dues à une mauvaise préparation des solutions étalons ou à mauvais fonctionnement de l'appareil, entraînent l'apparition de quelques points à l'extérieur de la droite (points aberrants). Dans ce cas, on fait appel à la méthode de régression linéaire qui consiste à tracer la droite en la faisant passer par le maximum de points.

Analyse de l'échantillon :

- ✓ Prendre 20ml de l'eau à analyser,
- ✓ Ajouter 1ml de solution de nitroprussiate de sodium et de phénol,
- ✓ Ajouter 1ml de la solution chlorée,
- ✓ Agiter et placer à l'obscurité pendant 6 h au moins,
- ✓ Effectuer la lecture au spectrophotomètre à **630 nm**.

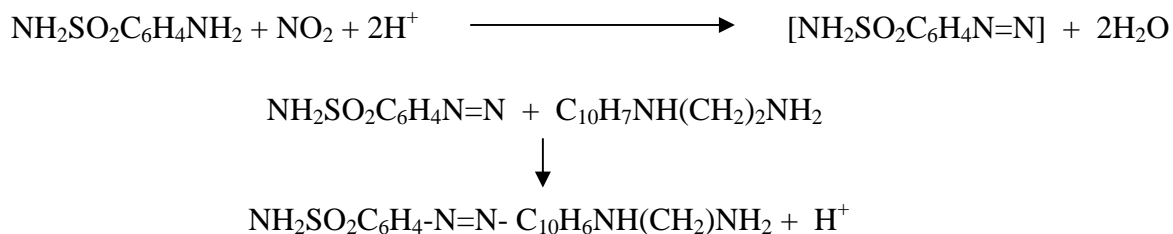
Expression des résultats :

Pour une prise d'essai de 20 mL, la courbe donne directement la teneur en ions NH_4^+ exprimée en mg/L.

c) Dosage des ions nitrites NO_2^-

Principe :

La diazotation du 4-aminobenzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le dichlorure de 1-N-(naphtyl-1,2-diaminoéthane), donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrométrique [4].



Réactifs :

↳ Réactif de diazotation

- 4-aminobenzènesulfonamide (sulfanilamide) : 40 g
- Dichlorure de 1-N-(naphtyl-1,2-diaminoéthane): 2 g

- Acide orthophorique (d = 1,70): 100 mL
- E.D (qsp): 1000 mL

✓ Mélanger dans un bécher de 1 L, environ 800 mL d'eau déionisée et 100 mL d'acide orthophosphorique

- ✓ Ajouter le 4-aminobenzènesulfonamide,
- ✓ Après dissolution, ajouter le dichlorure de 1-N-(naphtyl-1,2-diaminoéthane),
- ✓ Agiter jusqu'à dissolution complète,
- ✓ Transverser la solution dans une fiole jaugée de 1000 mL,
- ✓ Ajuster le volume avec de l'eau déionisée et mélanger.

***NB : Conserver cette solution dans un flacon en verre brun
Cette solution est stable un mois au réfrigérateur***

☞ **Solution mère étalon d'ion nitrite NO_2^- à 100 mg /L :**

- Nitrate de sodium : 150 mg
- ED (qsp) : 1000 mL

☞ **Solution fille étalon d'ion NO_2^- à 1 mg/L :**

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire 1 mL de la solution mère et compléter à 100 mL avec de l'eau déionisée .

Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Introduire dans une série de fioles jaugée de 50 mL :

Tableau 3 : Gamme étalon des ions nitrites.

N° de fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon de NO_2^- à 1 mg/L	0	1	2,5	5	7,5	10
E.D en mL	50	49	47,5	45	42,5	40
Réactif de diazotation (mL)	0	0,02	0,05	0,1	0,15	0,2

Effectuer la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde de **543 nm**. Construire la courbe d'étalonnage.

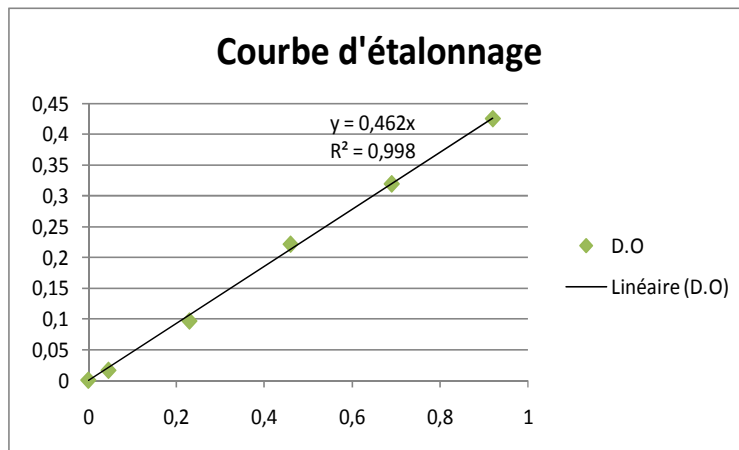


Figure 6: Courbe d'étalonnage (dosage des ions nitrites).

Analyse de l'échantillon :

- ✓ Introduire 50 mL de l'eau à analyser dans une fiole jaugée,
- ✓ Ajouter 1 mL du réactif de diazotation,

Expression des résultats :

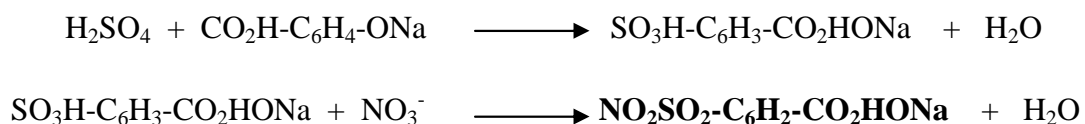
La courbe d'étalonnage donne directement la teneur en ions nitrites (NO_2^-) exprimée en milligramme par litre d'eau.

NB : La limite de détection est située entre 0,003 et 0,006 mg/L de NO_2^- .
La coloration est stable pendant 2 heures et la courbe d'étalonnage peut être établie jusqu'à 1 mg/L de NO_2^- .

d) Dosage des ions Nitrates NO_3^-

Principe :

En présence de l'acide sulfosalicylique (formé par réaction entre le salicylate de sodium ($\text{CO}_2\text{H-C}_6\text{H}_4\text{-ONa}$) et l'acide sulfurique), les nitrates donnent en présence d'un alcali, un complexe stable coloré en jaune appelé **paranitrosalicylate de sodium**, susceptible d'un dosage spectrophotométrique à la longueur d'onde λ voisine de **415 nm**. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



Réactifs :

☞ **Solution de salicylate de sodium**

☞ **Acide sulfurique (d= 1.84),**

☞ **Solution de l'alcali**

- Hydroxyde de sodium (NaOH) : 200g,
- EDTA : 50 g,
- ED (qsp) : 1000 mL,
- ✓ Faire dissoudre les NaOH dans environ 800 mL de l'eau,
- ✓ Ajouter l'EDTA, agiter jusqu'à dissolution complète,
- ✓ Laisser refroidir et compléter à 1000 ml (à conserver dans un flacon de polyéthylène).

☞ **Solution d'azoture de sodium(NaN₃) à 0,5 g/L**

- Azoture de sodium : 50 mg,
- ED (qsp) : 100 mL.

☞ **Solution mère étalon d'Azote nitrique à 0.1 g/L**

- Nitrate de potassium anhydre (KNO₃) : 0.722g,
- E.D (qsp) : 1000 mL,
- Chloroforme pour conserver : 1 mL.

☞ **Solution fille étalon d'Azote nitrique à 5 mg/L**

- Solution mère : 50 mL,
- E.D : (qsp) 1000 mL.

Courbe d'étalonnage et dosage :

Dans une série de capsules de 60 mL introduire successivement :

Tableau 4 : Gamme étalon des ions nitrates.

N° des tubes	T	I	II	III	IV
Solution fille étalon de nitrate en ml à 5 mg/L	0	1	2	5	10
E.D en mL	10	9	8	5	0
Correspondance en azote nitrique (mg/L)	0	0,5	1	2,5	5
Azoture de sodium en mL	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide acétique en mL	0,2	0.2	0,2	0.2	0,2

- ✓ Attendre 5 min, puis évaporer à sec au bain marie ou dans une étuve portée

entre 75-80 °C (ne pas surchauffer ni chauffer trop longtemps). Laisser refroidir,

- ✓ Ajouter 1 mL de salicylate de Sodium,
- ✓ Reprendre le résidu par 2 ml d'acide sulfurique concentré tout en ayant pris soin de l'humecter complètement,
- ✓ Attendre 10 min et ajouter 15 mL d'eau distillée, puis 15 mL de l'alcali qui développe la coloration jaune,
- ✓ Effectuer la lecture au spectrophotomètre $\lambda = 415 \text{ nm}$.
- ✓ Soustraire les densités optiques (D.O) lues par les étalons. La valeur relevée est celle par le témoin,
- ✓ Construire la courbe d'étalonnage.

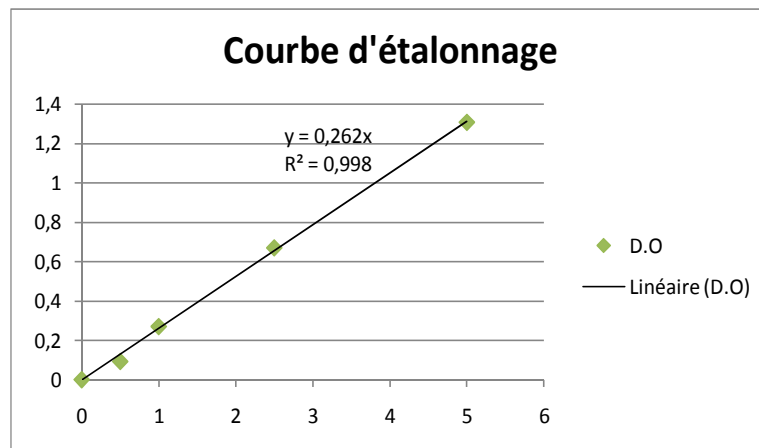


Figure 7: Courbe d'étalonnage (dosage des ions nitrates).

Analyse de l'échantillon :

- ✓ Prendre 10 mL de l'eau à analyser,
- ✓ Procéder de la même façon que l'étalon (l'ajout de 0,5 d'azote de sodium + 0,2 d'acide acétique).

Expression des résultats :

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe d'étalonnage donne directement la teneur en azote nitrique en mg/L.

Pour obtenir la teneur en nitrate NO_3^- on multiplie la valeur obtenue par un facteur de **4,43**.

II. Analyses bactériologiques

Une eau potable, selon les normes, doit être exempte de germes pathogènes et d'organismes parasites, car les risques sanitaires liés à ces micro-organismes sont grands. C'est pour cela les analyses bactériologiques sont nécessaires pour définir sa valeur hygiénique.

Les principaux germes pathogènes qu'on doit détecter en analysant une eau sont:

- **Germes totaux** : Ce sont des micro-organismes aérobies représentant la teneur moyenne en bactéries d'une source naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.
- **Coliformes totaux** : ce sont des bactéries capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz à la température de 37 °C. Ils peuvent exister dans les matières fécales et dans certains milieux naturels (sol et végétation).
- **Coliformes fécaux** : Ou coliformes thermotolérants, qui sont des bactéries capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *l'Escherichia Coli (E. Coli)* [5].
- **Streptocoques fécaux** : c'est un groupe de streptocoques qui ne sont pas tous d'origine fécale (groupe D) [6]. Toutefois, leur recherche associée à celle des coliformes fécaux constitue un bon indice de contamination fécale.

II.1. Milieux de cultures

a) Gélose nutritive

➤ Principe :

Consiste à dénombrer le nombre des micro-organismes qui peuvent exister dans l'eau potable, par ensemencement en profondeur et incubation à 37 °C, pendant 48 heures.

➤ Préparation :

Dans un litre d'eau distillée, on met 23g du milieu sec, on mélange soigneusement avant de le chauffer doucement tout en agitant, ensuite on le laisse bouillir pendant 2 min puis on le stérilise dans l'autoclave pendant 15 min et enfin on le distribue dans des tubes.

➤ **Lecture :**

Certaines colonies peuvent avoir des couleurs caractéristiques généralement jaunes.



Figure 8: Prolifération des germes totaux

b) Endo

➤ **Principe :**

C'est un milieu solide utilisé pour l'isolement des coliformes et des cultures entérobactériennes, les germes *Gram*⁺ sont inhibés par le sulfite de sodium et par la fuschine basique.

➤ **Préparation :**

Dissoudre 41,5g du milieu sec dans un litre d'eau distillée puis chauffer jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène, ensuite stériliser à l'autoclave pendant 15 min à la température de 120 °C.

Faire couler le milieu obtenu dans des boites de pétri.

➤ **Lecture :**

- Bactéries lactose positives (coliformes) : colonies rouges présentant souvent un éclat métallique.
- Bactéries lactose négatives : colonies incolores.



Figure 9: Prolifération des coliformes totaux.

c) Tergitol-7-agar au TTc

➤ Principe :

C'est un milieu sélectif des coliformes fécaux dans l'eau de boissons. Le TTc montre le pouvoir réducteur des bactéries, inhibe les *Gram*⁺ et favorise la croissance des *Gram*⁻.

➤ Préparation :

Dans 1 litre d'eau distillée on met 56.2g de poudre, après dissolution totale on stérilise le milieu pendant 15 min à l'autoclave à la température de 150 °C.

Après avoir ajouté 5 mL de TTc, on distribue le mélange dans les boites de pétri.

➤ Lecture :

- Les bactéries coliformes donnent une couleur jaune,
- Les bactéries lactose (-) donnent une couleur rouge avec un halo bleu.

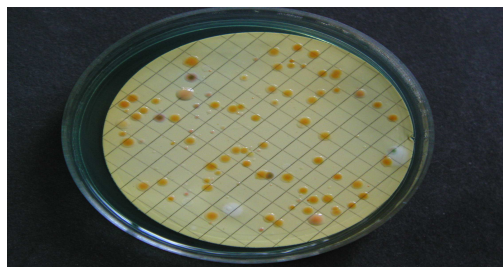


Figure 10: Prolifération des coliformes fécaux

d) Gélose de Slanetz

➤ Principe :

La gélose de Slanetz est un milieu solide qui permet la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux. Son emploi est surtout réservé aux eaux, après filtration.

➤ Préparation :

Dissoudre 42g dans un litre d'eau distillée, chauffer avec précaution en agitant fréquemment jusqu'à dissolution complète.

Laisser refroidir entre 45-50 °C, puis répartir directement en boites de pétri.

➤ Lecture :

Toutes les colonies roses ou rouges foncées (parfois presque marron) sont considérées comme des colonies de streptocoques fécaux.

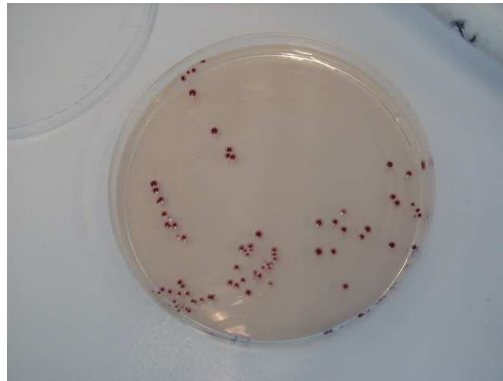


Figure 11: Prolifération des streptocoques.

II.2. Dénombrement des micro-organismes

a) Germes totaux

➤ Principe :

Le dénombrement de micro-organismes pouvant exister dans l'eau potable est effectué par la technique d'ensemencement en profondeur (le volume de l'échantillon à analyser est versé avant l'écoulement du milieu de culture).

➤ Mode opératoire :

- Stériliser les cônes et l'eau distillée,
- Marquer sur deux boites de pétri, dont l'une est à 37°C et l'autre à 22 °C,
- Pipeter 1 mL de l'échantillon dans une boite de pétri,
- Ajouter sur l'échantillon un volume suffisant de la gélose,
- Agiter le milieu et l'eau à analysé,
- Laisser refroidir pour se solidifier.

NB : Procéder de la même façon pour l'eau distillée afin d'assurer la stérilisation du matériel utilisé.

➤ Incubation :

L'incubation de l'une des boites se fait à la température de 22 °C et l'autre à 37 °C pendant un temps de 48h.

b) Coliformes totaux

➤ **Principe :**

Le dénombrement des coliformes se fait par la méthode des membranes filtrantes (Figure 9) qui consiste à filtrer un volume de 100 mL d'échantillon à analyser sur une membrane filtrante de nature cellulosique [7]. Cette dernière est déposée sur la gélose d'Endo. Chaque bactérie retenue sur la membrane donne naissance à des colonies qui sont ensuite dénombrées. Grâce à cette méthode, le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon, peuvent être déterminées.



Figure 12 : Méthode des membranes filtrantes.

➤ **Mode opératoire :**

- Emballer tout le matériel utilisé et le stériliser dans l'autoclave pendant 15 minutes (flacons de prélèvement, pipettes, cônes et matériel de filtration),
- Faire sortir le matériel de l'autoclave,
- Flamber la plaque poreuse,
- Prélever une membrane et la déposer sur la plaque poreuse d'une pince stérile
- Agiter soigneusement le flacon d'eau à analyser et verser l'eau dans le réservoir jusqu'au repère 100mL,
- Ouvrir le robinet du support,
- Mettre en marche la pompe à vide,
- Fermer le robinet dès que la membrane paraît sèche,
- Enlever le dispositif de fixation,
- Et en fin prélever la membrane et l'introduire sur le milieu de culture.

NB : Procéder de la même façon pour l'eau distillée afin d'assurer la stérilisation du matériel utilisé.

➤ **Incubation :**

L'incubation des coliformes se fait dans les boîtes contenant l'Endo à la température de 37 °C pendant 48 heures.

c) Coliformes Fécaux :

On procède de la même manière que les coliformes totaux sauf qu'on remplace le milieu Endo-C par Tergitol-7-agar au TTC et on incube à 44 °C entre 24-48h.

d) Streptocoques :

On procède de la même manière que les coliformes sauf qu'on travaille avec une gélose Slanetz à 37 °C pendant 48 h.

Conclusion :

Dans ce chapitre nous avons développé les méthodes et les techniques appliquées au laboratoire QEE nécessaires pour la détermination des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des eaux traitées le long du mois de **Mai**.

Introduction :

Les analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées le long du mois de **mai** sur les 9 secteurs soit pour l'analyse des échantillons de **type I** ou pour les échantillons de **type II**, sont regroupés successivement dans les tableaux 5 et 6.

Les valeurs indiquées sont la moyenne des valeurs trouvées pour l'ensemble des points du prélèvement constituant chaque secteur.

I. Analyses des échantillons de type I :

I.1. Résultats :

Les résultats d'analyses physico-chimiques et bactériologiques concernant les échantillons de type I sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Résultats d'analyse des échantillons de type I.

Date	Secteur	Analyses physico-chimiques			Analyses bactériologiques			
		T °C	pH	Turbidité (UTN)	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Germes 22 °C	Germes 37 °C
02/05	I	20	7,63	0,179	0	0	0	0
	II	23	7.89	0.175	0	0	0	0
09/05	III	22	7.9	0.143	0	0	0	0
	IV	23	7.8	0.329	0	0	0	0
16/05	V	24	7.95	0.322	0	0	0	0
24/05	VI	23	7.94	0.253	0	0	0	0
	VII	23	8.01	0.185	0	0	0	0
	VIII	24	7.82	0.226	0	0	0	0
	IX	26	7.77	0.164	0	0	0	0

VMA	acceptable	$6.5 \leq \text{pH} < 8.5$	5 (UTN)	0/100 mL	0/100 mL	0/100 mL	0/100 mL
------------	------------	----------------------------	---------	----------	----------	----------	----------

b) Interprétations :

Pour le paramètre de température, les valeurs marquées varient entre 20 et 26 °C, et ce sont des valeurs normales de point de vue réglementaire.

En règle générale, une eau minéralisée possède souvent un pH élevé et stable ; C'est ce qu'on a observé dans les résultats obtenues au niveau du secteur VII qui à un pH=8,01.

En ce qui concerne la turbidité, les eaux traitées sont considérées douces (absence de la matière en suspension), car les valeurs obtenues sont très faibles.

De point de vue bactériologique, l'eau traitée au niveau de différents secteurs, ne contient aucune substance microbiologique.

I.2. Analyses des échantillons de type II

a) Résultats :

Dans ce cas, nous avons effectué les différentes analyses physico-chimiques et bactériologiques de types II sur les mêmes secteurs traités pour les analyses de type I, sauf qu'on remplace le **secteur II** par le **secteur X**. Les résultats sont consignés au tableau 6 représenté dans la page suivante.

Tableau 6 : Résultats d'analyse des échantillons de type II.

Date	Secteur	Analyses physico- chimiques					Analyses bactériologiques			
		Conductivité ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	NH_4^+ (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	Oxydabilité ($\text{mg d'O}_2/\text{L}$)	C.T	C. F	Germes 22 °C	Germes 37 °C
02/05	I	1070	0.005	7.6	0.004	3.35	0	0	0	0
	X	1085	0.01	7.26	0.001	3.01	0	0	0	0
	III	822	0.014	9.66	0.001	0.768	0	0	0	0

09/05	IV	1109	0.007	5.92	0.001	0.576	0	0	0	0
16/05	V	673	0.019	12.87	0.001	1.618	0	0	0	0
24/05	VI	595	0.074	31.75	0.001	1.248	0	0	0	0
	VII	501	0.029	16.81	0.001	1.504	0	0	0	0
	VIII	874	0.014	53	0.001	1.138	0	0	0	0
	IX	803	0.012	5.79	0.001	1.184	0	0	0	0

VMA	2700 ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0,5 (mg/L)	50 (mg/L)	0,1 (mg/L)	5 ($\text{mg d}'\text{O}_2/\text{L}$)	0/100 mL	0/100 mL	0/100 mL	0/100 mL
-----	-------------------------------------	---------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	--	----------	----------	----------	----------

b) Interprétations :

Au niveau du **secteur IV**, la valeur de la conductivité détectée est égale à 1109 ($\mu\text{s}/\text{cm}$), et c'est une valeur importante montrant la richesse de l'eau de ce secteur quantifiée en sels dissous comme le sulfate, le calcium, le sodium..., pour les autres secteurs les valeurs conforment aux normes.

Selon la NM, les teneurs en éléments azotés tels que les ions : NH_4^+ , NO_3^- et NO_2^- ne présentent aucune quantité nocive pour la santé, à l'exception du **secteur VIII** qui présente une teneur en ion nitrate de 53 mg/L qui est une valeur légèrement supérieure à celle fixée par la norme (50 mg/L). Ceci peut être lié aux activités humaines (utilisation des fertilisants synthétiques associés aux cultures et à l'élevage intensif), ou à la décomposition de la matière organique.

Les valeurs de l'oxydabilité mentionnées dans le tableau ci-dessus sont faibles, et ceci peut être dû au rabattement des matières organiques dans les traitées.

Pour le dénombrement des bactéries, les résultats ont montré que l'eau distribuée ne contient aucune substance microbologique.

Conclusion :

Le contrôle de qualité et les analyses physico-chimiques et bactériologiques appliqués sur les 10 réservoirs sont conformes 100 % aux normes (annexe II), à l'exception du réservoir VIII qui présente une teneur en ion nitrate légèrement supérieur à celle fixée par la norme NM.

Donc les méthodes analytiques effectuées pour la détermination des paramètres physico-chimiques et bactériologiques, correspondent à celles indiquées dans les normes.

Et enfin pour conclure, le contrôle de qualité des eaux au sein du laboratoire QEE, montre que l'eau distribuée à la ville de Fès est de bonne qualité.

La vie active (professionnelle) n'est pas identique à la vie estudiantine, c'est un autre univers dans lequel la personne doit avoir une conscience professionnelle. Il permet en dépit de toutes les difficultés de réaliser et d'assurer les responsabilités qui nous seront confiées avec le maximum de perfection et de dévouement souhaitable.

En effet, cela s'est fait ressentir depuis les premiers jours dans le laboratoire grâce à son personnel compétant qui nous a procuré un climat de travail aussi sérieux qu'agréable durant toute la durée du stage.

Le travail que nous avons effectué au sein du laboratoire QEE, nous a permis de comprendre les différents types de travaux et analyses physico-chimiques et bactériologiques nécessaire pour la qualité d'eau et surtout d'élargir nos connaissances dans le domaine des techniques d'analyses et contrôle qualité.