



Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté de Technologie

Département des Mines et géologie

Memoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Mines

Option : Valorisation des Ressources Minérales

Présenté par

M KHAL Amenay

M^{elle} BACHIRI Hassiba

Thème

Contribution à l'étude de la biolixiviation de l'or par voie bactérienne (Test de laboratoire)

Soutenu le / 06 /2016 devant le jury composé de:

Présidente: M^{me} BOULEKBACHE: MCA à l'UAMB

Promoteur: M AKDIM: MAA à l'UAMB

Co-promoteur 1: M^{me} SOUCI: MCA à l'UAMB

Co-promotrice 2: M^{me} OUSSAID Saliha: MAA à l'UMMTO

Examineur: M^{me} BOUZIDI: MCA à l'UAMB

Invitée: M^{me} YALAOUI Drifa: Enseignante chercheur à l'UAMB

Année Universitaire: 2015-2016

Dédicaces

A mes très chers parents

Dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Quisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon frère et ma sœur

Pour leur amour et leur incontestable appui

A toute ma famille.

Je dédie ce travail à toutes les personnes chères à mon cœur. Qu'elles trouvent ici l'expression de toute ma gratitude et mon amour.

A tous mes amis

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présents. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

Khial Amenay

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes tendres et chaleureux parents qui ont tant donné
pour me voir réussir, que Dieu les protèges et les gardes
aussi très longtemps.*

A mon très cher frère Houcine.

A la mémoire de mon cher grand-père.

A mes très chers grands-parents.

A mes tantes et leurs époux.

A mes oncles et leurs femmes.

A mes cousins et mes cousines.

A tous mes chers amis (es).

A tous ceux qui me connaissent et me sont chers.

*Enfin, dernier mais pas le moindre et spécialement à mes
deux cousins*

Nada et Abd Eldjalil.

HASSIBA.B

Remerciements

Ont rends grâce à Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour effectuer ce modeste travail.

Ont remercié sincèrement notre promoteur M A.AKDIM et notre co-promotrice M^{me} Z.SOUICI qui ont été, malgré leurs multiples responsabilités, à chaque instant, non seulement des guides sur le plan scientifique mais aussi des exemples et des modèles sur le plan humain. Qu'ils trouvent en ces mots nos sentiments de profonde gratitude et de toute notre admiration et reconnaissance.

Ont voudrais remercier M^{me} BOULEKBACHE et M^{me} N.BOUZIDI qui ont accepté de faire partie du jury pour l'examen de ce mémoire de fin d'étude.

Ont tiens à exprimer notre gratitude à Mr K.MADANI, de nous avoir accueilli dans son laboratoire, nous avons eu le privilège d'apprécier vos qualités scientifiques et humaines, vos conseils et vos intérêt pour nos travaux nous ont encouragé et ont été pour nous d'une aide inestimable, ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

Ont tiens aussi à remercier chaleureusement les membres du laboratoire 3BS M^{me} S.OUSSAID et M^{me} D.YALAOUI, pour leur encadrement quotidien.

Il nous est aussi précieux de souligner et de remercier l'aide offerte par l'organisme d'accueil de la mine d'Amesmassa et M GHAZALI, pour leur assistance au cours de notre stage pratique.

Ont est reconnaissant à M DAOUDI pour la réalisation des analyses au laboratoire de l'ORGM, mais aussi pour sa sympathie.

La passion et le plaisir que nous avons eu au cours de nos cinq ans passés à l'université résultent d'une atmosphère amicale, d'un encadrement idéal et d'un enseignement de qualité.

De sincères remerciements à tous les membres de notre département.

Ont tiens à remercier tous nos camarades et amis qui nous ont témoigné leur compréhension et leur soutien dans la réalisation de ce modeste travail. Soyez rassurés de notre reconnaissance et de notre gratitude.

En fin, que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail qu'ils trouvent ici nos vifs remerciements.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction..... 3

I.1. Présentation de la zone d'étude..... 3

 I.1.1. Cadre géographique 3

 I.1.2. Cadre géologique..... 4

 I.1.2.1. La géologie régionale 4

 a. Le Hoggar oriental 5

 b. Le Hoggar central 6

 c. Le Hoggar occidental 6

 I.1.2.2. La géologie du gisement 6

 I.1.3. Mode de formation..... 7

 I.1.4. La minéralisation du gisement..... 7

 I.1.5. Exploitation minière du gisement 8

I.2. Présentation d'or 8

 I.2.1. Minerai d'or 8

 I.2.1.1. Pyrite..... 8

 I.2.1.2. Galène..... 8

 I.2.2. L'or métal 9

 I.2.2.1. Propriétés physiques et chimiques de l'or métal 9

 I.2.2.2. Propriétés mécaniques..... 10

 I.2.2.3. Conduction thermique et électrique..... 10

I.3. Procédés de traitement du minerai aurifère 10

 I.3.1. Méthode gravimétrique..... 10

 I.3.2. La flottation..... 11

 I.3.3. L'amalgamation..... 11

 I.3.4. La pyrométallurgie 12

 I.3.5. L'hydrométallurgie 13

 I.3.5.1. Préparation mécanique du minerai aurifère..... 13

 I.3.5.2. Cyanuration 14

| | |
|--|----|
| a. Lixiviation en cuve | 14 |
| b. Lixiviation en tas | 15 |
| I.3.5.3. Adsorption sur charbon actif | 15 |
| I.3.5.4. L'électrolyse..... | 16 |
| I.3.5.5. Autres réactifs de lixiviation d'or..... | 17 |
| I.3.5.6. Avantages et inconvénients de l'hydrométallurgie | 17 |
| I.3.6. Biohydrométallurgie | 17 |
| I.3.6.1. Microorganismes responsable de la biolixiviation..... | 18 |
| I.3.6.2. Les bactéries | 18 |
| a. Bactéries oxydant les métaux..... | 19 |
| a.1. <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> | 19 |
| a.2. <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> | 21 |
| a.3. <i>Thiobacillus THX</i> | 21 |
| a.4. <i>Thiobacillus intermedius</i> | 21 |
| a.5. <i>Les sulfolobus</i> | 22 |
| b. Bactéries productrices d'acide sulfurique | 22 |
| b.1. <i>Thiobacillus albertis</i> | 22 |
| b.2. <i>Thiobacillus thiooxidans</i> | 22 |
| c. Les microorganismes hétérotrophes..... | 23 |
| I.3.6.3. Cinétique de croissance microbienne..... | 23 |
| I.3.6.4. Mécanismes impliqués dans les processus de biolixiviation | 24 |
| a. Mécanisme direct..... | 25 |
| b. Mécanisme indirect | 26 |
| I.3.6.5. Paramètres influençant la biolixiviation | 27 |
| a. pH..... | 27 |
| b. Température | 27 |
| c. Effet de l'oxygène dissous..... | 28 |
| d. Métaux lourds | 28 |
| e. Effet des éléments nutritifs..... | 28 |
| I.3.6.6. Applications des procédés de biolixiviation à l'échelle industrielle..... | 28 |
| a. Procédés statiques | 29 |
| a.1. Biolixiviation in situ | 29 |
| a.2. Biolixiviation en tas | 29 |
| b. Procédés dynamiques (en cuve) | 30 |

Conclusion 30

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

Introduction..... 31

II.1. Matériels de travail 31

 II.1.1. Equipements d’analyse..... 31

 II.1.1.1. Spectroscopie par Diffraction des Rayons X 31

 II.1.1.2. Spectroscopie Infrarouge 33

 II.1.1.3. Microscopie Electronique à Balayage 34

 II.1.1.4. Spectrophotométrie Ultra-Violet Visible 35

 II.1.2. Instruments de manipulation microbiologique 36

 II.1.2.1. Autoclave..... 36

 II.1.2.2. Incubateur 36

 II.1.2.3. Pipette pasteur 36

 II.1.2.4. Bec bunsen 37

 II.1.2.5. Boite de pétri..... 37

II.2. Démarche expérimentale..... 37

 II.2.1. Origine de l’échantillon 37

 II.2.2. Préparation mécanique de l’échantillon..... 37

 II.2.3. Caractérisation de l’échantillon brut 38

 II.2.4. Origine de la bactérie 38

 II.2.5. Préparation de la zone stérile..... 38

 II.2.6. Culture en milieu solide 39

 II.2.6.1. Préparation du milieu d’entretien 39

 II.2.6.2. Enrichissement de la souche bactérienne..... 40

 II.2.6.3. Isolement et ensemencement 40

 II.2.6.4. Purification..... 41

 II.2.7. Culture en milieu liquide 41

 II.2.7.1. Enrichissement..... 41

 II.2.7.2. Isolement et purification..... 42

 II.2.8. Essai de la lixiviation..... 43

 II.2.8.1. En système statique..... 43

 II.2.8.2. En système dynamique 43

 II.2.9. Dosage du fer ferreux 44

| | |
|--|----|
| II.2.10. Caractérisation de l'échantillon après biolixiviation | 44 |
| Conclusion | 44 |

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

| | |
|---|----|
| Introduction..... | 46 |
| III.1. Caractérisation du minerai | 46 |
| III.1.1. Analyse minéralogique par diffraction des rayons X | 46 |
| III.1.2. Analyse par spectrométrie FTIR | 48 |
| III.1.3. Observations microscopiques | 49 |
| III.2. Influence de la composition du milieu sur les bactéries | 50 |
| III.3.Observations de l'adhésion bactérienne sur les grains de sulfures..... | 52 |
| III.4. Caractérisation du minerai après biolixiviation..... | 53 |
| III.4.1. Analyse minéralogique par diffraction des rayons X | 53 |
| III.4.2. Analyse par spectroscopie Infrarouge..... | 55 |
| III.4.3.Visualisation au microscope électronique de l'attaque bactérienne des sulfures | 57 |
| III.5. Dosage du fer ferreux au cours de la biolixiviation | 61 |
| Conclusion | 63 |

CONCLUSION GENERALE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

ENOR: Entreprise National D'exploitation Des Mines D'or.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

ATP: Adénosine-triphosphate.

ADP: Adénosine diphosphate.

CFC: Structure Cubique à faces centrés.

d: La densité.

pH: Potentiel hydrogène.

Ma: Million d'année.

IB: Troisième élément du premier groupe secondaire du tableau périodique.

CIL: Carbon-In-Leach.

CIP: Carbon-In-Pulp.

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

h k l: Indice de Miller.

KBr: Bromure de potassium.

Torr: Unité de mesure de pression qui équivaut à la hauteur de 1 mm de mercure.

BHIB: Brain Heart Infusion Broth.

rpm: rotations par minute.

3BS: Laboratoire de biochimie, biophysique, biomathématiques et scientométrie.

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|---|----|
| Figure I.1: Situation géographique de la mine d'Amesmassa | 4 |
| Figure I.2: Carte des principaux domaines structuraux du Hoggar: subdivision classique d'après Caby 1981 | 5 |
| Figure I.3: Faille d'IN- OUZZAL..... | 7 |
| Figure I.4: Station de la préparation mécanique du minerai aurifère..... | 13 |
| Figure I.5: Cuves de lixiviation au niveau de la mine d'Amesmassa..... | 14 |
| Figure I.6: Tas de lixiviation du minerai aurifère de la mine d'Amesmassa..... | 15 |
| Figure I.7: Colonnes de charbon. | 16 |
| Figure I.8: Cellule d'électrolyse | 16 |
| Figure I.9: Structure d'une cellule bactérienne..... | 19 |
| Figure I.10: Courbe de croissance microbienne dans une culture mode cuvée (non renouvelé) | 24 |
| Figure I.11: Chaîne énergétique bactérienne; Construit d'après Kelly et Prescott..... | 26 |
| Figure I.12: Mécanisme directe et indirect (Crundwell, 2003) | 27 |

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

| | |
|--|----|
| Figure II.1: Principe de fonctionnement d'un diffractomètre de Rayons X..... | 32 |
| Figure II.2: Principales composants de l'appareil du DRX..... | 32 |
| Figure II.3: Principe de fonctionnement d'un spectromètre FT-IR | 34 |
| Figure II.4: Principe de fonctionnement d'un microscope électronique à balayage | 35 |
| Figure II.5: Spectrophotomètre à Ultra-Violet Visible..... | 36 |
| Figure II.6: Pipette pasteur | 37 |
| Figure II.7: Stérilisation de la zone de travail..... | 38 |
| Figure II.8: Milieu de culture solide coulé dans une boîte de pétrie | 39 |
| Figure II.9: Ensemencement dans une boîte de pétrie sous forme de stries | 40 |
| Figure II.10: Ajustement du pH dans le milieu 9k | 42 |
| Figure II.11: Dernière dilution de la suspension bactérienne dans le milieu 9K..... | 42 |

Figure II.12: Biolixiviation en système dynamique dans une étuve réglé à 120 rpm..... 43

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

Figure III.1: Diffractogramme DRX du minerai brut..... 47

Figure III.2: Diffractogramme DRX par numéro de pics des constituants 47

Figure III.3: Spectre infrarouge du minerai brut 49

Figure III.4: Observation microscopique à balayage de l'échantillon brut 50

Figure III.5: Colonies bactériennes obtenue après 03 semaines d'incubation 50

Figure III.6: Changement de la couleur du milieu sulfate de fer après 5 jours d'incubation. 51

Figure III.7: Image MEB montrant des bactéries fixées sur les grains de sulfures après 5 jours de biolixiviation en système statique 52

Figure III.8: Diffractogramme RX du minerai après biolixiviation en système dynamique. 53

Figure III.9: Diffractogramme RX du minerai après biolixiviation en système statique..... 54

Figure III.10: Spectre infrarouge du minerai après biolixiviation en système dynamique 56

Figure III.11: Spectre infrarouge du minerai après biolixiviation en système statique..... 56

Figure III.12: Observation microscopique à balayage électronique des particules avant biolixiviation 58

Figure III.13: Observation microscopique à balayage électronique des particules après biolixiviation en système dynamique 58

Figure III.14: Observation microscopique à balayage électronique des particules après biolixiviation en système dynamique 58

Figure III.15: Observation microscopique à balayage électronique montrant l'absence des pores sur l'échantillon brut. 59

Figure III.16: Observation microscopique à balayage électronique montrant le développement des pores en système dynamique. 60

Figure III.17: Observation microscopique à balayage électronique montrant le développement des pores en système statique 60

Figure III.18: Détermination des ions Fe^{2+} par la méthode à la phénantroline..... 61

Figure III.19: Variation de l'absorbance du fer au cours de la biolixiviation 62

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|---|----|
| Tableau I.1: Caractéristiques physiques et chimiques de l'or..... | 9 |
| Tableau I.2: Concentrations maximales d'ions métalliques auxquelles résiste <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> | 20 |

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

| | |
|---|----|
| Tableau II.1: Constituants du milieu solide..... | 39 |
| Tableau II.2: Composition du milieu (9K) à base de sulfate de fer..... | 41 |

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

| | |
|---|----|
| Tableau III.1: Composition minéralogique par DRX du minerai brut..... | 48 |
| Tableau III.2: Bandes caractéristiques des espèces minéralogique observé | 48 |
| Tableau III.3: Bandes caractéristiques des espèces minéralogiques observées en système dynamique | 55 |
| Tableau III.4: Bandes caractéristiques des espèces minéralogiques observées en système statique | 55 |
| Tableau III.5: Mesure de l'absorbance du fer au cours de la biolixiviation..... | 62 |

INTRODUCTION GENERALE

L'Algérie occupe la 21^{ème} place au classement mondial des pays détenteurs des réserves officielles en or, selon le rapport publié par l'ENOR. Les gisements aurifères les plus importants en Algérie sont ceux d'Amesmessa et Tirek.

L'or est l'un des métaux les plus rares sur terre, son importance est connue depuis l'antiquité. C'est un métal précieux relativement exceptionnel, ductile, malléable avec un aspect esthétique singulier. Il trouve des applications diverses dans les industries de haute technologie et les applications médicales, en raison de ces propriétés physiques et chimiques jugées uniques. Au cours des quatre dernières décennies, des quantités considérables d'or ont été utilisés par les industries électriques et électroniques en vue de son excellente conductivité électrique et sa résistance exceptionnelle à la corrosion.

En raison de l'augmentation de la demande en or dans l'industrie des nanotechnologies, l'exploration des dépôts de ce métal noble dans le milieu naturel est devenue très importante. Ainsi le processus d'extraction n'a de sens que si le coût de récupération est inférieur à la valeur du métal précieux.

La découverte marquant le domaine de l'extraction de l'or est certainement la solubilité de ce métal dans une solution de cyanure de sodium faite par Elsner en 1846 (W. McQuiston, 1973). Avant cette découverte, l'or était récupéré par gravimétrie, une méthode qui ne permettait pas de récupérer les fines particules d'intérêt non négligeable.

Les cyanures libres sont connus pour leur forte toxicité et leur effet néfaste sur l'environnement, malgré cela le procédé hydrométallurgique de cyanuration est majoritairement utilisé pour le traitement des minerais aurifère. C'est une technique qui consiste à dissoudre l'or à l'aide de cyanure et d'oxygène en solution aqueuse. En outre, des quantités considérables de déchets secondaires sont générées. Par conséquent, il est temps de penser à une méthode d'extraction moins coûteuse et plus conservatrice de l'environnement.

L'innovation de certaines bactéries à savoir les *Thiobacillus* qui utilisent l'oxydation des formes réduites du soufre comme une source d'énergie, a conduit à l'émergence de nouvelles perspectives biotechnologiques, économiques et environnementales. Ces dernières ont pour objectifs une meilleure gestion des ressources naturelles. Ainsi, la biolixiviation des minéraux sulfurés, permet aujourd'hui de valoriser des minerais et d'améliorer la récupération de métaux à forte valeur ajoutée (Or, Cuivre, Cobalt...) tout en limitant les rejets toxiques dans l'air ou dans les eaux de surface. Ces procédés ont fait l'objet

d'une mise en pratique quasiment naturelle du fait de leur apparente simplicité de mise en œuvre. [1]

Le présent projet a Pour but d'étudier la possibilité de mise en place d'un nouveau procédé en utilisant une nouvelle technique dite biohydrométallurgie qui fait intervenir des bactéries spécifiques pour libérer l'or des sulfures porteur. C'est une méthode respectueuse du point de vue environnemental, moins couteuse et qui génèrent peu de déchets secondaires. Cette voie de traitement semble être très prometteuse pour l'avenir.

Pour mieux cerner la démarche expérimentale nous avons opté pour la répartition de notre étude en phase, reprise par les chapitres de ce manuscrit tel que suit: synthèse bibliographique pour le chapitre I, matériels et méthodes pour le chapitre II et résultats et discussion pour le troisième chapitre.

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Le rôle de la métallurgie est de trier ou d'extraire les éléments valorisables ou d'éliminer les éléments indésirables qui ont des propriétés physiques et/ou chimiques proches. L'or est en fait un des plus anciens métaux connus et exploités. Sa rareté et son inaltérabilité en font une substance recherchée dont le prix, par rapport aux autres substances minérales, a toujours été relativement élevé.

Bien que la lixiviation par le cyanure reste le procédé de base pour le traitement des minerais d'or, de nouveaux procédés et réactifs sont apparues, d'autres sont peu à peu délaissées. Dans ce chapitre nous nous proposons de donner des rappels bibliographiques concernant les procédés utilisés pour l'extraction de l'or.

I.1. Présentation de la zone d'étude

La découverte des gisements d'or dans la région du Hoggar remonte aux années 1970 quand la SONAREM avait découvert les gisements de Tirek et d'Amesmassa en 1971 et 1978. Dans le but d'exploiter ces gisement, il a été créé en date de 22 avril 1992 une société par action dénommée: Entreprise National D'exploitation Des Mines D'or (ENOR). Son objectif social est la recherche et l'exploitation des gisements aurifères sur le territoire national ainsi que la mise sur pied de toute entreprise et activité connexe susceptible de faciliter la réalisation et le développement de l'exploitation de tel gisement.

I.1.1. Cadre géographique

Le massif du Hoggar et ses régions périphériques se situent à l'extrême sud du pays. Le Hoggar est partagé entre la wilaya de Tamanrasset et d'Illizi. Sa superficie est de 500.000 Km², il constitue la majeure partie du bouclier Touareg qui se prolonge au Sud-ouest par l'Adrar des Iforas, au Mali et au Sud-est par l'Air, au Niger. [2]

Le gisement aurifère d'Amesmassa est situé dans la partie Sud-ouest du Hoggar, à 2600 km au sud d'Alger, à 450 km au sud-ouest de Tamanrasset et à 60 km au sud de la mine de Tirek (Figure I.1). Les coordonnées de son centre sont 2°29 de longitude Est et de 20°59 de latitude Nord.

Le relief de la région du gisement et de ses environs est représenté par un plateau désertique faiblement accidenté. Les altitudes maximales atteignent rarement 550-600 m, les dénivelées relatives sont de 5-10 m à 30-50 m.

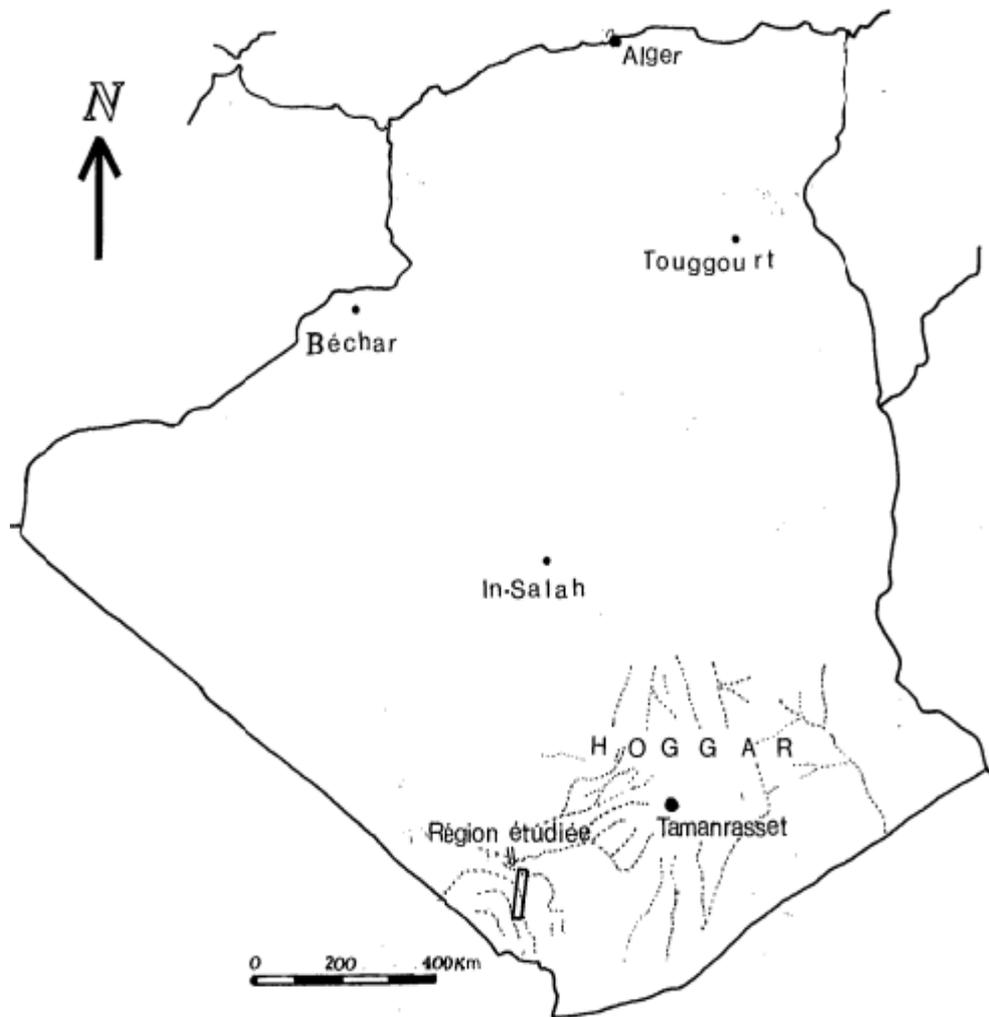


Figure I.1: Situation géographique de la mine d'Amesmassa. [4]

Les conditions climatiques sont caractéristiques pour les régions désertiques de Sahara central. Les précipitations moyennes sont de l'ordre de 5-10 mm/année. La température est de 15°-10°C (décembre, janvier) avec de rares gelées dans la nuit; en été, elle atteint 37° - 48° (en juillet). [7]

I.1.2. Cadre géologique

I.1.2.1. La géologie régionale

La région des gisements aurifères est située dans la partie sud-ouest du bouclier Touareg dans le Hoggar (Ahaggar). Selon Black et Liégeois (1994), ce dernier est composé de trois principaux domaines géologiques (oriental, central et occidental) séparés par des accidents tectoniques majeurs et dans lesquels s'individualisent des terrains spécifiques en terme de lithologie, de métamorphisme, de magmatisme et de tectonique (Figure I.2).

L'ossature globale du Hoggar s'intègre dans un modèle géodynamique caractérisé par une orogénèse panafricaine à deux stades successifs. Le premier stade, précoce (750 - 660 Ma), reflète une collision qui succède à une subduction à plongement vers l'Ouest du Craton Est –Saharien. Cette collision a généré un métamorphisme de haute pression, une anatexie de la croûte inférieure, des chevauchements à l'échelle régionale et un magmatisme Calco-alcalin faiblement à moyennement potassique. Le second stade (650 -580 Ma) a eu comme effet des batholites Calco–alcalins fortement potassiques, suite à une subduction à plongement vers l'Est du craton Ouest Africain. [4]

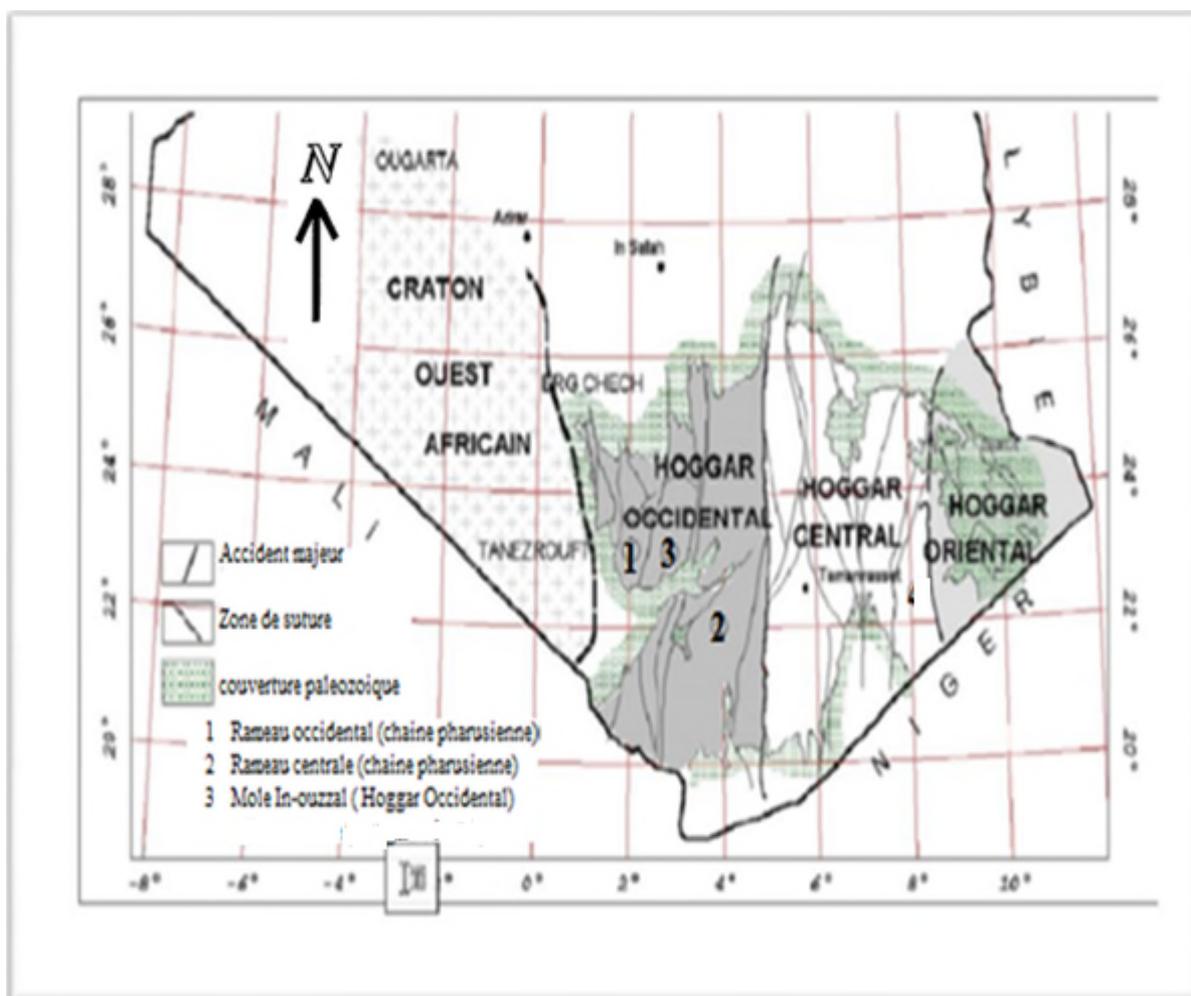


Figure I.2: Carte des principaux domaines structuraux du Hoggar: subdivision classique d'après Caby 1981 [2]

a. Le Hoggar oriental

Caractérisé par la chaîne « Tiririnienne » d'âge panafricain tardif; chaîne à caractère linéaire encadrée à l'Est et à l'Ouest par deux socles plus anciens et structuralement différents l'un de l'autre. Cette chaîne est caractérisé par un dépôt détritique sur une surface

d'érosion qui montre des roches métamorphiques et magmatiques très diverses, cette zone est constituée d'arkoses, de conglomérats et de calcaires à Stromatolithes. [7]

b. Le Hoggar central

Il représente la partie médiane du bouclier Touareg (le Hoggar), et est limité à l'est et à l'ouest par deux gigantesques accidents décrochant, dénommés respectivement 4°50 et 8°30. Par opposition au domaine précédent, le Hoggar central comporte très peu de formation sédimentaire ou volcanique d'Age protérozoïque supérieur qui ne forme que des sillons étroits, allongés Nord-sud.

Des formations d'âge protérozoïque inférieur et Archéen prédominent dans ce domaine. Ce sont des migmatites et des gneiss rubanés de composition granodioritique à tonalitique, associé à des orthogneiss ocellés (datés à environ 2000 Ma) et à des formations métasédimentaires contenant des gneiss variés, des marbres, des quartzites et des micaschistes, localement connus dans le faciès granulitique d'âge Eburnéen. [4]

c. Le Hoggar occidental

C'est dans Le Hoggar occidental que la minéralisation aurifère, est localisée. Ce dernier résulte de la collision entre le carton ouest Africain et le bouclier Touareg au Panafricain (630-570 Ma). C'est un vaste domaine où affleurent essentiellement des formations volcano-sédimentaires et volcaniques d'âge Protérozoïque moyen à supérieur. Il est limité à l'ouest par le carton ouest-africain à noyaux d'âge Archéen. A l'est, il est séparé du Hoggar central par l'accident subméridien 4°50.

Ce vaste domaine est subdivisé en deux rameaux séparés par l'unité granulitique d'In-Ouzzal, laquelle est constituée de formation d'âge Archéen, structurés et métamorphisés à l'Eburnéen. [7]

I.1.2.2. La géologie du gisement

Le territoire du gisement est formé de roches métamorphiques d'âge archéen de la série In-Ouzzal à l'ouest et de roches métamorphiques d'âge protérozoïque de la série d'Arrechoum à l'est (annexe A.1). Les roches métamorphiques d'âge archéen sont représentées par des granito-gneiss, méta-gabbros, gabbros, gabbro-diorites amphibolites et des pyroxénites.

Les formations du protérozoïque inférieur représentées par la série d'Arrechoum qui affleure à l'Est du gisement sont constituées des gneiss leucocrates et des granito-gneiss au

milieu desquels apparaissent rarement de minces inters-lits d'amphibolites et des quartzites, recoupés par des gabbros, des diorites et des grano-diorites. [7]

La tectonique cassante a joué un rôle très important dans la mise en place de la minéralisation aurifère le long de la faille d'In Ouzzal Est. Cette dernière passe dans la partie centrale du gisement ou elle est matérialisée sur le terrain par une bande mylonitique de 0,2 à 2 km de large, elle est constituée par des différents mylonites (Figure I.3).



Figure I.3: Faille d'IN- OUZZAL [Photo prise le 17.03.2016 à 08 :30]

I.1.3. Mode de formation

L'or a toujours été considéré comme difficilement transportable par les fluides géologiques. Les sulfures (provenant du sulfure d'hydrogène H_2S) et les chlorures (provenant des sels) étaient considérés comme les seuls composés capables de faciliter le transport de l'or (Au) en se liant au métal et en formant des complexes solubles dans le fluide (par exemple: $AuCl_2^-$, $Au(HS)_2^-$).

L'or filonien se forme lorsque ces fluides très chauds passent dans les espaces ouverts que constituent les failles et les fractures des roches. Ces fissures sont alors comblées par la précipitation de minéraux, principalement du quartz, mais aussi de l'or. [8]

I.1.4. La minéralisation du gisement

Selon l'ENOR le gisement d'Amesmessas contient 1 040 000 tonnes de minerai avec une teneur de 12,05 g/t d'or. Dans ce gisement l'or est souvent natif, est associé à des veines de quartz décimétrique à métrique dans des mylonites minéralisées avec un peu de sulfure (pyrite, galène et chalcopyrates).

I.1.5. Exploitation minière du gisement

L'exploitation consiste à réaliser une succession de travaux miniers afin d'assurer la découverte et l'extraction en qualité planifiée dans les meilleures conditions. Dans la mine d'Amesmassa la méthode d'exploitation adoptée actuellement par l'ENOR se fait à ciel ouvert avec transport par camion et terril extérieur. Dans ce cas le coefficient de découverte est de 15 ce qui veut dire pour un camion de minerai on a 15 camions de stériles.

La pratique d'exploitation dans les conditions du gisement d'Amesmassa est de haut en bas, les travaux d'extraction sont caractérisés par un avancement de chantier et des fronts de travail dans le temps et dans l'espace.

I.2. Présentation d'or

I.2.1. Minerai d'or

I.2.1.1. Pyrite

Le fer et le soufre occupent respectivement les quatrièmes et cinquièmes rangs des éléments les plus abondants de la croûte terrestre, Au cours de l'histoire de la Terre, leurs cycles biogéochimiques se sont intimement mêlés pour donner naissance à différents minéraux de sulfure de fer. La pyrite (FeS_2) est le plus courant de ces minéraux. [25]

La pyrite, Cristal de sulfure de fer (FeS_2) de densité ($d=5$), dont le système cristallin est cubique, a le même éclat et la couleur que l'or, d'où son surnom « Or des fou ». Malgré ce nom peu flatteur, la pyrite n'est pas toujours sans valeur: sa présence est un indice de la proximité de gisements aurifères. Elle contient parfois, avec le fer, assez de métaux précieux pour constituer un minerai valorisable. Mais dans l'industrie minière, elle est souvent considérée comme un minéral indésirable, qui limite la récupération de composés à forte valeur ajoutée ou l'utilisation de minéraux industriels. Elle oblige les valorisants à déployer, pour son élimination, des procédés coûteux (grillage par exemple) qui sont souvent néfastes pour l'environnement. [14] [15]

I.2.1.2. Galène

La galène est une espèce minérale composée de sulfure de plomb de formule chimique (PbS), souvent associée à des quantités économiques d'argent, de cuivre et d'or. C'est le minerai de plomb le plus abondant.

C'est un minéral relativement doux (dureté = 2,5), de couleur gris foncé avec une nuance bleu pâle, et un éclat métallique brillant. Il cristallise dans le système cubique. Les

principaux types de dépôts comprennent les dépôts de sulfures massifs et les dépôts à basse température dans les roches carbonatées. [16]

I.2.2. L'or métal

L'or est le troisième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique de Mendeleïev. Le symbole (Au) vient du latin Aurum-or. C'est un métal très estimé, sa couleur et son éclat sont très attirant. Il est fort malléable, inerte, ne s'altère ni ne réagit à la plus part des substances chimiques. On le trouve généralement sous une forme relativement pure. Toutes ces qualités justifient son exceptionnelle valeur. [9]

I.2.2.1. Propriétés physiques et chimiques de l'or métal

Les principales propriétés physiques et chimiques de l'or sont présentées dans le tableau I.1:

Tableau I.1: Caractéristiques physiques et chimiques de l'or. [10]

| Au | |
|--|--|
| Numéro atomique | 79 |
| Masse atomique | 196,9665 |
| Configuration électronique | [Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ¹ |
| Structure | CFC |
| Paramètre de maille (nm) | 0,408 |
| Rayon métallique (nm) | 0,14420 |
| Densité (g/cm ³) | 19,32 |
| Température de fusion (K) | 1337 |
| Température d'ébullition (K) | 3081 |
| Enthalpie de sublimation (KJ/mol) | 343 ± 11 |
| Première énergie d'ionisation (KJ/mol) | 890 |

Du point de vue chimique, l'or est considéré comme peu réactif (métal noble), ses états d'oxydation sont (+1 et +3) et permettent l'obtention de complexes où il est tétra

coordonné. Sa configuration électronique est à l'origine de son fort potentiel d'ionisation, de sa densité, et de son éclat jaune. [38]

L'or ne se combine pas avec l'oxygène, donc ne s'oxyde ni se ternit; ceci a toute températures. Il résiste remarquablement à l'action des produits chimiques, dont la plus part des acides. Cependant il forme avec l'eau chlorée ou eau régale (HNO_3 et HCl) des chlorures d'or AuCl_3 . [10]

I.2.2.2. Propriétés mécaniques

Les atomes d'or sont empilés selon une structure dite « Cubique à Faces Centrées » (CFC) d'où sa ductilité. Cette structure cristalline présente beaucoup de plans cristallographiques denses. Sa déformation plastique se fait par glissement des dislocations dans ces plans denses.

L'or « pur » se déforme facilement à froid, par martelage ou par étirement (tréfilage, laminage), il se cisèle aisément. Il a de ce fait été utilisé très tôt dans la joaillerie, ou sous forme de fines feuilles pour « plaquer » des objets. En revanche, n'ayant qu'une faible tenue mécanique, il n'a pas été utilisé pour faire des outils. [11]

I.2.2.3. Conduction thermique et électrique

L'or est un excellent conducteur thermique et électrique, mais son coût (lié à sa rareté) limite ses utilisations. Il est le troisième métal le plus conducteur (après l'argent et le cuivre) mais son caractère inoxydable en condition ambiante fait qu'il est utilisé pour les contacts électronique sous forme de plaquage très mince.

En raison de cette caractéristique, de son inaltérabilité et de sa grande ductilité, il est utilisé pour réaliser des connexions, notamment dans certains composants électroniques, tels que les microprocesseurs. Il est également utilisé allié avec du fer dans des thermocouples pour la mesure de températures inférieures à la température ambiante. [11]

I.3. Procèdes de traitement du minerai aurifère

Les principales caractéristiques de l'or (natif principalement) ont conduit au développement de plusieurs méthodes de traitement des minerais aurifères:

I.3.1. Méthode gravimétrique

Elle s'applique essentiellement à l'or libre des placers, mais peut être combiné à la flottation des sulfures porteurs d'or. C'est la technique la plus ancienne, elle est basée sur la densité élevée de l'or. [18]

Le facteur le plus important pour réussir une séparation par gravité, est la libération de l'or des minéraux de la gangue. En revanche La taille et la forme des particules d'or limitent la technique de concentration par gravité puisque les particules de taille inférieure à 30 microns peuvent difficilement être récupérées par cette technique. La concentration gravimétrique des minerais aurifères n'a pas permis de récupérer une bonne proportion de l'or présent dans la plus part des cas où elle a été appliquée. [19]

I.3.2. La flottation

La flottation est un procédé de séparation par voie humide de certains constituants d'un minerai. Son but principale est, soit éliminer certains sulfures qui s'avèreraient être des cyanicides, soit au contraire les concentrer s'ils sont porteurs d'or. [18]

La flottabilité de l'or associée aux sulfures a conduit très tôt à l'utilisation de la flottation pour la concentration des minerais d'or. Dans ce cas le minerai précieux mis dans des réacteurs est transféré à la surface de la solution, caractérisée par une sorte de mousse, tandis que la gangue demeure dans la pulpe. A cette fin, les particules de minerai sont rendues hydrophobes à l'aide d'un réactif appelé collecteur. Cela permet aux bulles d'air de se lier aisément aux particules du minerai. [36]

Ce procédé implique le concassage et le broyage du minerai à une granulométrie fine ainsi que l'utilisation de plusieurs réacteurs ce qui rend cette opération très onéreuse. [39]

I.3.3. L'amalgamation

Le procédé d'amalgamation est fondé sur l'aptitude de l'or métallique à s'allier au mercure pour former des amalgames décomposables à la chaleur. L'amalgamation est considérée en général comme un phénomène de dissolution. À partir de l'amalgame, le mercure est vaporisé dans un four, condensé par distillation, puis récupéré et recyclé. La digestion de l'or par le mercure est possible sous certaines conditions: le procédé n'est applicable qu'en présence d'eau, que si les surfaces métalliques sont propres et qu'en absence d'impuretés nuisibles. L'amalgame se solidifie graduellement quand la proportion d'or atteint 10 à 12 %. [37]

Le concentré, additionné d'eau et de réactifs (cyanure, soude ou chaux) est d'abord broyé pendant 14 à 16 heures dans un tambour broyeur cylindrique; le mercure est ensuite ajouté et le malaxage poursuivi durant 2 à 3 heures à l'issue desquelles l'amalgame produit est séparé de la pulpe dans un cône traversé par un courant d'eau ascendant dont le débit est réglé pour que l'amalgame, très dense (masse volumique: 15 g/cm³), se sépare du minerai stérile

plus léger (masse volumique: $2,6 \text{ g/cm}^3$) entraîné par le courant. L'amalgame est enfin lavé puis distillé pour évaporer et récupérer le mercure. Le résidu, essentiellement constitué d'or et d'argent, se présente sous forme d'éponge, qui sera successivement fondue et raffinée. [40]

Largement employé dans le passé, l'amalgamation est devenue une technique marginale car cette forme d'extraction de l'or est à l'échelle mondiale la plus grande source d'émissions intentionnelles de mercure qui entraîne:

- De graves risques sanitaires puisque la vapeur de mercure inhalé passe dans le système sanguin et provoque des dommages permanents au système nerveux central. En cas d'inhalation par une femme enceinte, le fœtus aura un risque accru de naître mentalement et/ou physiquement handicapés. [41]
- La dégradation à grande échelle de l'environnement et une contamination des écosystèmes pouvant persister durant des décennies après la cessation des activités d'extraction. [20]

I.3.4. La pyroméallurgie

La pyroméallurgie utilise le grillage comme méthode de prétraitement pour l'oxydation de minerais et du concentré sulfuré. Au cours du grillage oxydant, le sulfure est transformé en dioxyde de soufre SO_2 qui est volatilisé avec l'arsenic, tandis que le fer précipite sous forme d'hématite Fe_2O_3 . L'or reste sous forme métallique dans la calcine.

La température du grillage varie entre 450 et 750°C , mais en présence de sulfures de Plomb, Antimoine, Cuivre, Cobalt, Nickel ou Zinc, les particules d'or libérées peuvent être à nouveau encapsulées par des composés ferritiques formés dans la calcine à des températures supérieures de 650°C . Par contre, à des températures inférieures de 600°C , la matière organique n'est pas dégradée, tandis que les sulfures ne sont pas complètement oxydés.

Bien que le grillage soit la seule technique qui permet une élimination totale de la matière carbonée, des conditions de température et de pression en oxygène non contrôlées peuvent entraîner la formation de charbon dans la calcine, encore plus actif que la matière carbonée d'origine.

Malgré ces quelques avantages, le grillage oxydant montre aussi plusieurs inconvénients :

- Le minerai ou le concentré à traiter doit avoir une concentration suffisante en sulfures ou en matière carbonée pour éviter des fortes consommations en énergie.

- Les résidus solides d'arsenic (As_2O_3) doivent être purifiés pour être commercialisés (sur un marché où il n'y a pas de pénurie), et en cas de stockage, ils demeurent un produit hautement toxique.
- Les règlements mis en place pour protéger l'environnement des émissions des gaz d'arsenic, de soufre et/ou de mercure, conduisent les entreprises à de fortes dépenses pour l'installation de moyens de protection qui peuvent pénaliser la faisabilité du procédé. [12]

I.3.5. L'hydrométallurgie

C'est un procédé de métallurgie extractive par voie humide, consistant à extraire un élément métallique généralement à l'état oxydé d'un minerai et à le réduire sous forme d'un métal possédant la pureté souhaitée. [21]

La métallurgie extractive de l'or est effectuée en plusieurs étapes suivant ce procédé. Tout d'abord, le minerai broyé est lixivié dans une solution de cyanure, puis purifié et récupéré par adsorption sur charbon actif. Pour certaines opérations, du cyanure est ajouté dans le circuit de broyage, afin de mettre en solution l'or pouvant être plaqué dans le broyeur ou dans la tuyauterie du circuit de broyage. Des équipements de concentration gravimétrique sont souvent installés dans le circuit de broyage pour récupérer l'or libre suffisamment grossier. [22]

I.3.5.1. Préparation mécanique du minerai aurifère

La méthode d'extraction par cyanuration exige de libérer les surfaces d'or pour permettre une éventuelle attaque de celui-ci par le cyanure et l'oxygène en milieu aqueux. Le but essentiel de ces procédés consiste à préparer les minerais à l'enrichissement. Ce sont des procédés de concassage, broyage, criblage. (Figure I.4). [18]



Figure I.4: Station de la préparation mécanique du minerai aurifère

[photo prise le 17/03/2016 à Amessmassa]

I.3.5.2. Cyanuration

La cyanuration est la technique la plus utilisée dans le monde, c'est un procédé chimique, par opposition aux procédés physiques tel que la gravimétrie. Elle repose sur le principe de la lixiviation, qui désigne les techniques d'extraction de produits solubles à l'aide d'une solution cyanurée.

Le principe de la cyanuration repose sur le fait que les ions cyanures forment des complexes très stables avec l'or (I.1), l'argent et quelques autres métaux. Les solutions de cyanures faiblement alcalines (pH entre 10 et 11) dissolvent préférentiellement l'or et l'argent contenue dans le minerai [5], selon la réaction chimique correspondante:



a. Lixiviation en cuve

Le minerai d'or préalablement broyé est amené sous forme de boue (pulpe) dans une série de cuve de lixiviation (Figure I.5). Cette pulpe est ensuite agitée dans ces dernières, par voie mécanique et par injection d'air où elle est mise en contact avec la solution de cyanure ainsi que le charbon actif. Les complexes métalliques or-cyanures contenues dans la pulpe sont adsorbés sur le charbon actif que l'on sépare de cette dernière par tamisage. L'or est ensuite récupéré par électrolyse. [5]

Lorsque l'on introduit du charbon actif directement dans les cuves de lixiviation le procédé est appelé « Carbon-In-Leach » ou CIL. Si le charbon actif est ajouté dans des cuves séparées après lixiviation il est appelé « Carbon-In-Pulp » ou CIP. [42]

Durant le processus de lixiviation, il faut s'assurer que le pH de la boue a une valeur de 10 à 11 en utilisant de la chaux à l'entrée du circuit pour empêcher, lors de l'adjonction du cyanure, que du cyanure d'hydrogène gazeux ne se dégage et pour garantir que le cyanure va rester dans la solution pour dissoudre l'or.



Figure I.5: Cuves de lixiviation au niveau de la mine d'Amesmassa

[Photo prise le 17.03.2016]

b. Lixiviation en Tas

La lixiviation en tas, par rapport à la lixiviation en cuve, présente l'avantage d'être un procédé relativement simple, avec des coûts d'investissements et de productions plus faibles. Elle est plus adaptée à un minerai de roche poreuse qui contient un or microscopique et a basse teneur. Elle consiste à imposer un flux de liquide lixiviant de façon à traverser au mieux le milieu contenant le minerai. Elle est généralement mise en œuvre dans les zones climatiques sèche car elle permet le recyclage presque intégral des eaux cyanurées (Figure I.6). [5]

Une installation de lixiviation en tas se compose des éléments suivants: [5]

- Un système de prétraitement de minerai;
- Un tas et une aire de lixiviation;
- Un système d'arrosage par la solution et de la récupération du jus;
- Un circuit de récupération du métal;
- Un bassin pour la solution chargée et la solution stérile.



Figure I.6: tas de lixiviation du minerai aurifère de la mine d'Amesmassa
[photo prise le 19/03/2016]

I.3.5.3. Adsorption sur charbon actif

Le charbon actif est l'un des plus puissants agents utilisés pour la récupération, la séparation et la purification de plusieurs matériaux. Bien que l'efficacité de charbon pour l'épuration d'eau soit bien connue depuis longtemps, les propriétés de charbon actif et son utilisation industrielle et scientifique ne datent que de quelque décennie.

Le principe de la récupération de l'or par le charbon actif; repose sur la propriété qu'ont les matières carbonées activées d'adsorber l'or contenue dans les solutions de cyanures. Dans le cas de la cyanuration en tas, l'adsorption sur charbon est effectuée dans des colonnes à lit fixe ou pulsé (Figure I.7). En fin d'adsorption le charbon est récupéré et traité par élution. [5]



Figure I.7: Colonnes de charbon. [Photos prises le 17/03/2016 à Amesmassa]

I.3.5.4. L'électrolyse

L'électrolyse est la dernière étape du processus d'extraction de l'or. À la cathode, l'ion Aurure (Au^+) se dépose après avoir pris un électron pour devenir un or métallique. Les réactions d'oxydation et de réduction sont :

- Réaction à la cathode (réduction) : $2 \text{Au}(\text{CN})_2^- + 2 e^- \Leftrightarrow 2 \text{Au}^0 + 4 \text{CN}^- \dots\dots\dots (\text{I.2})$
- Réaction à l'anode (oxydation) : $2 \text{OH}^- \Leftrightarrow \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2 e^- \dots\dots\dots (\text{I.3})$

La cathode est faite en laine d'acier et l'anode est en plomb pour favoriser le dégagement d'oxygène avec un minimum de surtension (Figure I.8). Cette cathode est utilisée parce qu'elle offre une grande surface de contact. L'électrolyse ne permet pas d'obtenir de l'or pur. L'argent et le cuivre, qui sont aussi solubles dans le cyanure, sont plaqués avec l'or sur la cathode d'acier. Le gâteau obtenu dans le filtre presse après l'opération d'électrolyse est fusionnée avec des fondants dans un four avant d'être coulée dans des moules sous forme de brique. Même si une partie du cuivre est éliminée à la fusion, une autre étape d'affinage est nécessaire pour obtenir l'or pur. [22]



Figure I.8: Cellule d'électrolyse [photos prises le 20.03.2016 à Amesmassa]

I.3.5.5. Autres réactifs de Lixiviation d'or

Bien que le cyanure soit un excellent agent complexant de l'or, bon marché et relativement biodégradable [12], de nombreuses recherches ont été entreprises à partir des années 1970 pour essayer de trouver un autre réactif complexant de l'or plus "puissant" et moins toxique (Tableau I.2). Parmi tous les réactifs proposés, c'est la thio-urée SC (NH₂)₂ qui a été la plus étudiée. La réaction de l'or avec la thio-urée forme des complexes du type Au⁺[SC(NH₂)₂]₂⁺ qui sont stables seulement en milieu acide (pH= 1,0) :



La cinétique de cette réaction (I.4) est plus rapide que celle de la complexation de l'or avec le cyanure, mais la présence d'un agent oxydant plus efficace que l'oxygène de l'air est nécessaire pour la mise en place de la réaction. Le fer ferrique a été reconnu comme l'oxydant le plus efficace. Cependant, des pertes importantes de réactif sont possibles par complexation de la thio-urée avec le Fer ferrique Fe³⁺ (formation de complexes type Fe SO₄ SC(NH₂)₂). [18]

I.3.5.6. Avantages et inconvénients de l'hydrométallurgie

L'hydrométallurgie présente l'avantage de travailler à des températures proches de l'ambiante. La consommation d'énergie est donc moins importante. L'emploi de solutions aqueuses génère peu d'effluents gazeux contrairement à la pyrométallurgie. En contrepartie les volumes d'effluents liquides et de boues peuvent être importants. [12]

Le plus grand inconvénient de l'hydrométallurgie de l'or est l'utilisation des cyanures qui sont connus pour leur forte toxicité. En effet leur dangerosité provient de leur capacité à agir comme poison violent. Ses effets toxiques les plus graves se produisent à l'intérieur des organismes et sont dus à la combinaison des ions de cyanure CN⁻ avec le fer de l'hémoglobine empêchant l'oxygénation du sang.

Au cours d'une exploitation minière les principaux risques pour l'opérateur sont liés à la poussière produite durant la manipulation de ce produit ou au moment de la préparation de la solution cyanurée, pouvant générer la formation de cyanure d'hydrogène gazeux (HCN).

Leur danger pour l'environnement résulte du fait que ces industries les rejettent sous forme de résidus ou d'effluents.

I.3.6. Biohydrométallurgie

Tôt dans les années 1950, des développements considérables dans le domaine de la lixiviation microbienne ont fait naître une nouvelle discipline, maintenant connue sous le nom

de biohydrométallurgie. Techniquement ce processus est une branche de l'hydrométallurgie, mais uniquement qu'elle implique l'utilisation de microorganismes pour produire des oxydants chimiques, tel que le fer ferrique.

La biolixiviation se définit comme étant un procédé de biohydrométallurgie, mettant à profit la propriété qu'ont certaines bactéries d'oxyder les sulfures métalliques. On appelle réactions de biolixiviation, l'ensemble des réactions biochimiques menant à la solubilisation des métaux. [33]

La biolixiviation des minéraux sulfureux est catalysée par certains microorganismes qui obtiennent leur énergie à partir de l'oxydation de substances inorganiques comme par exemple la pyrite (FeS_2), galène (PbS) ou la chalcopyrite (CuFeS_2), etc. les deux espèces les plus souvent impliquées dans les réactions de biolixiviation sont *Thiobacillus ferrooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans*. Ces microorganismes oxydent les minéraux sulfureux et transforment ainsi les sulfures de métaux peu solubles en sulfates de métaux solubles. L'addition de nutriments est souvent nécessaire afin de supporter la croissance des bactéries lixiviantes. [23]

I.3.6.1. Microorganismes responsable de la biolixiviation

Les microorganismes sont représentés par diverses formes de vies dont les bactéries, les champignons, les archéobactéries et les protistes (des plantes microscopiques appelées algues vertes) et des animaux tel que le plancton, la planaire et l'amibe. Mais de toutes ces formes de vie, les bactéries sont les plus importantes, c'est ainsi qu'on assimile les microorganismes aux bactéries. [24]

I.3.6.2. Les bactéries

Certaines bactéries occupent une place essentielle dans les processus de biolixiviation et leur propriétés oxydantes ont été mises à profit pour l'extraction des métaux à partir des minerais à faible teneur, ou de minerais très riches dans de petits gisements.

Dans la nature existent différents types de bactéries et parmi celles-ci, ce sont les bactéries dites chimiolithotrophes qui vont attirer le plus l'attention de l'industrie minière. Elles sont indigène des gisements métallifères sulfurés. Ces bactéries utilisent, en l'absence de lumière, l'oxydation de substances minérales comme source d'énergie pour les synthèses cellulaires et la croissance. Cependant, les bactéries chimiolithotrophes sont très diverses suivant le type de substrat métabolisé, leur mode d'utilisation du carbone et leur habitat. [13]

Elles sont mésophiles ou thermophiles, hétérotrophes, autotrophes ou mixotrophes, témoignant de relations écologiques complexes. On peut les classer globalement en trois catégories selon leur rôle: [13]

- Les bactéries oxydant les métaux;
- Les bactéries productrices d'acide sulfurique;
- Les bactéries hétérotrophes.

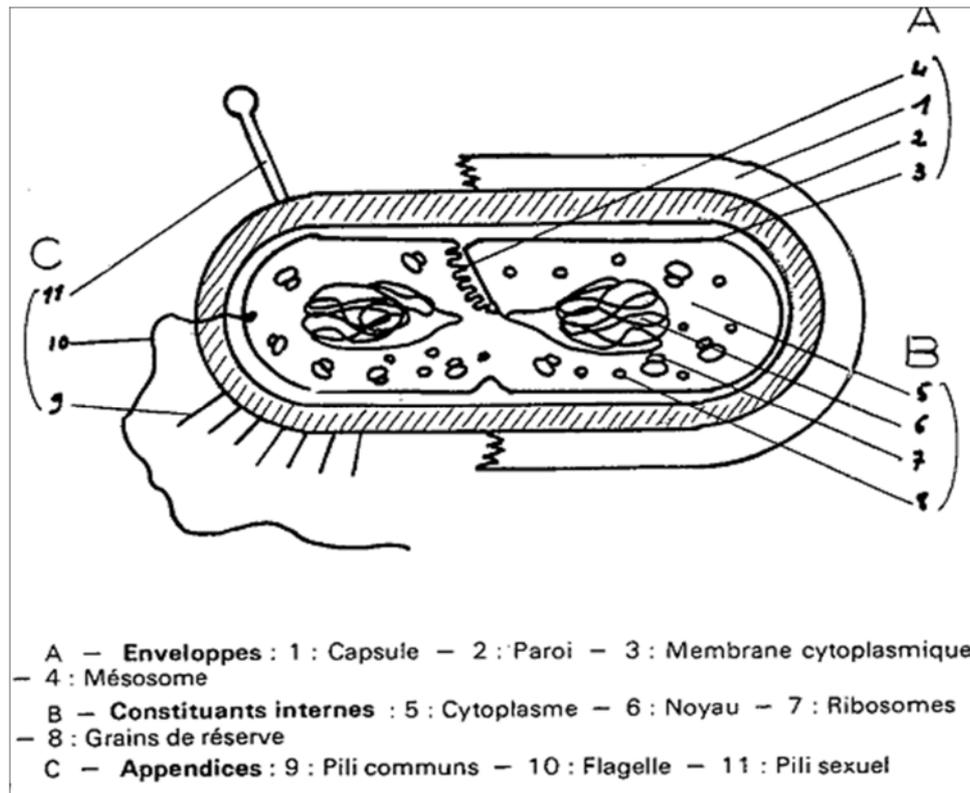


Figure I.9: Structure d'une cellule bactérienne. [46]

a. Bactéries oxydant les métaux

Ces bactéries réalisent l'oxydation des métaux, soit directement, soit par l'intermédiaire du fer ferrique. Parmi ces bactéries on trouve :

a.1. *Thiobacillus ferrooxidans*

Découverte et isolée pour la première fois en 1947 par Colmer, c'est une bactérie typique des environnements acides où elle produit de grandes quantités d'acide sulfurique à partir des composés sulfurés réduits. Elles sont autotrophes strictes puis qu'elles n'utilisent que le carbone d'origine minéral (CO_2), pour la synthèse de leurs constituants cellulaires, et chimiolithotrophes puis qu'elles obtiennent l'énergie nécessaire à leur croissance par

l'oxydation de composés minéraux réduits de fer et de soufre. Les sulfates sont les produits finaux de l'oxydation de ces composés.

Ce sont des bactéries acidophiles, dont Le pH optimum de croissance mesuré pour différents souches de cette espèce varie entre 1,8 et 2,8. Au-delà de ces valeurs, leur croissance est largement inhibée. La température optimale de croissance pour la plupart des souches de *Thiobacillus ferrooxidans* varie entre 30 et 35°C. L'accepteur final d'électrons chez ce type de bactérie est l'oxygène; ce type de respiration est qualifié d'aérobie. [13]

Comme la grande majorité des bactéries du genre *Thiobacillus*, elle est familière des environnements riches en composés inorganiques soufrés et plus particulièrement des effluents de drainage des gisements sulfurés complexes contenant des pyrites (FeS_2), des chalcopyrites (CuFeS_2), de la galène (PbS) ou de la blende (ZnS). [26]

Un grand avantage de ces bactéries est du à leur résistance à des concentrations relativement fortes aux métaux en solution (Tableau I.2). Leur activité oxydante peut aussi être inhibée par la présence d'un grand nombre de composés organiques, particulièrement les acides organiques et les aminoacides. [32]

Son adaptabilité aux différentes conditions de milieu et aux hautes concentrations de métaux en solution, ainsi que sa capacité à oxyder la plupart des sulfures d'intérêt économique, font de cette bactérie l'organisme préféré par les "bio-hydr métallurgistes" pour des applications de biolixiviation industrielle. [12]

Tableau I.2: Concentrations maximales d'ions métalliques aux quelles résiste *Thiobacillus ferrooxidans*. [29]

| Métaux | Concentration maximales (g / l) |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Zinc (Torma et al, 1972) | 120 |
| Aluminium (Brierley, 1978) | 10 |
| Cobalt (Torma, 1975) | 30 |
| Cuivre (Groudev et Groudeva 1981) | 60 |
| Manganèse (Brierley, 1978) | 10 |
| Nickel (Troma, 1975) | 70 |

a.2. *Leptospirillum ferrooxidans*

Découverte en 1972 par Harkosyan est une bactérie, spiralée mésophile (la température optimale de croissance se situe en-dessous de 45°C), acidophile, chimiolithotrophe, aérobies, oxydant le fer. Elle est capable de dégrader la pyrite en culture pure mais elle est incapable d'oxyder le soufre. Elle puise son énergie de l'oxydation du fer ferreux et de divers sulfures métalliques et a besoin de l'oxygène comme accepteur final d'électrons. Elle est résistante à des valeurs de pH acide avec une valeur optimale située autour de 3,0. On la trouve toujours en association avec des *Thiobacilles*. Elle se distingue des *Ferrooxidans* par sa moindre résistance au cuivre et par une oxydation de la pyrite plus lente. [28]

Cependant, dans les applications industrielles de biolixiviation, il a été démontré que les meilleurs rendements d'oxydation des sulfures métalliques sont obtenus avec des cultures mixtes constituées d'espèces *Acidithiobacillus* et *Leptospirillum* provenant des sites naturels par rapport à des souches individuelles correspondant à des espèces pures. [24]

a.3. *Thiobacillus THX*

Elle a été isolée en 1977 par Roux et coll. C'est une bactérie acidophile, chimiolithotrophe, aérobie, hétérotrophe et moyennement thermophile (50°C) voisine de *Thiobacillus ferrooxidans*. Elle se développe en milieu contenant du Fe ou de la pyrite lorsqu'il est supplémenté par de l'extrait de levure ou de la glutathionine. Elle est capable d'oxyder aussi la chalcopryrite (Cu Fe S₂) et le sulfure de nickel. Bien que peu connue, elle pourrait représenter un intérêt pour le développement des processus de bioextraction à haute température. Toutefois, ses besoins en supplément organique peuvent être un obstacle d'ordre économique pour son utilisation dans l'industrie. [28]

a.4. *Thiobacillus intermedius*

La croissance autotrophe pour *Thiobacillus intermedius* est lente, et les mélanges de glucose et de thiosulfate (S₂O₃²⁻) donnent un taux de croissance beaucoup plus rapide. Tout en étant capable de croître de manière hétérotrophe, elle exige un composé du soufre réduit comme source de soufre. L'enrichissement de cette espèce peut être favorisé si le pH est au-dessous de 4. En plus de (NH₄⁺) et (NO₃⁻), des composés organiques azotés peuvent être utilisés comme source d'azote. *Thiobacillus intermedius* a été identifiés comme étant capable de résister à des métaux lourds lorsqu'ils sont introduits dans leur environnement.

Thiobacillus intermedius est l'un de ces chimiolithotrophes facultatives qui peuvent se développer avec un donneur d'électrons organique. [30] [31]

a.5. *Les Sulfolobus*

Ce sont les bactéries acidophiles les plus robustes de cette catégorie: thermophiles extrêmes (50 à 85°C), chimiolithotrophes, elles oxydent à la fois le fer et les composés sulfurés réduits. De plus, elles sont autotrophes facultatives, aérobies, en l'absence d'oxygène, les ions de Fer et Molybdène (Mo) peuvent servir d'accepteurs finaux des électrons. Elles supportent des concentrations élevées en ions métalliques. On les rencontre naturellement dans les sources chaudes acides mais il a été prouvé qu'elles peuvent à priori se développer dans les environnements de lixiviation. Cependant, ces bactéries n'ont pu être isolées que très rarement dans ce type de milieu. Par conséquent, malgré leurs aptitudes exceptionnelles, l'utilisation des *Sulfolobus* dans la lixiviation industrielle est encore lointaine. [27]

b. Bactéries productrices d'acide sulfurique

L'environnement acide est indispensable non seulement au développement des bactéries de lixiviation, mais aussi à la solubilisation des métaux. Il existe différentes espèces de *Thiobacilles* non acidophiles (*T. Thioparus*, *T. novellas*, *T. denitrifleans*, *T. intermedius*...), capables de croître en milieu neutre et même alcalin, dans les minerais sulfurés. Elles font augmenter l'acidité du milieu qui devient alors favorable au développement sélectif des bactéries de lixiviation. Il faut aussi mentionner l'existence d'une bactérie non acidophile, productrice d'acide sulfurique, *Thenaothrix chiopara* qui est thermophile: elle ne se développe qu'à des températures comprises entre 60 et 75°C. Sa présence n'a été décelée que dans très peu de sites de lixiviation. [28]

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

b.1. *Thiobacillus Albertis*

Isolée en 1987 c'est une bactérie acidophile, autotrophe, réalisant l'oxydation des sulfures. Bien que voisine de *Thiobacillus Thiooxidans* elle s'en distingue par la composition de son AON (acide desoxy-ribonucléique) et un pouvoir d'acidification moindre.

b.2. *Thiobacillus Thiooxidans*

Bactérie chimiolithotrophe, autotrophe et aérobie est typique des environnements acides où elle produit de grandes quantités d'acide sulfurique à partir des composés sulfurés

réduits. C'est le *Thiobacille* ayant le plus fort pouvoir d'acidification et la plus forte tolérance à l'acide: en culture sur soufre colloïdal, il provoque une diminution du pH de 4 à parfois pH (0,3 - 0,8). On trouve cette bactérie systématiquement associée à *Thiobacillus Ferrooxidans* dans les environnements de lixiviation. [28]

c. Les microorganismes hétérotrophes

Contrairement aux chimiolithotrophes, Ces organismes ne peuvent utiliser le fer ferreux comme source d'énergie, Ils puisent alors leur énergie de deux sources majeures: des composés organiques toxiques à la croissance de *Thiobacillus Ferrooxidans* présents dans le milieu ou de certaines molécules organiques excrétées par l'activité métabolique de ces dernières comme par exemple le pyruvate, le glutamate, la sérine, la glycine et autres acides aminés. Les bactéries appartenant à cette catégorie sont les *Aspergillus* et les *Penicillium*. Ces organismes contribuent aussi à la baisse du pH favorable au développement des bactéries acidophiles par la production d'acides organiques.

La coexistence de ces deux espèces est essentielle, étant donné la sensibilité élevée de *Thiobacillus Ferrooxidans* en vers la matière organique. Les organismes hétérotrophes font apparaître dans le milieu de culture les conditions propices à la lixiviation par les organismes autotrophe. [29]

Plusieurs autres bactéries acidophiles oxydatrices du fer et du soufre peuvent être utilisé dans la biolixiviation des minerais sulfurés. Les principales sont représentées dans le tableau (Annexe A.2).

I.3.6.3. Cinétique de croissance microbienne

Afin de bien comprendre les différents procédés biologiques reliés à la solubilisation des métaux, et de les appliquer de façon convenable en industrie, il est important de connaître les vitesses de croissance des organismes qui y sont impliqués. En culture discontinue (mode cuvée), les organismes se développent selon un modèle représenté graphiquement par une courbe présentant le logarithme du nombre de cellules en fonction du temps (Figure I.10) ayant quatre phases distinctes: la phase de latence, la phase exponentielle, la phase stationnaire et la phase de mortalité.

Lors de l'inoculation d'un milieu de culture frais, les cellules ne se multiplient pas immédiatement. Cette période représente la phase de latence. Au cours de cette phase, les organismes procèdent à la synthèse de nouveaux constituants cellulaires (enzymes, cofacteurs, ribosomes, commencement de la réplication de l'ADN, etc.). La durée de cette période est

variable et dépend de plusieurs facteurs comme par exemple l'âge de l'inoculum, la température ou la composition du nouveau milieu, plus ou moins éloignée de l'ancien. [33]

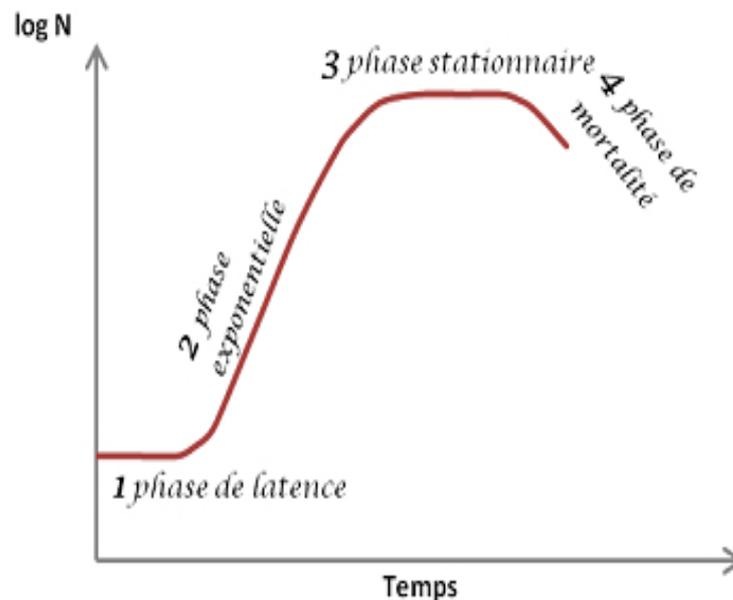


Figure I.10: Courbe de croissance microbienne dans une culture en mode cuvée (non renouvelé). [24]

Suite à cette période, les organismes commencent à se multiplier. Ils entrent dans une phase exponentielle (ou logarithmique). À ce moment la vitesse de croissance bactérienne est maximale. Les organismes se dédoublent à une vitesse et à un intervalle régulier. La population atteint ensuite la phase stationnaire, dans laquelle la croissance devient plus lente. Cette dernière reste stable et cette situation résulte probablement d'un équilibre entre la division et la mort cellulaire. Les éléments nutritifs sont limités à ce moment et les déchets métaboliques s'accumulent en concentration importante.

La phase de mortalité survient ensuite, les éléments nutritifs sont maintenant rares et les déchets toxiques en concentration importante. Le nombre de bactéries viables diminue. [33]

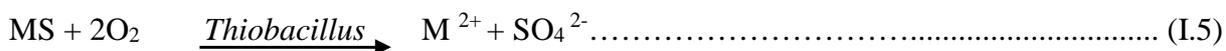
I.3.6.4. Mécanismes impliqués dans les processus de biolixiviation

La biolixiviation fait appel à deux mécanismes nommés biolixiviation directe ou lixiviation biologique et lixiviation indirecte aussi appelée lixiviation chimique (Figure I.13). La biolixiviation directe est amorcée par le métabolisme bactérien. Le pouvoir oxydant du fer ferrique (F^{3+}) et la présence d'acide sulfurique gouvernent la biolixiviation indirecte. Parmi les avantages que ces deux mécanismes apportent à l'industrie minière, on compte une

réduction de l'énergie et de la quantité des réactifs requis, des coûts d'opération plus bas et la possibilité du traitement du minerai à faible teneur en métaux.

a. Mécanisme direct

La lixiviation biologique est la dissolution des métaux d'un solide donné par l'utilisation directe d'un substrat constitutif comme source d'énergie. Elle est amorcée lorsqu'un contact étroit est établi entre la bactérie et le sulfure métallique à oxyde. Le sulfure de métal insoluble sera oxydé en sulfate soluble. L'oxydation a lieu par transfert d'électron des composés réduits de soufre (généralement le S^{2-}) vers l'oxygène dissout par les bactéries adhérentes. La réaction peut être simplifiée par l'équation suivante lorsqu'il s'agit d'une lixiviation directe: [29]



L'oxydation des sulfures dans ce cas est plus complexe. En effet Les électrons arrachés au substrat par les bactéries sont transportés au travers la chaîne respiratoire située dans l'espace périplasmique. La communauté scientifique s'entend pour l'existence de quatre accepteurs intermédiaires. Une flavoprotéine et trois cytochromes différents semblent généralement observés. L'accepteur final des électrons est l'oxygène. Les électrons enlevés au sulfure de métal circulent de la membrane externe vers l'espace périplasmique via la protéine rusticyanine, remarquablement stable à un pH très acide. L'énergie libérée par le transport des électrons au travers la chaîne respiratoire génère de l'ATP à partir de l'ADP et de phosphate inorganique, par un mécanisme appelé phosphorylation oxydative (Figure I.11). Une force proton-motrice est générée par un partage inégal des charges de part et d'autre de la membrane mitochondriale, causé par le transport des ions H^+ et le potentiel membranaire. Lorsque les ions H^+ retournent dans la matrice mitochondriale, le potentiel réducteur (NADPH) et de l'ATP sont synthétisés. Les produits de la réaction sont des ions H^+ , de l'acide sulfurique (H_2SO_4) et du fer ferreux (Fe^{2+}), dans le cas de l'oxydation d'un sulfure de fer ($Fe S_2$). [33]

Le soufre qui se forme a tendance à passiver les particules solides et arrêter la dissolution des sulfures. Il est éliminé en surface par oxydation catalysée par les bactéries selon la réaction suivante:



Ainsi, l'adhésion des bactéries à la surface du sulfure métallique est une étape préliminaire au processus de lixiviation directe du sulfure métallique. [29]

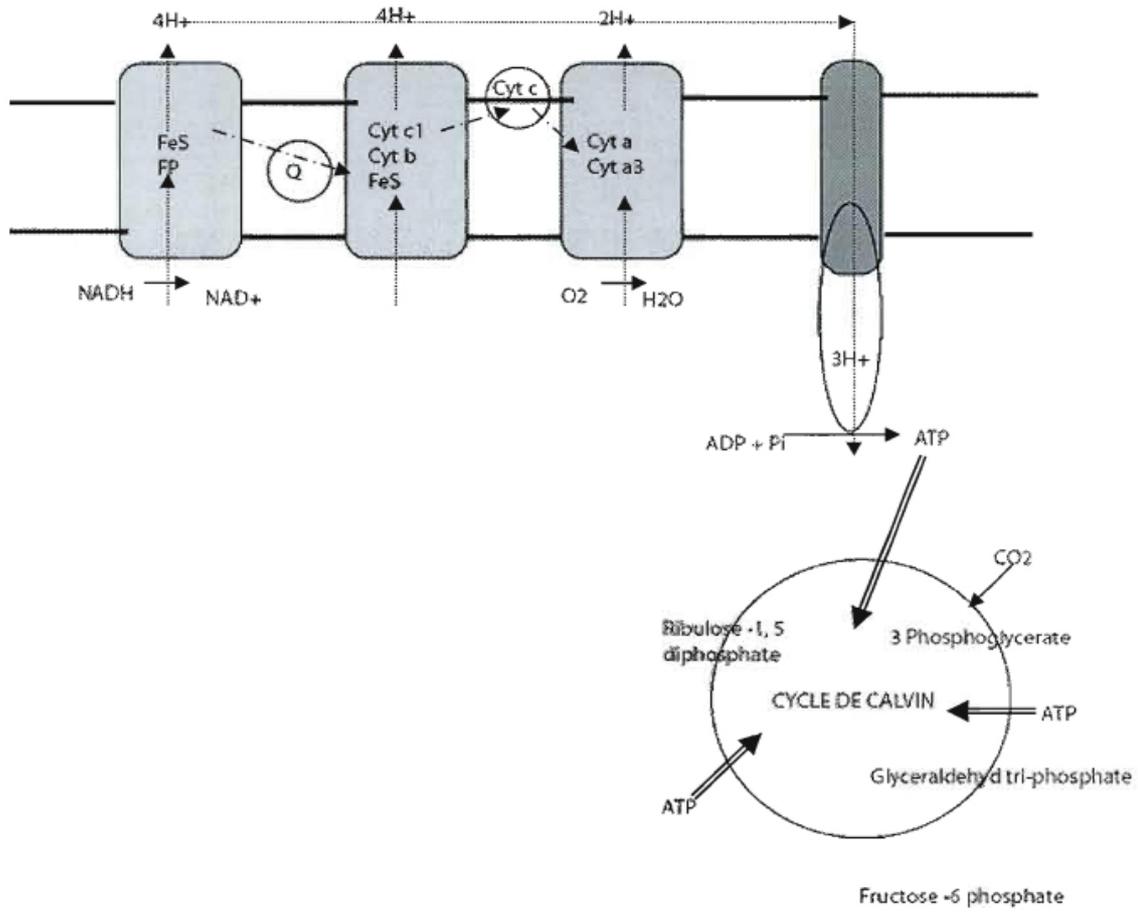


Figure I.11: Chaîne énergétique bactérienne, construit d’après Kelly et Prescott. [44]

b. Mécanisme indirect

Le mécanisme indirect de dissolution des métaux fait intervenir des réactions à la fois microbiennes et chimiques. Les bactéries (*Thiobacillus Ferrooxidans*) produisent du fer ferrique Fe³⁺ par oxydation du fer ferreux soluble Fe²⁺ (Figure I.12).

L’ion Fe³⁺ qui est l’un des agents oxydants les plus efficaces, transforme les minerais sulfurés métalliques (MS) en ions métalliques (M²⁺) solubles en milieu acide, et en soufre élémentaire selon la réaction suivante :



Le soufre libre généré est, par la suite, transformé en acide sulfurique qui favorise la mise en solution des métaux oxydés selon l’équation suivante:



Par cette activité indirecte, on pense que *Thiobacillus Ferrooxidans* multiplie la vitesse de la réaction par dix. Ces deux types de mécanismes direct et indirect interviennent de façon simultanée dans la lixiviation des minerais sulfurés. [28]

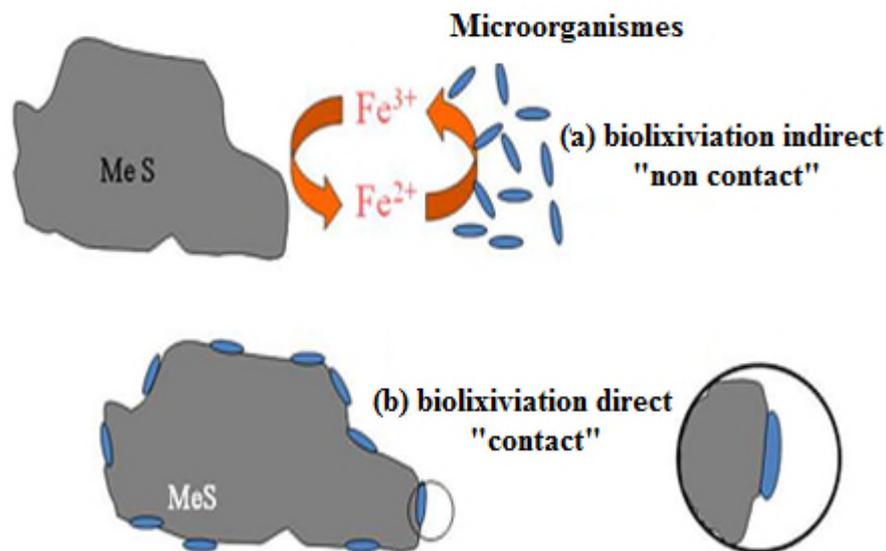


Figure I.12: Mécanisme directe et indirect de biolixiviation. [24]

I.3.6.5. Paramètres influençant la biolixiviation

L'efficacité de la lixiviation bactérienne dépend des conditions environnementales, de la composition des minéraux à traiter et de la capacité des bactéries à lixivier les métaux. La surface totale disponible à l'attachement des bactéries pourra aussi influencer le taux de lixiviation. Une diminution de la grosseur des particules de substrat entraîne une augmentation de la surface disponible sans en augmenter la masse.

a. pH

Aujourd'hui, tous les chercheurs s'accordent pour dire que des valeurs de pH très basses sont essentielles au bon fonctionnement des bactéries lixiviantes. De plus, lors de la préparation du milieu de culture, l'ajustement du pH nécessitera l'ajout d'acide sulfurique. Par ailleurs, le pH influence largement la composition des microorganismes du fait que chaque type de microorganisme est caractérisé par un pH optimal de croissance. [33]

b. Température

La température joue aussi un rôle primordial afin de créer des conditions optimales de lixiviation des minéraux. Les microorganismes impliqués dans la biolixiviation des sulfures métalliques sont regroupés en trois classes: les mésophiles, les thermophiles modérés

et les thermophiles extrêmes dont la température optimale de croissance est comprise entre (35-40°C), (45-55 °C) et (60-85°C) respectivement. [12]

En outre, des températures trop élevées par rapport aux températures optimales dénaturent les enzymes et entraînent indirectement la déstabilisation de la membrane cellulaire et l'augmentation de la sensibilité envers l'effet toxique du fer ferrique. [50]

c. Effet de l'oxygène dissous

Le transfert d'oxygène dans l'ensemble de la masse réactive est un paramètre très important dans le processus de biolixiviation, l'oxygène étant nécessaire au cours des réactions chimiques et biologiques des sulfures métalliques. La molécule d'oxygène étant l'accepteur final des électrons enlevés aux molécules de substrat oxydé, la présence ou même l'addition d'oxygène est essentiel à la croissance des bactéries et au bon fonctionnement des réactions métaboliques de biolixiviation. [24]

d. Métaux lourds

La biolixiviation des sulfures métalliques entraîne inévitablement une augmentation de la quantité d'ions métalliques en solution dans le milieu de culture. De façon générale, les organismes lixivians possèdent une tolérance élevée à l'accumulation, en grande quantité, de métaux lourds. Certains auteurs suggèrent que la tolérance à une concentration importante de métaux en solution que possèdent certains organismes, soit associée à la présence d'ADN extra chromosomique ou plasmidique. La littérature présente plusieurs mécanismes de résistance des microorganismes envers les métaux lourds. Par exemple, les métaux peuvent se fixer sur la paroi cellulaire sans pénétrer à l'intérieur de la cellule. [12]

e. Effet des éléments nutritifs

Les bactéries, comme tous les autres êtres vivants ont besoin de se nourrir pour leur croissance et selon la quantité de nutriments disponibles et la qualité de ceux-ci, le taux de croissance des bactéries variera et donc la capacité à catalyser les réactions d'oxydation des sulfures métalliques variera aussi. Deux composants nécessaires à la croissance des microorganismes sont l'ammonium comme source d'azote et le phosphate comme source de phosphore, en plus de deux autres éléments à savoir le potassium et le magnésium qui proviennent souvent du sulfure métallique biolixivié. [24]

I.3.6.6. Applications des procédés de biolixiviation à l'échelle industrielle

Pour la lixiviation bactérienne, deux grands types de procédés sont testés en laboratoire et utilisés à l'échelle industrielle: les procédés statiques et les procédés

dynamiques. Le choix de l'une ou de l'autre méthode dépend essentiellement des caractéristiques du minerai à traiter et de la valeur du métal à extraire.

a. Procédés statiques

Les traitements statiques de moindre cout de revient s'appliquent aux gisements à faibles teneurs ou stériles de traitement ultérieurs. Le principe général consiste à faire percoler des solutions aqueuses à travers la masse de substrat sulfuré solide contenant les métaux à extraire. [45]

a.1. Biolixiviation In situ

La lixiviation In situ est une méthode de traitement du minerai en place. Elle s'applique lorsque l'encaissant, qui environne le dépôt sulfuré est imperméable et permet la récupération de la solution lixiviante. Lorsqu'aucune exploitation n'a été faite, il est nécessaire de réaliser des forages pour injecter la solution lixiviante (eau acide pH=1,5 à 2 à laquelle on aura pu ajouter des éléments nutritifs telle que l'azote). Les galeries sont d'abord humidifiées avec un effluent acide. Ce dernier est par la suite recueilli dans les galeries plus profondes et pompé à la surface, dans une usine de cémentation. Le minerai fracturé est oxydé et les métaux y sont extraits. Par contre, l'application de ce procédé est limitée puisqu'il est possible de contaminer une nappe phréatique située à proximité par la dispersion, dans le réseau de failles, de la liqueur contenant les métaux en solution. Dans ce type de lixiviation, divers facteurs sont mal connus, tels que l'effet de la pression hydrostatique sur les bactéries de lixiviation, les problèmes de colmatage et de diminution de la perméabilité des sites dus à la prolifération de microorganismes. [29]

Toutefois, la lixiviation in situ reste une technique d'avenir pour l'extraction de métaux à partir de minerais de faible teneur difficiles d'accès ou très étendus, ou de minerais marginaux à l'intérieur de mines désaffectées.

a.2. Biolixiviation en tas

Le principe consiste à arroser, avec une solution de lessivage (pH = 1,8) qui va percoler à travers la masse minérale, un tas de minerai broyé possédant une granulométrie de 8 mm. La solution aqueuse, chargée en oxygène dissous, permet le développement des bactéries acidophiles (mésophile et thermophile, prélevées sur le site) au sein du tas qui provoquent la dégradation des sulfures et la solubilisation des métaux. Par la suite l'effluent acide est recueilli à la base du tas et est retourné au sommet. La hauteur des tas varie de 3 à 40 mètres, selon les pays et les caractéristiques de percolation du minerai. L'oxygénation, favorable à l'activité bactérienne est assurée dans certains cas par la mise en place de

conduites d'aération à l'intérieur des tas La récupération des métaux reste lente et peut nécessiter quelques semaines à plusieurs mois [33]

Ces procédés offrent certains avantages comme par exemple des coûts de capitalisation inférieurs de 12 à 20 % comparés aux procédés physiques, des coûts d'opération inférieurs de 10%, un accroissement de la récupération de métaux précieux de 2 à 13 % et une certification plus facile à obtenir. [6]

b. Procédés dynamiques

Ce procédé consiste à confiner la réaction dans des réacteurs agités et aérés. Le minerai traité est finement broyé ($< 100 \mu\text{m}$) afin d'augmenter la surface réactionnelle disponible pour les bactéries. Le minerai est alors mis dans une solution aqueuse acide enrichie en éléments nutritifs et forme ainsi une pulpe, dont la teneur maximale en solide est généralement limitée à 20%. Un système d'agitation-aération permet d'assurer un mélange homogène des phases liquide et solide, ainsi qu'une bonne dispersion de la phase gazeuse. L'air injecté apporte l'oxygène et le gaz carbonique nécessaires aux réactions de transformations minérales et biologiques. Au cours de la biolixiviation, le pH et la température sont contrôlés et régulés à des valeurs optimales pour la croissance des micro-organismes. Dans le procédé dynamique, l'optimisation et la maîtrise des nombreux paramètres de culture, permettent d'obtenir des cinétiques de mise en solution des métaux plus rapides que lors des traitements statiques. Le traitement en réacteur nécessite néanmoins de nombreuses étapes de mise au point et la mise en œuvre d'une technologie beaucoup plus élaborée. C'est pourquoi, pour des raisons de rentabilité, il concerne essentiellement les minerais riches et les métaux à haute valeur ajoutée. [45]

CONCLUSION

La biolixiviation reste aujourd'hui un enjeu économique et environnemental dans de nombreux pays. *Thiobacillus Ferrooxidans* est capable d'oxyder différents sulfures (Chalcopyrite CuFeS_2 , Arsénopyrite FeAs_5 , Blende ZnS , Galène PbS ou Molybdénite MoS_2) avec des prix de revient inférieurs à ceux des techniques traditionnelles d'extraction (hydrométallurgie, pyrométallurgie...).

Sous l'impulsion de l'industrie, plusieurs études ont été récemment lancées, telle que la dégradation bactérienne des sulfures contenus dans les minerais d'or réfractaires. L'application de la biolixiviation sur ce dernier, peut améliorer le rendement d'extraction de 10 à 90%. En effet, Ce mode de traitement par voie bactérienne, altère la gangue sulfurée et évite la pollution atmosphérique par le dioxyde de soufre et les composés arsénieux volatils.

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

INTRODUCTION

Pour atteindre les objectifs fixés du point de vue minéralogique, biologique et chimique, les travaux entrepris font appel à des méthodes expérimentales et d'analyses relativement courantes, pour l'étude de la lixiviation de minerais par voie bactérienne. Cependant, ces méthodes et dispositifs expérimentaux sont particulièrement adaptés pour répondre aux besoins spécifiques de ce travail. Certaines méthodes sont par ailleurs mises au point en collaboration avec la communauté microbiologiste, à savoir l'isolement et la purification de la souche bactérienne à partir du minerai aurifère.

Dans ce chapitre, sont décrits tout d'abord le matériel et les méthodes utilisés pour l'enrichissement et l'isolement de la souche bactérienne. Les dispositifs expérimentaux et les protocoles mis en œuvre pour le suivi de la biolixiviation des sulfures, sont détaillés en fonction de la caractérisation du substrat minéral.

II.2. Matériels de travail

II.2.1. Equipements d'analyse

II.2.1.1. Spectroscopie par diffraction des rayons X

Diffraction des rayons X est une méthode d'analyse minéralogique des matériaux cristallisés. Elle s'applique sur des poudres ou des échantillons massifs, et sert à la détermination de la nature des phases minérales et à leurs quantifications.

Cette méthode est basée sur la diffraction des rayons X par le réseau cristallin selon la loi de Bragg. L'état cristallin est une répartition tridimensionnelle dans l'espace d'un motif atomique. Cet arrangement forme des plans parallèles et équidistants appelés plans réticulaires (h k l) séparés l'un de l'autre par une distance d qui est fonction de la nature du minéral concerné. [43]

La condition de réflexion est donnée par l'équation de Bragg :

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta$$

Avec :

- d : distance inter-réticulaire, c'est-à-dire distance entre deux plans cristallographiques ;
- θ : demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur) ;
- n : ordre de diffraction (nombre entier) ;
- λ : longueur d'onde des rayons X.

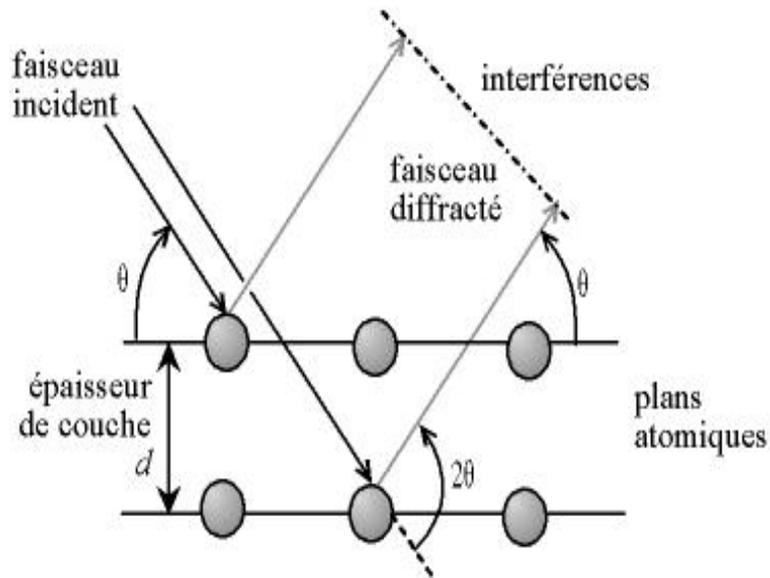


Figure II.1: Principe de fonctionnement d'un diffractomètre de Rayons X. [24]

Le principe de cette analyse consiste à bombarder le matériau par un faisceau de rayons X monochromatique produit par une anticathode de cuivre, et mesurer l'angle par rapport au rayonnement incident des rayons X diffractés et l'intensité de ces derniers au moyen d'un compteur à scintillation. Celui-ci tourne autour du même axe que l'échantillon mais à une vitesse double. Pour un angle d'incidence Θ , l'angle mesuré par le déplacement du compteur sera donc 2Θ . [43]

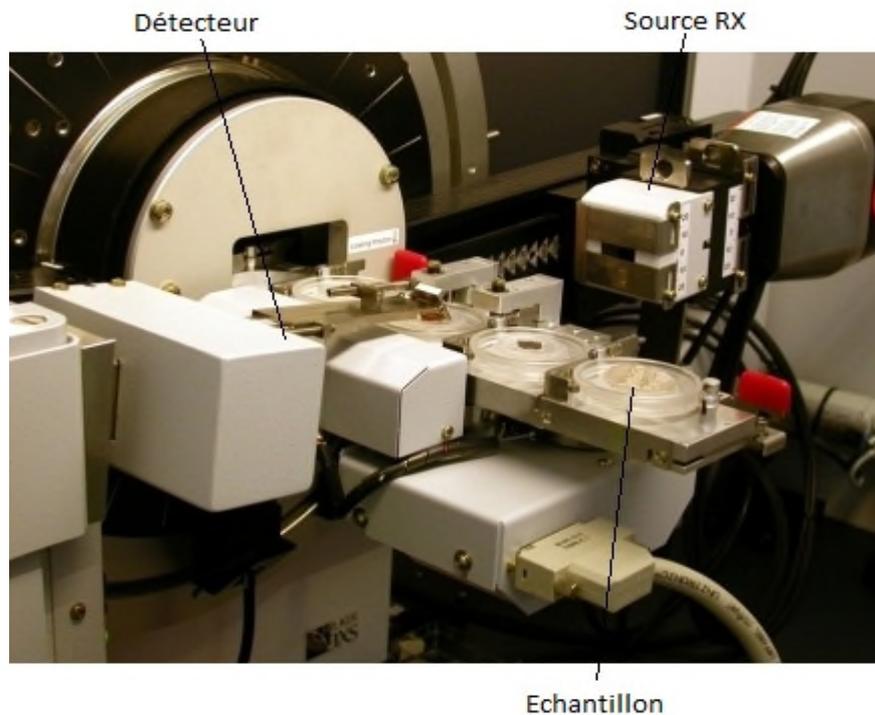


Figure II.2: Principales composants d'un appareille DRX. [43]

En faisant varier l'angle Θ , les conditions de la loi de Bragg sont satisfaites pour différentes valeurs de d dans les matériaux polycristallins. Après leur passage dans les différents réseaux de fentes, les rayons X diffractés sont reçus sur un détecteur puis transmis à un ordinateur qui présente les résultats sous forme d'un graphe appelé diffractogramme. Celui-ci représente l'intensité des pics diffractés relatifs à la quantité de chaque phase minérale présente, en fonction des positions angulaires c'est-à-dire de l'angle de déviation 2Θ du faisceau. [24]

L'interprétation des spectres s'effectue à l'aide d'un logiciel fonctionnant selon une base de données, faisant correspondre les distances inter réticulaire d aux angles 2Θ . La position des pics de diffraction permet l'identification des phases cristallines présentes et donc la détermination de la composition cristallographique de l'échantillon analysé.

La diffraction des rayons X a été réalisée au laboratoire de génie des procédés de l'université de Bejaia à l'aide d'un diffractomètre de type (X PERT PRO), de marque PANALYTICAL. L'analyse minéralogique a été réalisée sur des échantillons de minerai broyés à $75\ \mu\text{m}$ avant et après biolixiviation.

II.2.1.2. Spectroscopie Infrarouge FTIR

Les analyses IR ont été réalisées sur un spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR). Avant analyse et avant d'être pastillé, l'échantillon a été mélangé de façon homogène à du bromure de potassium KBr (sel purifié transparent en Infra-Rouge) afin de supprimer les effets de diffusion des gros cristaux. Environ 2 mg de poudre d'échantillon a été mélangé à 80 mg de KBr.

Cette méthode est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

L'appareil est composé d'une source de rayonnement IR (global), d'un système interférométrique (Michaelson) et d'un détecteur DTGS (Figure II.3). Le faisceau infrarouge provenant de la source (global) est dirigée vers l'interféromètre, qui par un jeu de miroirs et de séparatrices, divise la radiation incidente et crée une différence de marche (déphasage) entre les deux faisceaux. Ceux-ci traversent alors l'échantillon où des absorptions interviennent, avant d'atteindre le détecteur. L'interférogramme obtenu est traité par transformée de Fourier inverse qui fournit le spectre Infra-Rouge de l'échantillon. [44]

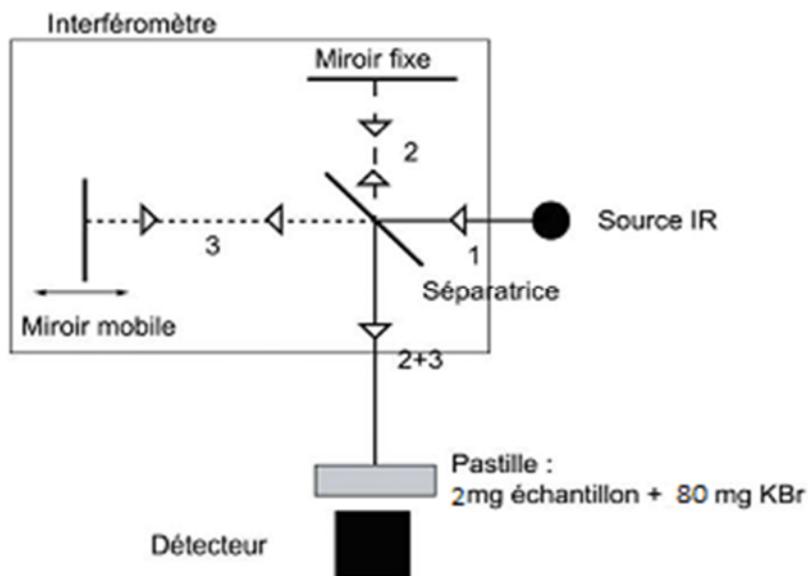


Figure II.3: Principe de fonctionnement d'un spectromètre FT-IR. [24]

Les informations tirées des spectres sont qualitatives et quantitatives. Les informations qualitatives sont tirées on se référant aux longueurs d'onde absorbées par l'échantillon, qui sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé. Tandis que les informations quantitatives sont déduites à partir de l'intensité de l'absorption à la longueur d'onde caractéristique. [44]

Tout comme la diffraction au rayon X, la spectroscopie infra rouge a été réalisé sur des échantillons de minerais, broyé à 75 μm avant et après biolixiviation.

II.2.1.3. Microscopie Electronique à Balayage

Conçue dès 1929, la Microscopie Electronique à Balayage permet, à travers un balayage par un faisceau électronique de photographier la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Ce dernier est placé sous vide ($<10^{-8}$ Torr) et est bombardé par des électrons émis par un filament de Tungstène chauffé à la température thermoionique, et accélérés par un champ électrique créé entre le whelnet et l'anode. Les électrons secondaires issus de l'échantillon sont transformés en photons par un scintillateur, relié par fibre optique à un photomultiplicateur. L'image est restituée par un écran.

Des microanalyses peuvent également être obtenues en collectant les rayons X émis par l'échantillon sous l'impact du faisceau électronique. On obtient ainsi une cartographie de la répartition des éléments. [45]

Afin de visualiser et d'évaluer le phénomène d'adhésion bactérienne sur les minerais sulfurés, l'observation microscopique MEB a été faite sur des échantillons avant puis après la biolixiviation.

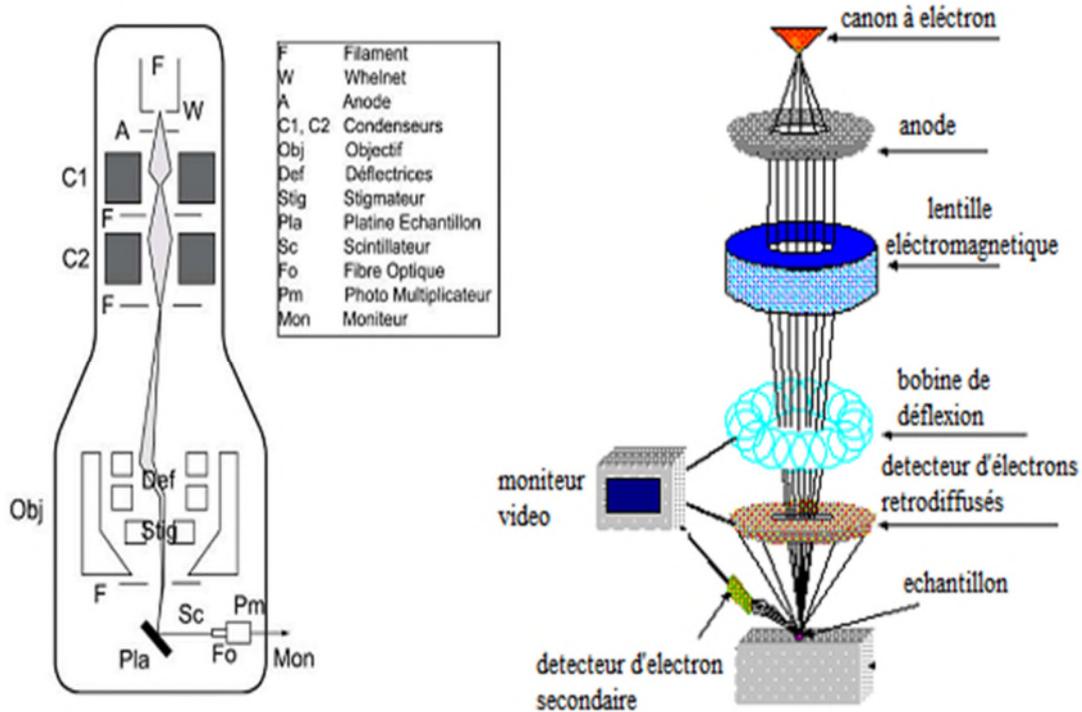


Figure II.4: Principe de fonctionnement d'un microscope électronique à balayage. [24]

II.2.1.4. Spectrophotométrie Ultra-Violet Visible

Cette technique permet la caractérisation de phases en solution et leur quantification. Les rayonnements ultraviolets (UV=190 à 380 nm soit 6,5 à 3,3 eV) ou visible (380 à 780 nm, soit 3,3 à 1,6 eV) apportent une énergie relativement modeste aux molécules. Ce sont les électrons de valence de la molécule cible qui sont excités par ce rayonnement. Ces électrons de valence se classent en plusieurs types d'orbitales moléculaires (orbitales liantes, non liantes, anti-liantes. L'absorption d'un photon ultraviolet conduit à une transition d'une orbitale électronique de liaison à une autre. Chaque orbitale correspond à un niveau d'énergie du doublet d'électrons. Plus l'écart énergétique de la transition est grand, et plus l'énergie du photon excitateur devra être élevée.

La mesure se fait par comparaison entre l'échantillon et une référence qui est généralement le solvant utilisé (eau pure en général). L'absorption de photon à une longueur d'onde donnée, est mesurée par le rapport de l'intensité (I) du faisceau transmis au travers de

l'échantillon, sur l'intensité (I_0) de référence du même faisceau transmis au travers du solvant. On définit l'absorbance A comme $A = -\log (I/I_0)$. [3]



Figure II.5: Spectrophotomètre à Ultra-Violet Visible

[photo prise le 19/05/2016 au laboratoire 3BS]

II.2.2. Instruments de manipulation microbiologique

II.2.2.1. Autoclave

C'est un appareil indispensable dans un laboratoire de microbiologie. Il permet la stérilisation du matériel et des milieux nécessaire aux manipulations stériles en microbiologie, à l'aide d'une chaleur humide. Le principe de son fonctionnement consiste à faire bouillir de l'eau dans une enceinte close pour augmenter la pression et donc dépasser les 100°C d'ébullition. La stérilisation est réalisée à 120°C pendant 15 minutes au minimum. [35]

II.2.2.5. Incubateur

Un incubateur en biologie est une enceinte thermostatée dans les laboratoires, a température réglable en fonction de la température optimale de croissance des microorganismes étudiés. [35]

II.2.2.2. Pipette pasteur

Petit tube effilé, cotonnée et stérile à usage unique. Elles se présentent sous la forme d'un tube d'environ 5 mm de diamètre avec une pointe en capillaire plus ou moins étroite (figure II.6)

Elles sont fabriquées en verre. Elle sert à prélever une solution généralement une suspension bactérienne, puis l'ensemencer dans un milieu de culture. [35]



Figure II.6 : pipette pasteur

[photo prise le 22/05/2016 au laboratoire 3BS]

II.2.2.3. Bec Bunsen

C'est un appareil de laboratoire destiné à produire une flamme ouverte avec du gaz combustible afin de chauffer des préparations, stériliser du matériel ou brûler des substances. En biologie, il est surtout utilisé pour stériliser les instruments (en les passant dans la flamme) et l'atmosphère située dans un rayon de 20 centimètres autour de la flamme (indispensable pour des expériences de microbiologie). [35]

II.2.2.4. Boîte de pétri

C'est une boîte cylindrique transparente peu profonde, en verre ou en plastique, munie d'un couvercle. La plupart du temps, elle est partiellement remplie d'un liquide nutritionnel (gélose ou bouillon) permettant le développement du microorganisme étudié. [35]

II.3. Démarches expérimentale

II.3.1. Origine de l'échantillon

Le substrat utilisé pour les essais provient du site minier d'Amesmassa. Pour les besoins de cette étude, l'échantillonnage était réalisé manuellement de manière aléatoire sur le tas de minerais après abatage, et ce pour collecter un maximum de roches sulfurées. L'échantillon est ensuite transféré au laboratoire dans des bouteilles en verre afin d'éviter toute contamination bactérienne de ce dernier.

II.3.2. Préparation mécanique de l'échantillon

Avant toute analyse et expérimentation, l'échantillon a été concassé en premier lieu à l'aide d'un concasseur à mâchoire donnant une granulométrie de 6 mm, puis broyé jusqu'à obtenir une granulométrie de 75 μm à l'aide d'un broyeur à disque.

II.3.3. Caractérisation de l'échantillon brut

La connaissance intime des caractéristiques minéralogiques et chimiques, ainsi que la dimension des principaux minéraux existants dans ce type de minerai, est nécessaire pour orienter le choix des traitements de valorisation. Les différentes méthodes employées sont des techniques permettant l'identification qualitative et quantitative des différentes phases minéralogiques ainsi que les groupements organiques présents dans la matière première.

Les essais de caractérisation minéralogique et chimique ont été réalisés sur des échantillons bruts, par différentes techniques d'analyses comme la spectroscopie de diffraction des Rayons X (DRX), la spectrométrie Infra-Rouge et la Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

II.3.4. Origine de la bactérie

La souche bactérienne utilisée pour les tests de biolixiviation a été isolé, à partir des échantillons du minerai aurifère provenant du site minier d'Amesmassa.

II.3.5. Préparation de la zone stérile

La stérilisation est l'opération qui consiste à éliminer les microorganismes d'un objet et ce, de manière durable. Son but est d'une part maîtriser les microorganismes introduits dans le milieu d'étude, et d'autre part éviter la contamination du milieu extérieur et des personnes.

Pour les manipulations à réaliser, l'outil utilisé au laboratoire pour la création de la zone stérile, est le bec bunsen. C'est un brûleur à gaz, muni d'une cheminée verticale, qui permet le mélange de l'air avec le gaz avant que celui-ci ne brûle.



Figure II.7: Stérilisation de la zone de travail

[photo prise le 15/04/2016 au laboratoire 3BS de l'université de Bejaia]

II.3.6. Culture en milieu solide

II.3.6.1. Préparation du milieu d'entretien

Pour assurer sa croissance ou sa survie, une bactérie doit trouver dans son environnement de quoi satisfaire ses besoins nutritifs: sources d'énergie, de carbone, d'azote, etc. Ces éléments doivent être apportés dans un milieu où règnent des conditions physicochimiques favorables (température, pH, pression osmotique, etc...).

Un milieu de culture est donc une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier, qui doit satisfaire les exigences nutritives de ces derniers. [46]

Le milieu utilisé est un milieu minimum solide (gélose), comportant les éléments chimique strictement nécessaires à la croissance bactérienne, sous une forme utilisable par des microorganismes n'ayant pas d'exigence particulière (tableau II.1)

Tableau II.1: Constituants du milieu solide (M1).

| Composants | Quantités |
|-------------------------------|-----------|
| Tryptone | 0,25 g |
| Extrait autolytique de levure | 0,125 g |
| Glucose | 0,05 g |
| Agar-agar bactériologique | 0,6 g |
| Eau distillée | 50 ml |

Une fois préparé, le milieu (nommé M1) est stérilisé à l'autoclave à une température de 120°C pendant 20 mn, puis coulé dans des boîtes de pétries stériles (figure II.6)

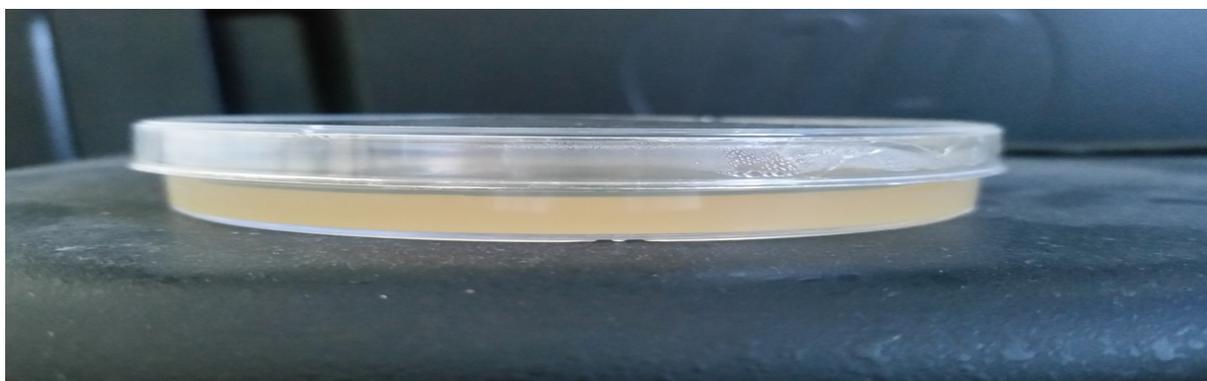


Figure II.8: Milieu de culture solide coulé dans une boîte de pétrie.

[Photo prise le 15/04/2016 au laboratoire 3BS de l'université de Bejaia]

II.3.6.2. Enrichissement de la souche bactérienne

Cette étape consiste à obtenir une croissance rapide des micro-organismes, dans un milieu de culture liquide dit inoculum (bouillon nutritif). Dans le cas de notre expérimentation; le bouillon utilisé, s'agit d'une solution stérile de BHIB (Brain Heart Infusion Broth) à base d'hydrolysats riches en protéines et d'autres nutriments nécessaire à la croissance des microorganismes.

Environ 5 g du minerai finement broyé est inoculé dans 100 ml de bouillon après autoclavage. Ce dernier (nommé I₁) est incubé pendant 15 jours dans une étuve à une température de 35 °C, afin de mettre en suspension et favoriser la croissance des bactéries recherchées.

II.3.6.3. Isolement et ensemencement

Dans la zone stérile, les bactéries présentes dans l'inoculum de départ (I₁) ont été acclimatées dans le milieu de culture précédemment préparé (M₁). L'isolement été réalisé à l'aide d'une pipette pasteur, à partir du bouillon. Celui-ci, préalablement stérilisé, est plongé dans l'inoculum et est ressortit délicatement, avant d'être déposé près du bord de la boîte de petrie. Des stries parallèles qui parcourent la surface de cette dernière sont réalisés d'un bord à l'autre (figure II.9). Ainsi l'inoculum est progressivement ,épuisé de telle sorte que, sur une partie au moins de la surface de la boîte, des cellules soient déposées individuellement et bien séparées, afin que chacune de ces cellules isolées donne naissance à une colonie distincte.

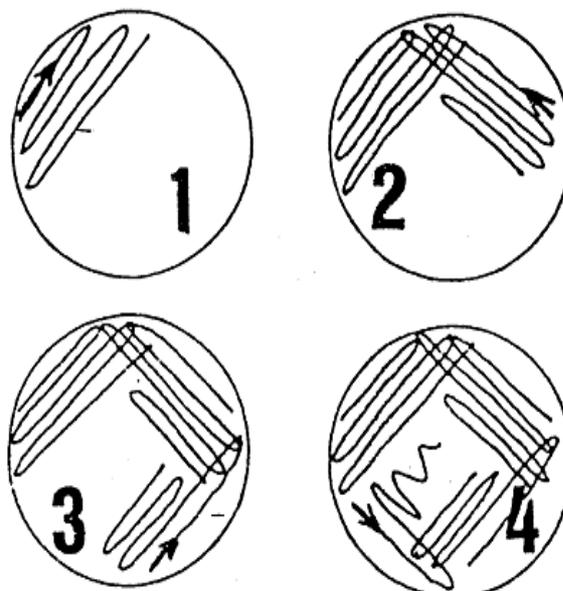


Figure II.9: Ensemencement dans une boîte de pétrie sous forme de stries. [47]

II.3.6.4. Purification

L'opération consiste à avoir une culture pure par repiquages successifs d'une colonie isolée, obtenue après l'isolement. Ces dernières sont prélevées, puis diluées dans de l'eau physiologique (0,45 g de Na Cl avec 50 ml de l'eau distillée), et ensemencées une autre fois sous forme de stries dans les boites de pétries préparées auparavant. [48]

II.3.7. Culture en milieu liquide

II.3.7.1. Enrichissement

Chaque micro-organisme a des besoins en facteurs de croissance bien spécifiques. Cependant certains n'ont en pas ; ils se développent à partir d'éléments simples et se contentent donc d'un milieu minimum. D'autre ont besoin d'un milieu extrêmement riche pour pouvoir synthétiser leurs constituants (bactéries dites exigeantes)

Les bactéries oxydants le soufre et le fer sont des microorganismes très exigeants, et pour ce, un autre bouillon nutritif (I₂) spécifique à ces dernières a été préparé. Dans ce cas, les bactéries étaient cultivées dans des flacons de 200 ml, contenant 60 ml du milieu sulfate de fer (9K) qu'on nommera I₂. Le concentré du minerai sulfuré a été ajouté à une densité de pulpe de 4 %.

Tableau II.2 : Composition du milieu (9K) à base de sulfate de fer. [49]

| Composants | Quantités |
|---|-----------|
| (NH ₄) ₂ S0 ₄ | 3 g |
| KH ₂ P0 ₄ | 0,5 g |
| Mg S0 ₄ . 7 H ₂ 0 | 0,5 g |
| Fe S0 ₄ . 7 H ₂ O | 44,2 g |
| Ca (NO ₃) ₂ | 0,01 g |
| KCl | 0,1 g |
| Eau distillé | 1L |

Étant donné que les bactéries recherchées sont acidophiles, et pour compenser la libération de carbonates provenant du concentré, Le pH du milieu 9k a été ajusté à 1,9 avec de

l'acide sulfurique H_2SO_4 (figure II.10). Les cultures sont ensuite incubées à $35^{\circ}C$ pendant 15 jours, sous une agitation de 120 rotations par minute.



Figure II.10: Ajustement du pH dans le milieu 9k
[photo prise le 01/05/2016 au laboratoire 3BS]

II.3.7.2. Isolement et purification

Après 15 jours d'incubation, L'isolement est réalisé cette fois ci en milieu liquide, dans le même milieu décrit précédemment, à pH 1,9. En effet, La suspension bactérienne contenue dans l'inoculum de départ (I_2) a été diluée à trois reprises. Chaque dilution sert à ensemercer 2 ml de la suspension, dans des tubes contenant 9 ml du milieu sulfate de fer qui, ensuite sont incubés pendant 72 heures à $35^{\circ}C$. Les tubes de la dernière dilution présentent une croissance bactérienne pure (Figure II.11).



Figure II.11: Dernière dilution de la suspension bactérienne dans le milieu 9K.
[Photo prise le 25/05/2016 au laboratoire 3BS de l'université de Bejaia]

II.3.8. Essai de Lixiviation

II.3.8.1. En système statique

La lixiviation statique a été réalisée dans des flacons de 250 ml. Ces derniers ont été remplis avec 4 gramme de minerai préalablement broyé. Avant d'introduire les bactéries dans le dispositif, 25 ml de milieu de culture 9K sont mis en percolation afin d'homogénéiser les conditions d'humidité à l'intérieur du lit minéral. Les bactéries sont apportées sur la partie supérieure du solide, sous forme d'une suspension bactérienne. La température a été maintenue à 35°C pendant 15 jours. [12]

II.3.8.2. En système dynamique

Les tests à des densités de pulpe faibles (inférieure à 4 % de solides) ont été effectués en ajoutant un poids déterminé de concentré dans un Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml du milieu de culture 9K. La pulpe était agitée puis inoculée avec 10 ml d'une culture bactérienne. L'erlenmeyer est ensuite placé à 35°C sur un agitateur rotatif, réglé à 120 rotations par minute pendant 15 jours. Les pertes d'eau par évaporation étaient compensées par ajout d'eau distillée. Après chaque prélèvement de 2 ml de solution pour analyse, une quantité équivalente du milieu 9K était réintroduite dans le milieu réactionnel. [51]



Figure II.12: Biolixiviation en système dynamique dans une étuve réglé à 120 rpm.

[Photo prise le 25/05/2016 au laboratoire 3BS]

II.3.9. Dosage du fer ferreux

La présence de fer en solution favorise la biolixiviation des sulfures par le mécanisme indirect. L'étude de l'oxydation bactérienne de minéraux sulfurés a été assurée par le suivi de la concentration du fer ferreux en solution.

La concentration en ions ferreux (Fe^{2+}) a été mesurée toutes les 72 heures au cours de la biolixiviation à l'aide d'un spectrophotomètre. Les réactifs nécessaires au dosage des ions ferreux sont une solution tampon à base d'acide acétique, une solution de phénantroline. Un échantillon (pulpe) était prélevé des flacons avec une pipette de 2 ml puis filtré à l'aide d'un papier filtre. On ajoutant 2 ml d'acide acétique concentré, environ 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'indicateur (phénantroline).

Le principe est le suivant: trois molécules de phénantroline iront se chélater avec une molécule de fer ferreux pour former un complexe de couleur rougeâtre. Les mesures de densités optiques étaient effectuées à 510 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre dans le domaine de l'ultra-violet visible. [33]

II.3.10. Caractérisation de l'échantillon après biolixiviation

Le suivi de l'évolution du minerai après la biolixiviation nécessite l'utilisation conjointe de différentes techniques d'analyse dont la spectroscopie de diffraction des Rayons X (DRX), la spectrométrie Infra-Rouge et la Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

Ces différentes techniques sont appliquées sur l'échantillon après traitement par voie bactérienne. Dans ce cas, la pulpe prélevée après biolixiviation, est filtrée sur papier filtre, puis rincée avec de l'eau distillée et séchée dans une étuve à 35°C pendant 24 heures.

CONCLUSION

Les objectifs visés à l'origine de cette manipulation portaient sur la mise en œuvre d'un procédé biologique qui pourrait être appliqué dans l'industrie minière. Ce procédé consiste à l'application d'une oxydation bactérienne dans des conditions d'une lixiviation statique et dynamique sur un minerai aurifère sulfuré réfractaires. Le programme de recherche comportait trois étapes qu'on peut résumer comme suit:

- La mise en œuvre d'une technique permettant l'isolation et la culture des bactéries ferroxidantes.
- La mise en place d'expériences de biolixiviation de concentrés et minerais sulfurés (tout-venants).

- la caractérisation des produits solides et solubles formés lors de l'attaque bactérienne des sulfures.

La réalisation de ce programme a conduit à divers résultats dont les principaux peuvent être résumés dans le chapitre III.

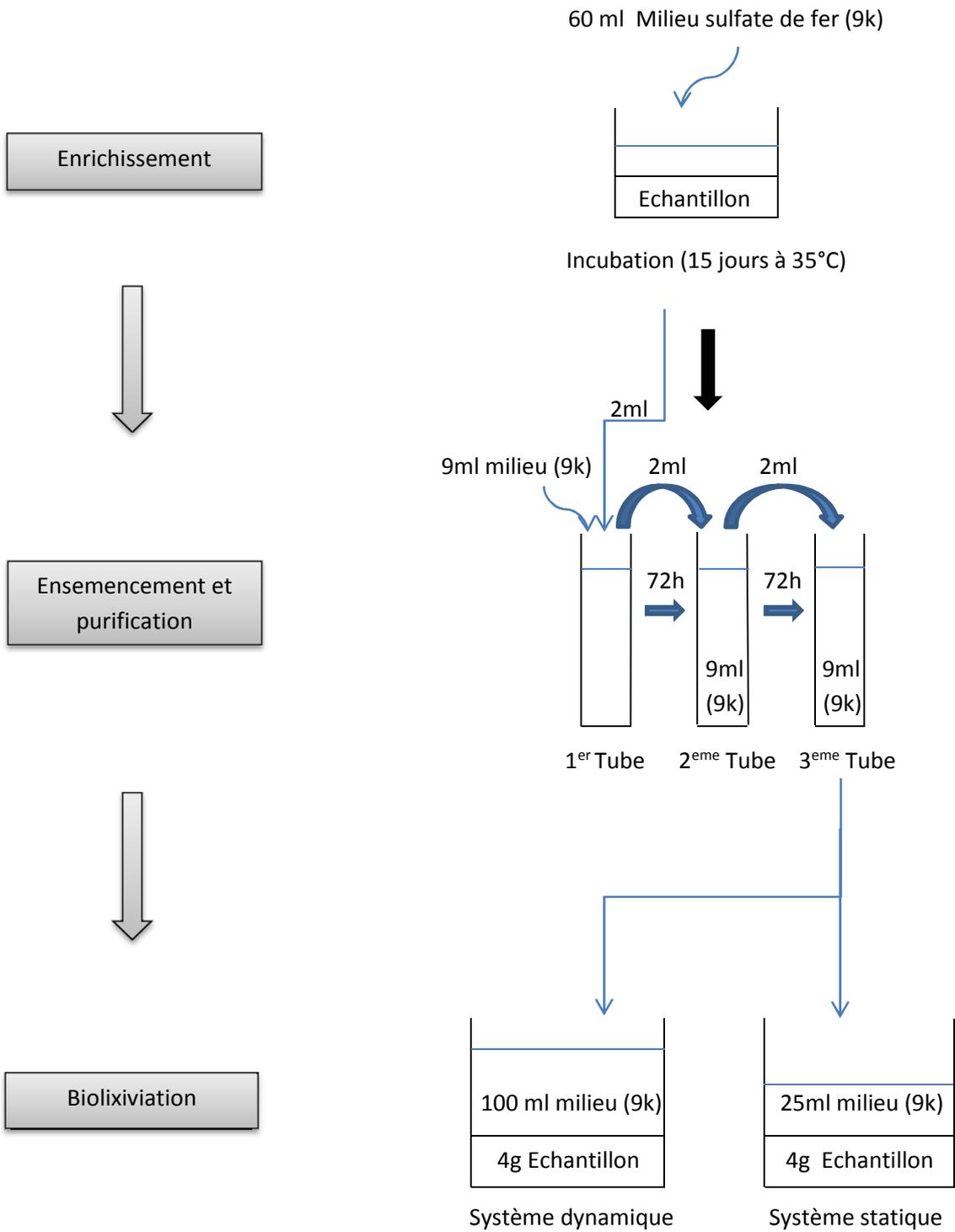


Schéma représentatif des étapes de la biolixiviation des sulfures par des bactéries cultivées dans un milieu liquide (milieu 9k)

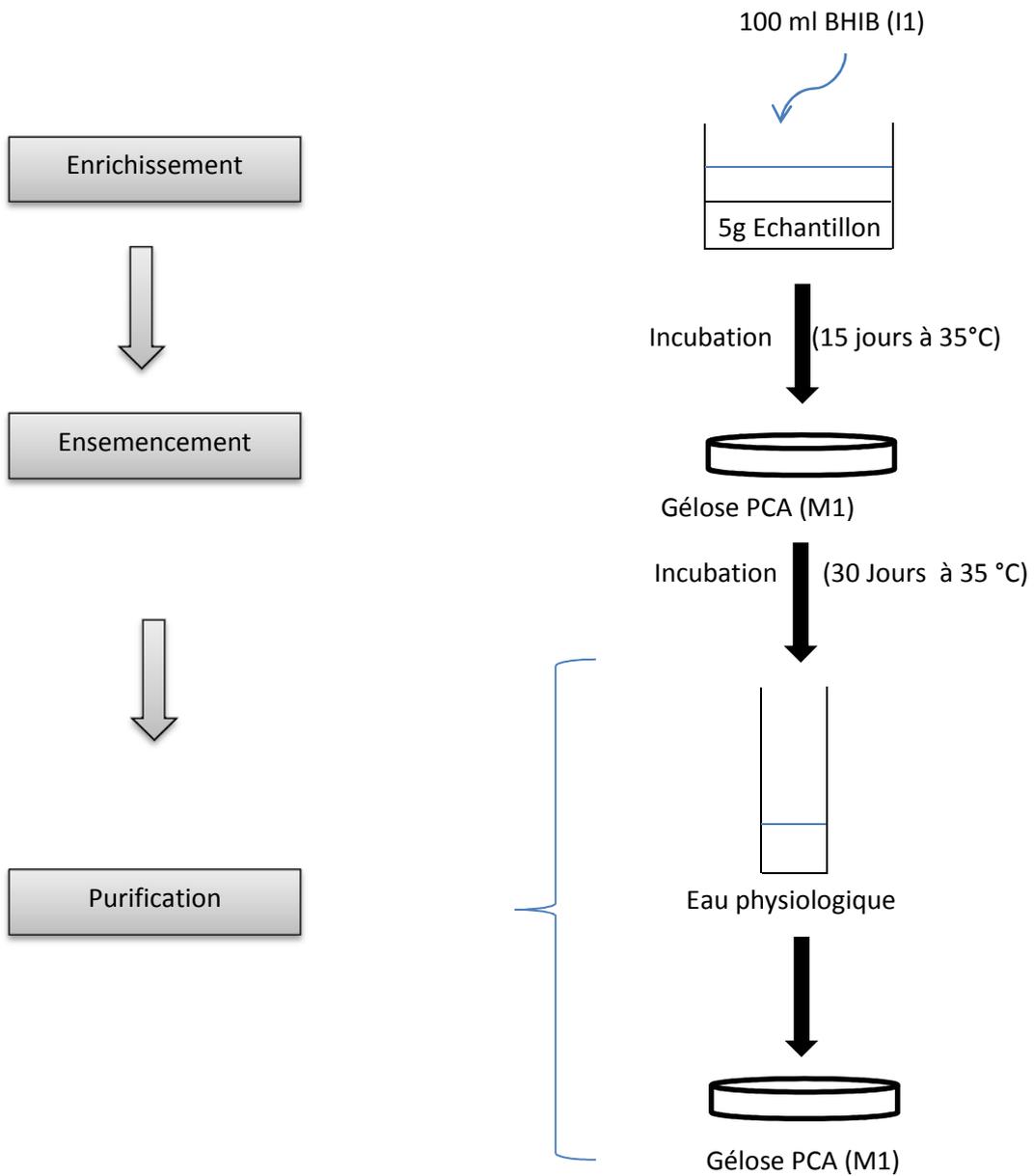


Schéma récapitulatif des étapes de la culture des bactéries dans un milieu solide (milieu 9k).

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

INTRODUCTION

Le repiquage des bactéries ferroxidantes à partir du minerai aurifère d'Amesmassa a été réalisé dans les conditions physico-chimiques optimales définies dans le Chapitre II. Mais dans l'optique d'une application industrielle, il était important de pouvoir réduire la durée nécessaire à l'oxydation complète du minerai sulfuré, soit par une diminution du temps de latence, soit par une augmentation de la vitesse d'oxydation en optant pour une méthode de traitement statique ou dynamique.

Dans un premier temps, nous avons recherché un moyen de réduire la durée du temps de latence par une adaptation préalable des microorganismes *ferroxidans* dans un milieu qui leur est spécifique. L'adsorption des bactéries à la surface de la pyrite et l'influence de la composition de l'inoculum sur la durée de croissance de ces dernières ont été démontrés.

Dans un deuxième temps, nous avons comparé le taux d'oxydation des sulfures entre le procédé statique et le procédé dynamique. Ce chapitre englobe tous les résultats des essais réalisés au laboratoire 3BS (biochimie, biophysique, biomathématique et scientométrie).

III.1. Caractérisation du minerai

III.1.1. Analyse minéralogique par Diffraction des rayons X (DRX)

L'étude minéralogique du minerai, effectuée par diffraction des rayons X (DRX) porté sur le brut broyé à 75 μm , a permis d'établir la composition minéralogique globale et d'identifier les phases cristallines. Les diffractogrammes RX obtenus sont rapportés par les figures III 1, III 2 et par le tableau III 1.

Il ressort de l'analyse minéralogique du minerai brut la présence des principaux minéraux recherchés (figure III.1) :

- La galène (PbS) et le quartz (FeS_2) comme minéraux principaux.
- La pyrite (FeS_2) et la chalcopirite (CuFeS_2) en quantités faibles (autrement dit minéraux mineurs)

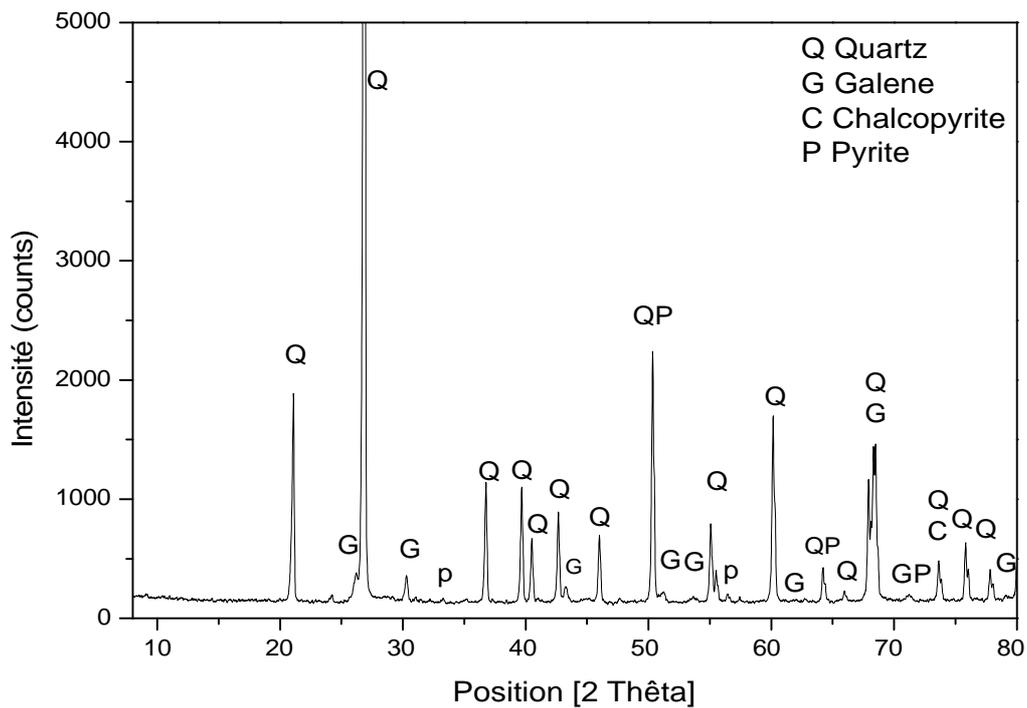


Figure III.1: Diffractogramme DRX du minerai brut.

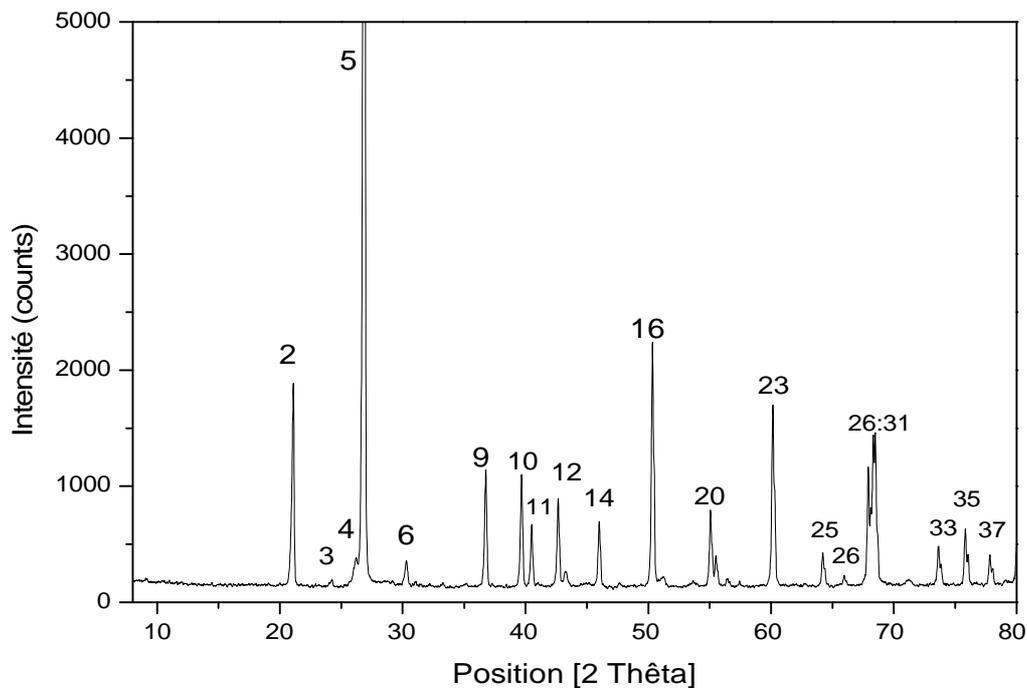


Figure III.2: Diffractogramme DRX par numéro de pics des constituants.

Tableau III.1: Composition minéralogique par DRX du minerai brut.

| Référence code | nom | Formule chimique | Numéro de pic |
|----------------|--------------|--------------------|--|
| 00-046-1045 | Quartz | SiO ₂ | 2, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 20, 21, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 33, 35, 37 |
| 00-003-0665 | Galène | PbS | 4,6, 13, 18, 19, 23, 24, 31, 32 |
| 00-042-1340 | Pyrite | FeS ₂ | 7, 16, 22, 25, 25 |
| 00-024-0211 | chalcopyrite | CuFeS ₂ | 33 |

III.1.2. Analyse par spectroscopie infrarouge

L'analyse par spectroscopie Infrarouge (FTIR), effectuée sur le minerai brut broyé à 75 µm, a mis en évidence plusieurs bandes principales, en particulier celles attribuables aux sulfures (Galène, Chalcopyrite, Pyrite) et aux silicates (Quartz). Les bandes caractéristiques des espèces minéralogiques observées sont rapportées par le tableau III.2 et la figure III.3.

Tableau III.2: Bandes caractéristiques des phases minéralogique observé.

| Position en cm ⁻¹ et intensité des bandes | Identification des bandes |
|--|---------------------------|
| 3446,33 (faible) | Amine primaire N-H |
| 2373,26 (très faible) | Acide carboxylique O-H |
| 1624,9 (très faible) | Alcènes C=C |
| 1075,14 (très forte) | silicates Si-O |
| 776,19 (forte) | Silicates Si-O |
| 693,46 (moyenne) | Sulfures C-S |
| 456,84 (très forte) | Disulfures S-S |

On notera que les bandes caractéristiques des sulfures et des éléments silicatés sont très intenses et que celles attribuées aux amines primaires sont faiblement prononcées (figure III.3).

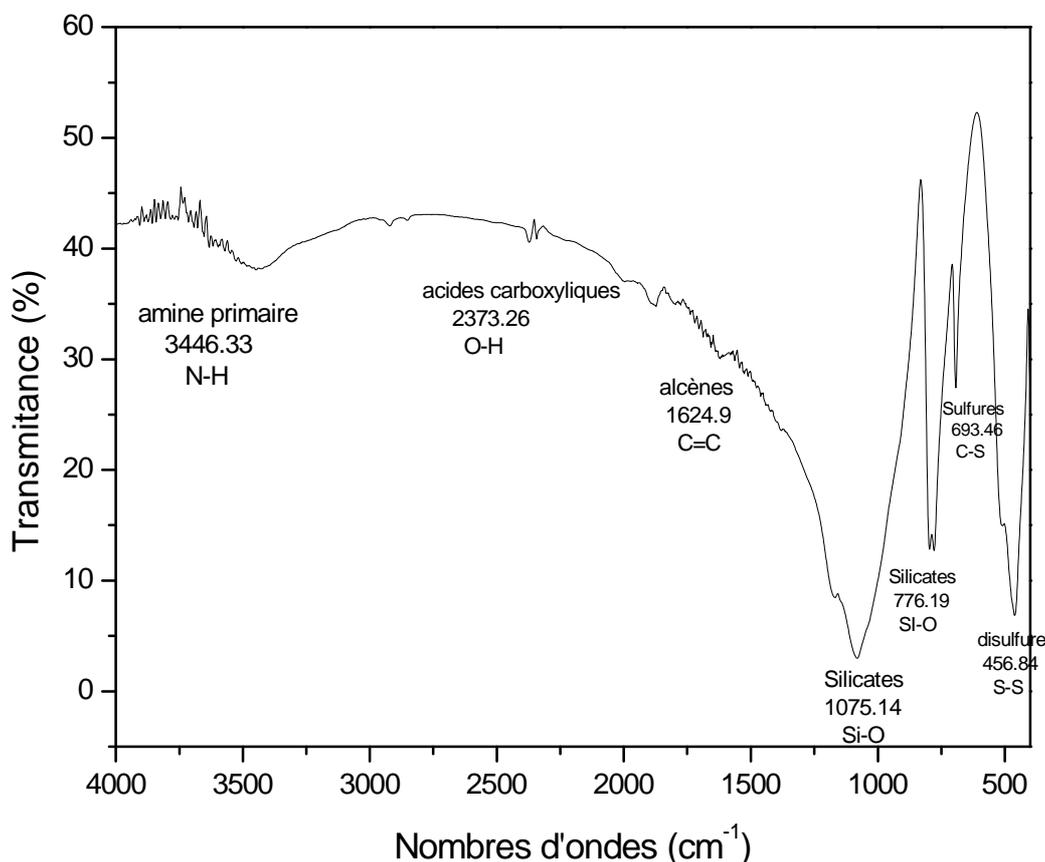


Figure III.3: Spectre infrarouge du minerai brut.

III.1.3. Observations microscopiques

Les observations microscopiques sur le minerai brut, préalablement préparés, ont été réalisées sous microscope électronique à balayage (MEB).

L'examen des photos prises sous microscope électronique du minerai brut révèle une composition hétérogène, allant de grosses particules à de très nombreuses petites particules de formes, de structures et d'éclats différents. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure (III.4).

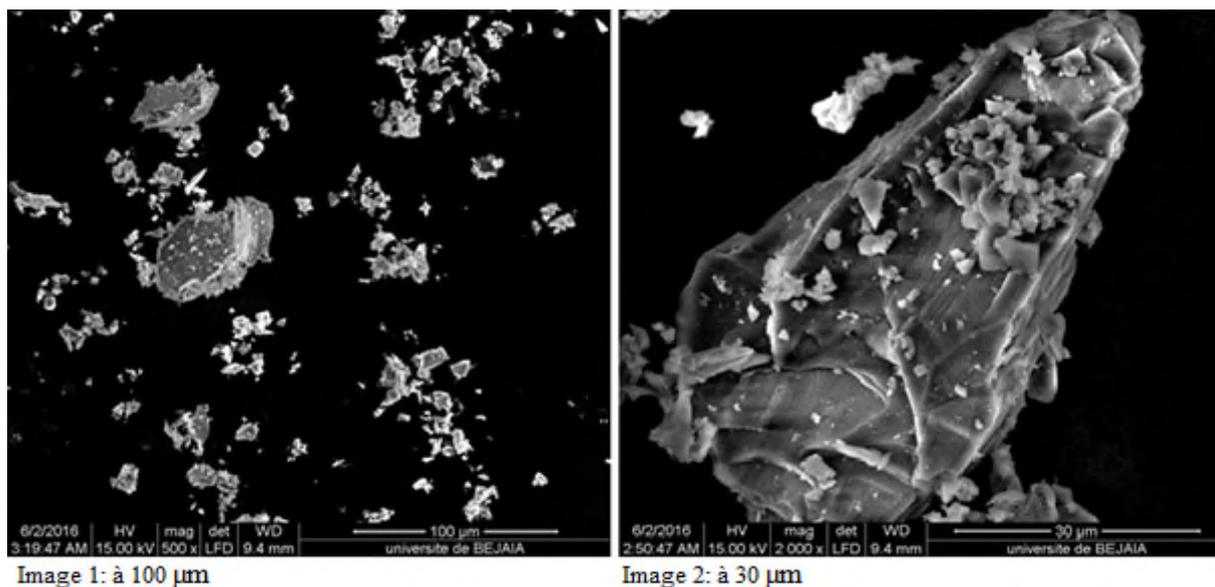


Figure III.4: Observation microscopique à balayage de l'échantillon brut.

III.2. Influence de la composition du milieu sur les bactéries

Le suivi de la cinétique de croissance bactérienne sur les deux milieux de culture de composition différente, a permis d'évaluer l'influence de ce dernier. En effet, les bactéries ensemencées dans le milieu solide (M1), montrent une croissance sous forme de colonies pure et bien distincte (figure III.5). Par ailleurs, les premières colonies formées, sont apparue après une durée d'incubation de plus de 3 semaines, ce qui est un peu long en vue d'une application industrielle.

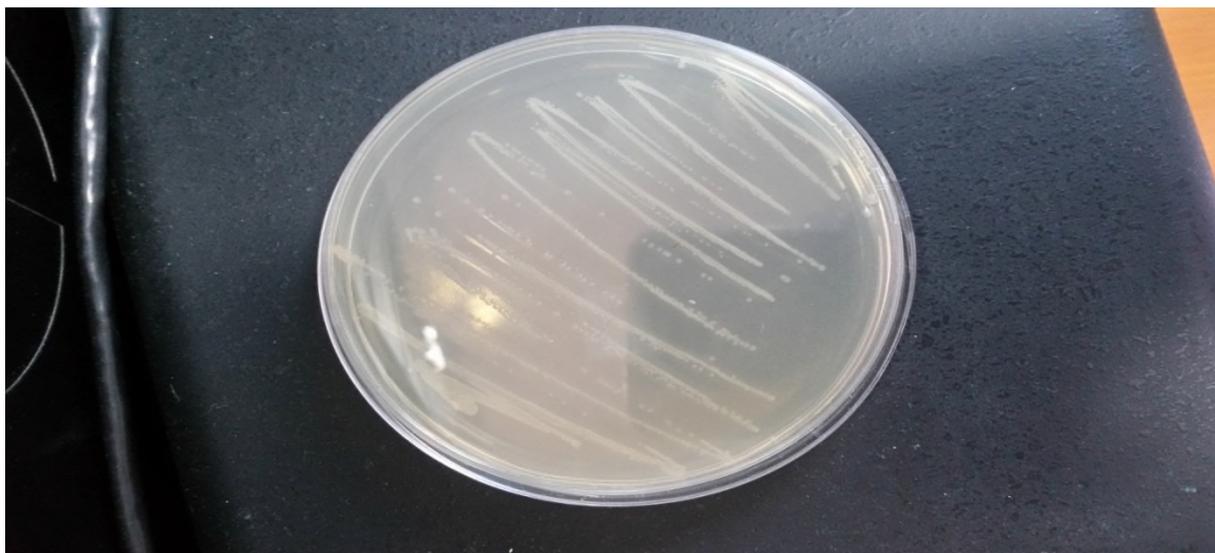


Figure III.5 : Colonies bactériennes obtenus après 03 semaines d'incubation.

[photo prise le 7 mai 2016, au laboratoire 3BS]

En revanche, la durée du temps de latence en milieu sulfate de fer (M2) est bien plus inférieure par rapport au milieu précédent (M1). Les premiers indices indiquant la croissance des bactéries ferroxidantes sont apparus après une durée de 5 jours seulement.

Précédemment indiqué en premier chapitre, Les bactéries ferroxidantes sont chimiolithotrophes puisqu'elles puisent l'énergie nécessaire à leur croissance, par l'oxydation de composés minéraux réduits de fer et de soufre. Cela a été prouvé expérimentalement au laboratoire. En effet La couleur du milieu sulfate de fer marque un virage de couleur allant du vert au jaune, au fur et à mesure que les bactéries oxydent le fer ferreux Fe^{2+} en fer ferrique Fe^{3+} (figure III.6). Ces constatations sont en accord avec les travaux de D. G. Macdonald et R. H. Clark. D'après ces chercheurs, l'oxydation du fer est marquée non seulement par le début de croissance des bactéries libre dans l'inoculum, mais surtout par l'augmentation de leur nombre.



Figure III.6: Changement de la couleur du milieu sulfate de fer après 5 jours d'incubation
[photo prise le 30/05/2016 au laboratoire 3BS]

La culture des bactéries ferroxidantes était plus rapide dans le deuxième milieu (M2), dans lequel se trouvent les substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires, tel que le fer et le soufre. En l'absence de l'un de ces composants, la croissance de

ces dernières peut être inhibée, car elles ne peuvent synthétiser ces éléments. Leur croissance est donc proportionnelle à la concentration en Fer et en Soufre, dont l'appellation de ces derniers facteurs limitant.

III.3. Observations de l'adhésion bactérienne sur les grains de sulfures

Nous avons procédé à des observations microscopiques en vue de mettre en évidence l'adhésion des bactéries aux grains de sulfures (Galène, pyrite, chalcopryrite) lors de nos expérimentations. Ces observations ont été faites par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) après une semaine de biolixiviation. Le minerai est d'abord filtré puis séché à 37°C avant de passer à l'observation (figure III.7).

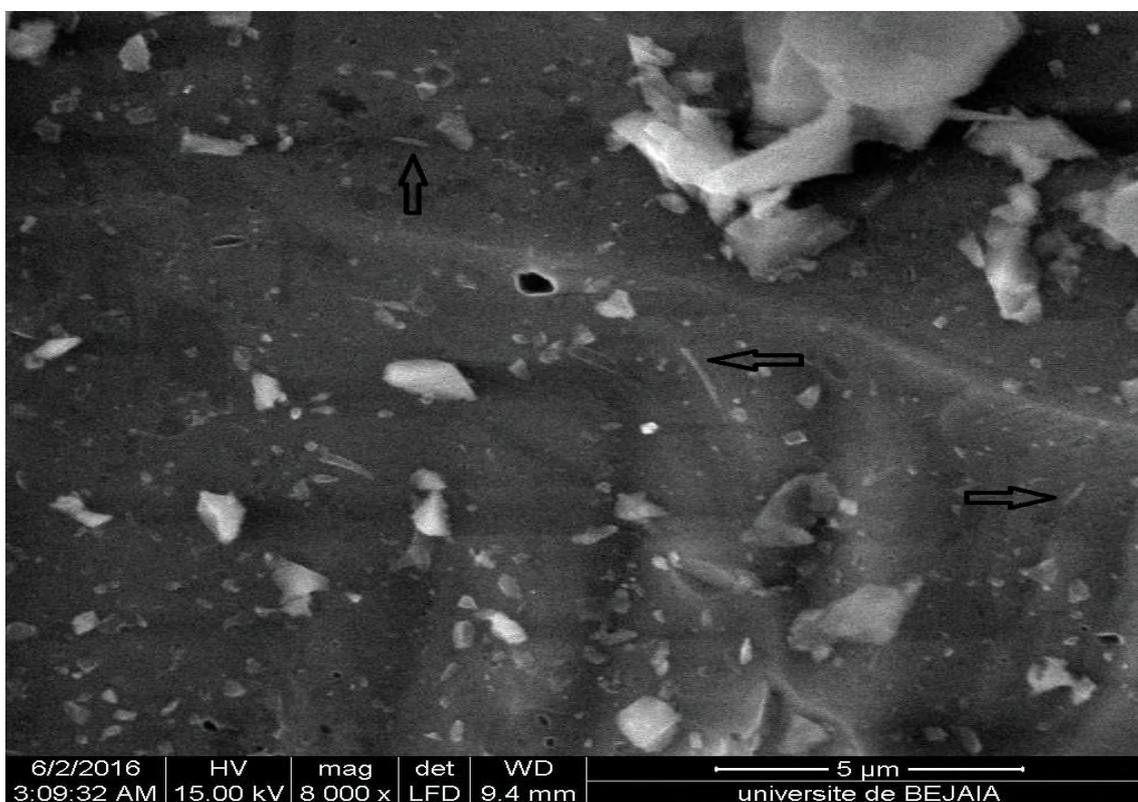


Figure III.7: Image MEB montrant des bactéries fixées sur les grains de sulfures après 5 jours de biolixiviation en système statique

L'interaction directe bactérie-minéral joue un rôle majeur dans les processus de biolixiviation, cela a été démontré au cours des travaux de Pogliani (1990). Sur cette image zoomée à 5 µm, on identifie nettement les bactéries sous forme de bacilles (bâtonné) en contact avec le minéral. L'adhésion de la bactérie au minerai est prouvée par les formes basilienne reconnaissable, témoin de la présence de cette dernière. Cette interface (bactérie-minéral) s'explique par la présence des conditions optimales de la croissance des bactéries

ferrooxidantes. Cependant le processus d'oxydation par le mécanisme de contact a été déclenché. Nos résultats sont donc conformes à ceux obtenue par Guy NKULU WA NGOIE (2012).

III.4. Caractérisation du minerai après biolixiviation

III.4.1. Analyse minéralogique par diffraction des rayons X

L'analyse par diffraction des rayons X a été effectuée sur les échantillons de minerai sulfuré après biolixiviation en système statique et en système dynamique. Cette analyse est réalisée afin de pouvoir évaluer l'influence des bactéries sur le substrat minéral, et déterminer le procédé le plus efficace pour l'oxydation des sulfures. Les résultats d'analyses minéralogiques sont représentés dans les figures (III.8 et III.9)

Les diffractogrammes des rayons X obtenue ont montré des différences significantes entre les deux systèmes de biolixiviation et le minerai brut.

Il ressort de l'ensemble des résultats obtenus les points suivants :

- Une disparition totale des raies caractéristiques des sulfures (galène, pyrite, chalcopryrite) et l'apparition de ceux de la jarosite, après biolixiviation en système dynamique (figure III.8).
- Aucun pic de galène et de chalcopryrite n'apparait après biolixiviation en système statique, par contre les pics de pyrite n'ont pas subi de changement par rapport à ceux observés sur l'échantillon brut (figure III.9).
- Aucune modification n'a été observée sur les raies caractéristiques du quartz.

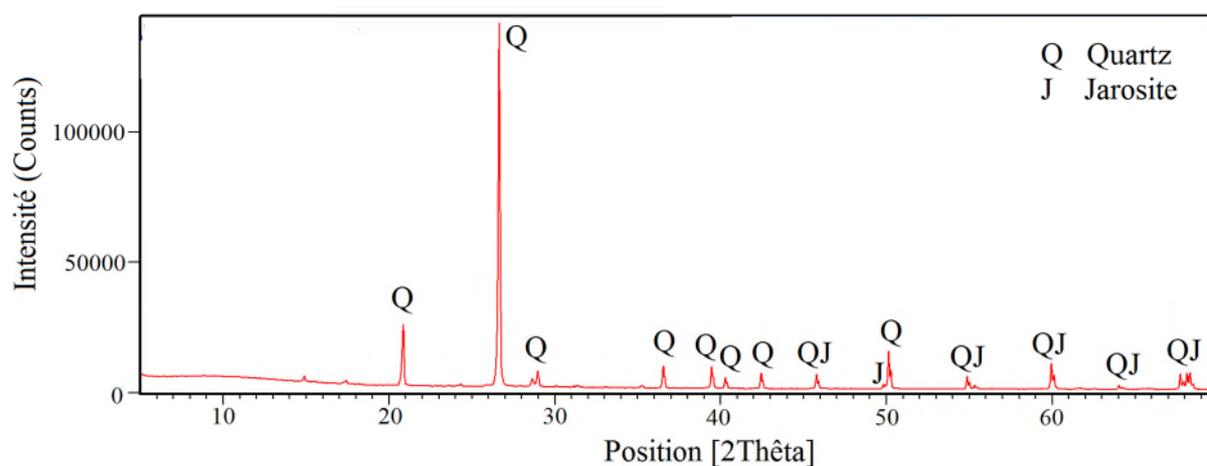


Figure III.8: Diffractogramme RX du minerai après biolixiviation en système dynamique.

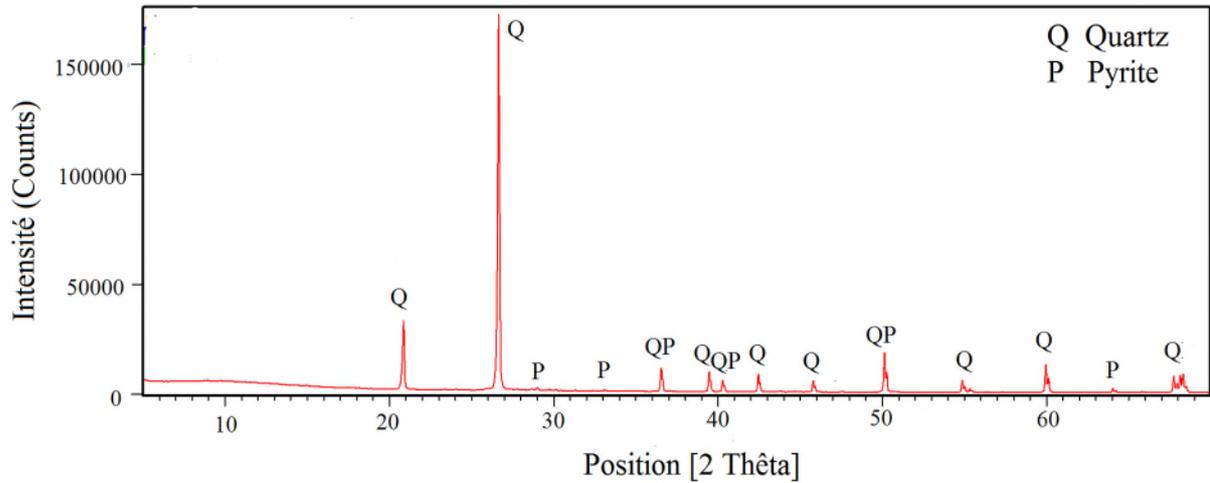
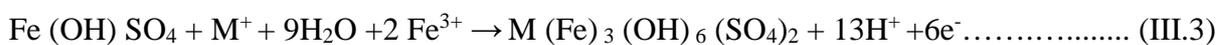


Figure III.9: Diffractogramme RX du minerai après biolixiviation en système statique.

La disparition des pics caractéristiques des sulfures revient à l’oxydation de ces derniers en sulfates soluble par les bactéries ferroxidantes. Si les raies qui caractérisent la pyrite sont toujours observées après biolixiviation en système statique, cela serait dû à la ségrégation des fines particules, provoquant ainsi une diminution de la surface de contact bactérie minéral rendant ainsi l’adsorption impossible, et par conséquent, le fer ferreux ne sera pas totalement oxydé en fer ferrique (responsable de la biolixiviation indirecte).

En système agité on constate l’apparition des spectres caractérisant la jarosite, qui est une espèce minérale constituée à base de sulfate hydraté de fer de formule chimique $X_n(Fe^{3+})_3(OH^-)_6(SO_4^{2-})_2$, où X peut être du sodium, du potassium, de l’argent ou du plomb. [34]. Nos résultats sont conformes avec ceux obtenus par B. NAZARI. Selon ce chercheur, Le fer ferrique qui a été produit par oxydation du fer ferreux peut être hydrolysé en fer ferrique hydroxyde selon l’équation (III.1), ce dernier se combine alors avec les sulfates (formé à partir de l’oxydation des sulfures) pour produire du sulfate de fer hydroxyde (III.2). En présence des cations telle que l’argent et le plomb, le sulfate de fer hydroxyde est converti en jarosite néoformée (III.3)



De ce postulat il est confirmé que la biolixiviation a eu lieu. La disparition d'éléments existants, l'apparition d'autre néoformés par réorganisation ont sont la preuve, comparablement aux travaux de B. NAZARI (2014).

III.4.2. Analyse par spectroscopie Infrarouge

L'analyse par spectrophotométrie Infrarouge, effectuée sur le minerai après biolixiviation, a mis en évidence plusieurs bandes principales, en particulier celles attribuables aux composés soufrés, aux allogènes et aux silicates. Les spectres IR enregistrés après traitement par voie bactérienne, suivant les deux systèmes de biolixiviation, sont reportés sur les figures (III.10, III.11) et les tableaux (III.3 et III.4)

Tableau III.3: Bandes caractéristiques des phases minéralogiques observées en système dynamique.

| Position en cm^{-1} et intensité des bandes | Identification des bandes |
|--|---------------------------|
| 3389,76 (forte) | Amine primaire N-H |
| 2370,14 (très faible) | Acide carboxylique O-H |
| 1623,03 (très faible) | Alcènes C-C |
| 1086,99 (très forte) | Silicates Si-O |
| 678,67 (forte) | Silicates Si-O |
| 696,8 (moyenne) | Sulfures C-S |
| 634,11 (faible) | Halogènes C-Cl |
| 460,12 (très forte) | Disulfures S-S |

Tableau III.4: Bandes caractéristiques des phases minéralogiques observées en système statique.

| Position en cm^{-1} et intensité des bandes | Identification des bandes |
|--|---------------------------|
| 3389,76 (moyenne) | Amine primaire N-H |
| 2370,11 (très faible) | Acide carboxylique O-H |
| 1623,02 (très faible) | Alcènes C-C |
| 1080,59 (très forte) | Silicates Si-O |
| 772,28 (forte) | Silicates Si-O |
| 696,8 (moyenne) | Sulfures C-S |
| 456,28 (très forte) | Disulfures S-S |

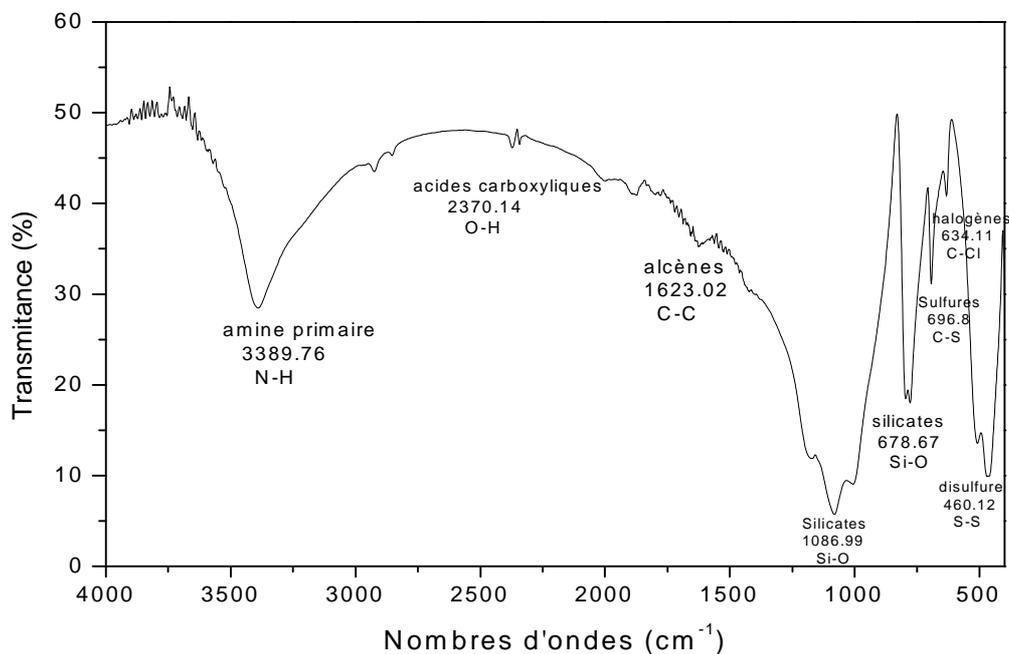


Figure III.10: Spectre infrarouge du minerai après biolixiviation en système dynamique.

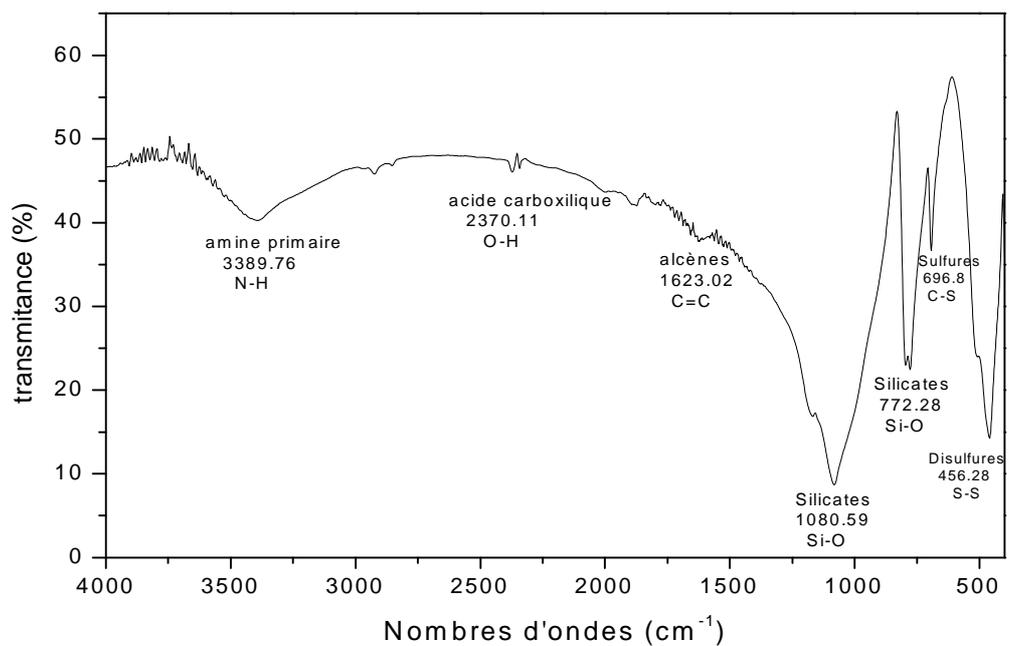


Figure III.11: Spectre infrarouge du minerai après biolixiviation en système statique.

Notons qu'à la fin de la biolixiviation on observe d'une part, la présence des bandes caractéristiques des éléments soufrés et du quartz, d'autre part une augmentation de la concentration en amines primaires dans les deux systèmes de biolixiviation, et l'apparition d'un spectre caractéristique des halogènes en système dynamique.

L'observation des spectres IR caractéristiques du soufre en système statique seraient due à la présence de la pyrite qui n'a pas encore été oxydée par les microorganismes ferroxidants, contrairement à la galène et la chalcopirite. En système dynamique, ce sont les précipités de jarosite néoformés (sulfate hydraté de fer) qui seraient à l'origine de ces spectres.

Les résultats IR nous fournit aussi d'autres informations, en ce qui concernant la nature des déchets métaboliques des bactéries ferroxidantes. En effet, ces résultats nous révèlent que l'évolution de la population bactérienne engendre une excrétion des acides aminés (amines primaire) comme matière organique suite à leur métabolisme, d'où l'augmentation de l'intensité des amines primaires. [29]

Les bandes caractéristiques des amines primaires en système statique sont peu intenses par rapport au système dynamique. Cela revient à l'agitation de ce dernier qui permet d'assurer un mélange homogène de la phase liquide et solide, ainsi qu'une bonne dispersion de la phase gazeuse, et par conséquent la surface de contact bactérie-minéral sera plus importante. Ceci dit les conditions optimales de la croissance des bactéries ferroxidantes dans ce cas sont instauré, le métabolisme de ces dernières sera donc plus important.

III.4.3. Visualisation au microscope électronique de l'attaque bactérienne des sulfures

L'attaque bactérienne des sulfures a été visualisée par une observation au microscope électronique à balayage sur des particules après une semaine de biolixiviation en système statique et en système dynamique.

Les prises de vues au microscope électronique réalisées auparavant sur le minerai brut montrent une composition hétérogène, allant de grosses particules à de très nombreuses petites particules. En revanche, sur les échantillons issus après la biolixiviation, on constate une disparition presque totale des petites particules (figure III.11 et III.12). Cette différence doit refléter l'oxydation bactérienne des petites particules de galène, chalcopirite et pyrite. Ces résultats sont confirmés donc par ceux obtenue par Christine ROUAS (1988), ayant prouvé l'oxydation des petites particules de (galene, chalcopirite, pyrite) en premier lieu de la biolixiviation.

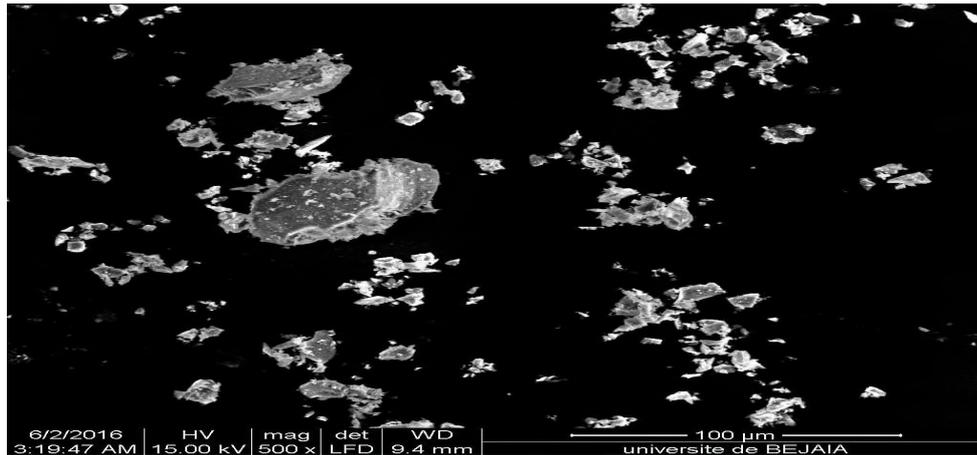


Figure III.12: Observation microscopique à balayage électronique des particules avant biolixiviation.

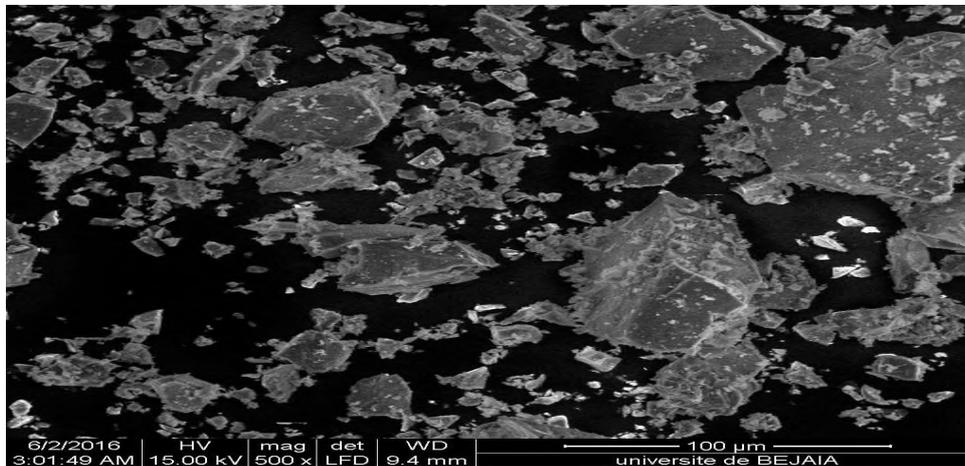


Figure III.13: Observation microscopique à balayage électronique des particules après biolixiviation en système dynamique.

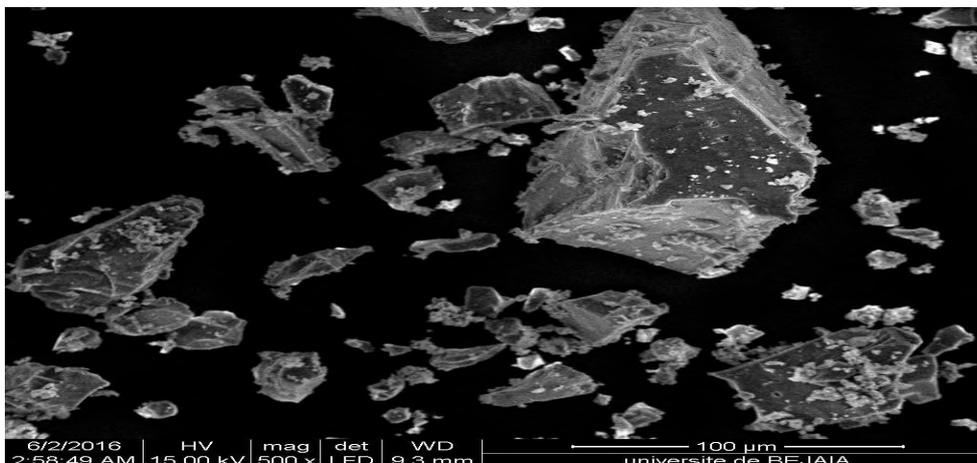


Figure III.14: Observation microscopique à balayage électronique des particules après biolixiviation en système dynamique.

Une étude comparative entre les deux systèmes de biolixiviation, à partir de ces images (MEB) permet de constater que le système agité favorise la biolixiviation. Comme le montrent les figures précédentes, Les petits grains de sulfures dans ce cas-là sont quasi absents, contrairement à ceux obtenus en système statique où on peut constater la présence de certaines petites particules qui n'ont pas encore été oxydées par les bactéries.

Cependant cette différence est due à l'homogénéisation du milieu. Une agitation continue est favorable à la répartition optimale des bactéries sur toute la surface du minerai à biolixivier, et cela du fait que ces dernières en forme de bacille sont dotées de flagelles permettant une mobilité en milieu liquide. Ceci dit le processus en mode statique limite la répartition des bactéries et concentre l'adhésion en certaines parties au détriment des autres.

Lorsqu'on observe les grosses particules de sulfure à plus grande échelle (5 μm), on peut constater les dégradations occasionnées par les bactéries sur ces grains (figure III.14 et III.15). Après une semaine de biolixiviation, des trous (pores) se sont développés à la surface de ces derniers. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par MONROY FERNANDEZ (1993).

Les pores obtenus après l'attaque bactérienne ont pour origine la disparition d'éléments qui les remplissaient auparavant. Il s'agit de la galène, chalcopryrite, pyrite et galène, chalcopryrite respectivement en système dynamique et statique, après biolixiviation. Le départ de ces éléments a engendré des sites (endroits érodés, agressés après appauvrissement du minerai).

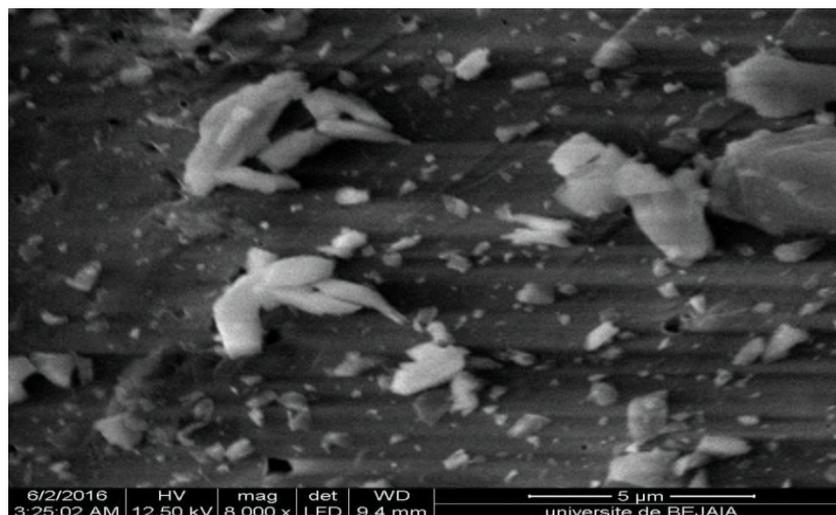


Figure III.15: Observation microscopique à balayage électronique montrant l'absence des pores sur l'échantillon brut.

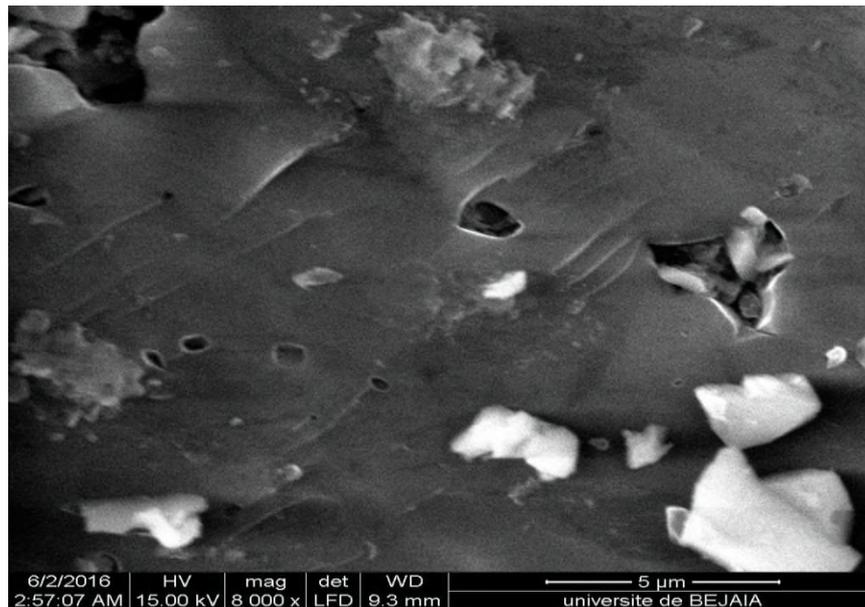


Figure III.16: Observation microscopique à balayage électronique montrant le développement des pores en système dynamique.

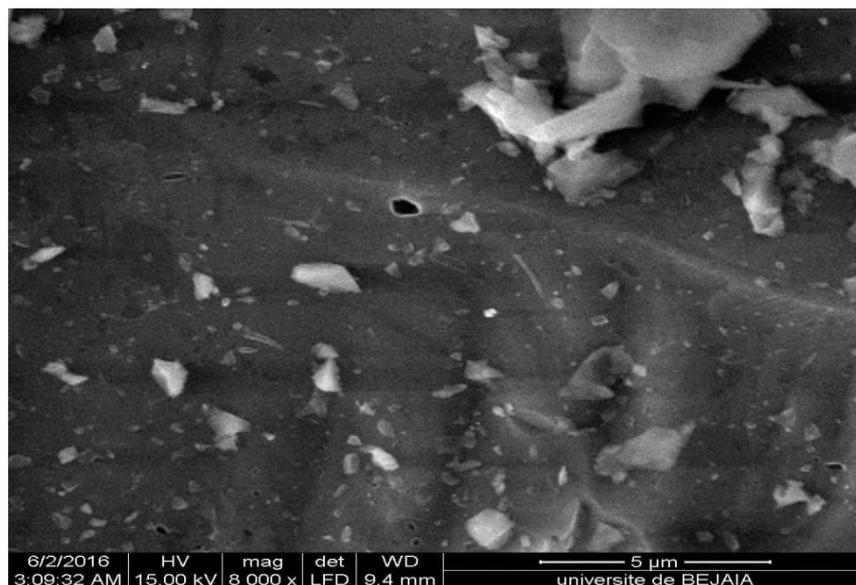


Figure III.17: Observation microscopique à balayage électronique montrant le développement des pores en système statique.

Si on compare entre l'image MEB obtenue en système statique et en système dynamique, on remarque que les pores sont plus nombreux et plus développés dans le deuxième cas. De là, on peut confirmer que la biolixiviation est favorisée en système dynamique. Cela est dû à l'homogénéité du milieu maintenue en agitation, donnant la chance aux bactéries ferroxidantes de balayer toute les surfaces présentes.

III.5. Dosage du fer ferreux au cours de la biolixiviation

Les bactéries ferrooxydantes extraient l'énergie nécessaire à leur croissance de l'oxydation du fer ferreux Fe^{2+} en fer ferrique Fe^{3+} , qui est l'un des plus fort agent oxydant. La présence du fer en solution favorise donc la biolixiviation des sulfures par le mécanisme indirect.

Afin de pouvoir suivre la cinétique d'oxydation du minerai, les concentrations en ions ferreux (Fe^{2+}) ont été mesurées toutes les 72 heures, en système statique et dynamique. Le dosage a été réalisé par spectrophotométrie à usage de la phénantroline, ce dernier convient bien à cette détermination, il forme un complexe rougeâtre avec le fer ferreux (figure III.18).

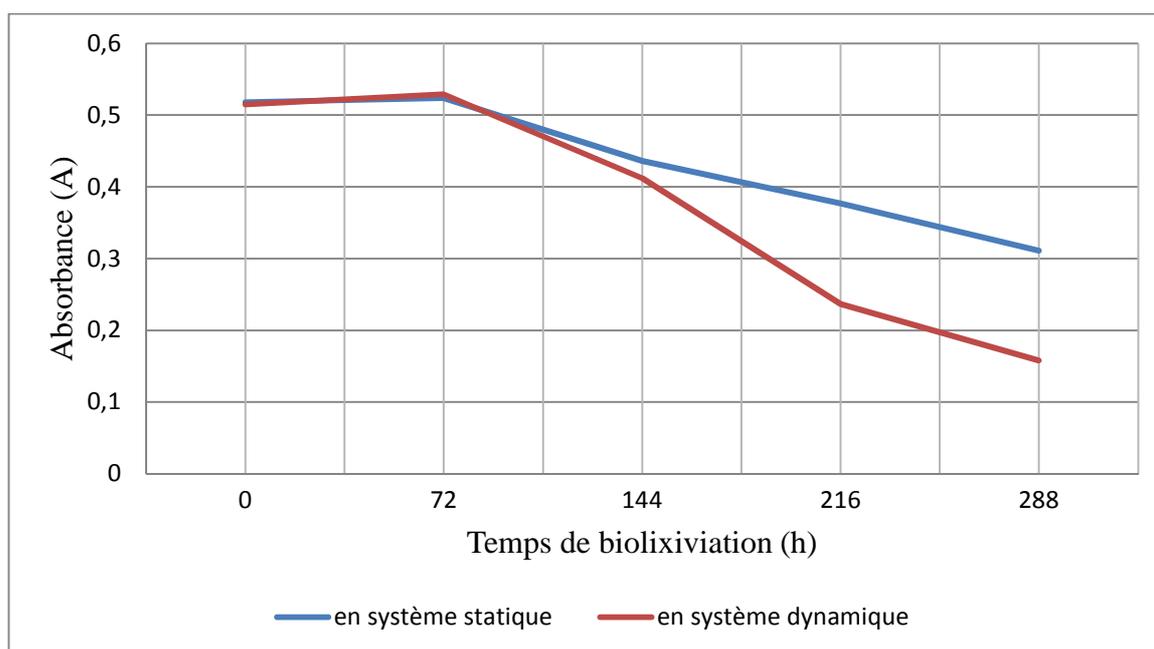


Figure III.18: Détermination des ions Fe^{2+} par la méthode à la phénantroline. [Photo prise le 25/05/2016 au laboratoire 3BS]

La coloration se développe en quelques minutes et est stable pendant de longues périodes. La lecture de la densité optique est faite au moyen d'un spectrophotomètre ultraviolet à 510 nm [33]. Les valeurs obtenues sont exprimées en fonction du temps par la représentation graphique (figure III.19) et le tableau III.5.

Tableau III.5: Mesure de l'absorbance du fer ferreux au cours de la biolixiviation.

| Temps (h) | 0 | 72 | 144 | 216 | 288 |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance en milieu statique | 0,518 | 0,524 | 0,436 | 0,377 | 0,349 |
| Absorbance en milieu dynamique | 0,515 | 0,526 | 0,412 | 0,237 | 0,131 |

**Figure II.19:** Variation de l'absorbance du fer ferreux au cours de la biolixiviation.

Au début de l'essai, une légère augmentation des concentrations en ions ferreux a été observée. Dans un premier temps, le fer en solution provient de l'inoculum, puis au cours de l'essai, il est additionné à la dissolution des minéraux de fer présents dans l'échantillon traité. Selon KITOBO SAMSON (2009), l'augmentation des concentrations du fer en solution revient à l'action directe de l'acide H_2SO_4 (ajouté auparavant au milieu de culture) sur le minerai. Selon le même auteur le fer ferreux Fe^{2+} est soluble à $pH < 2$, par contre à pH basique (>9) c'est le fer ferrique (Fe^{3+}) qui devient soluble.

Au cours de la biolixiviation (à partir de 72 heures) une diminution des concentrations en fer ferreux a été observée. Dans ce cas, ce sont les microorganismes ferrooxidants, qui oxydent le fer ferreux en fer ferrique, ce qui favorise la biolixiviation des sulfures par le mécanisme indirect.

Le taux d'oxydation du substrat sulfuré est directement lié à la concentration du fer ferrique en solution. D'après la littérature la concentration en fer ferreux est inversement proportionnelle à celle du fer ferrique augmente. En se référant à la courbe précédente, la concentration des ions Fe^{3+} durant la biolixiviation en système dynamique est donc plus élevée par rapport aux concentrations obtenues en système statique, ce qui justifie les résultats obtenue par les analyses effectuées auparavant (diffraction des rayons X, Microscopie à balayage électronique et spectroscopie infrarouge).

CONCLUSION

La biolixiviation des sulfures métalliques est un processus au cours duquel les acteurs principaux que sont la bactérie, le minéral et la solution forment un système très complexe. Les résultats obtenus par la méthode de traitement par voie bactérienne, nous ont permis de déterminer le type de procédé qui optimise le rendement d'oxydation des sulfures, et de mettre en évidence son influence sur le processus global de biolixiviation.

L'analyse de l'ensemble des résultats montre que la composition du milieu de culture serait un paramètre important qui influe sur le temps de latence, et par conséquent sur le processus de biolixiviation. Cependant, l'oxydation du fer et du soufre lors du processus de lixiviation par voie bactérienne est fortement liée au processus de traitement appliqué. Les résultats obtenus montrent que l'oxydation des sulfures en système dynamique est favorisée par rapport au système statique. Ainsi une oxydation préférentielle de la galène est obtenue en présence de pyrite ce qui entraîne une formation d'une autre substance minérale qui est la jarosite.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif initial de cette étude est de permettre la récupération des métaux de valeurs à partir des minerais sulfurés, par l'application d'une technique mettant en évidence les propriétés qu'ont certains microorganismes à dégrader le soufre. Ce type de traitement devant entraîner des coûts d'investissement et opératoires moindres que le traitement conventionnel par hydrométallurgie, il pourrait autoriser la valorisation de gisements jugés jusqu'à maintenant non rentables.

La plupart des milieux de culture classiques pour la croissance bactérienne ne sont pas applicables sur les bactéries ferroxidantes. Nous avons donc dans un premier temps étudié possibilité de réduire le temps de latence, Par la mise au point d'un nouveau milieu spécifique à ces dernières, et qui contient les substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires, tel que le fer et le soufre.

A l'échelle industrielle, les procédés en système dynamique sont généralement plus efficaces et plus faciles à conduire que les procédés en système statique. Des expériences de biolixiviation suivant ces deux systèmes différents ont été réalisées, afin de mettre en évidence le meilleur procédé permettant l'oxydation totale des sulfures. L'ensemble des résultats obtenus montrent que l'utilisation de la méthode statique ne semble pas souhaitable en vue d'une application industrielle, le meilleur rendement d'oxydation des sulfures a été obtenu en système dynamique. En revanche, seules des données d'ordre économique permettront de déterminer le procédé optimal en tenant compte des coûts d'investissement et de fonctionnement du réacteur qui sont liés à la vitesse d'oxydation des sulfures.

Afin de bien comprendre les mécanismes qui régissent la biolixiviation que ce soit par le mécanisme direct ou indirect, Nous avons procédé à des observations microscopiques (MEB) en vue de mettre en évidence l'adhésion des bactéries aux grains de sulfures, et mesurer la cinétique d'oxydation du fer ferreux en fer ferrique.

L'autre objectif de ce travail était la réduction de l'impact environnemental des cyanures principalement utilisés pour la mise en solution de l'or dans le procédé hydrométallurgie. Les résultats obtenus lors de ce projet laissent donc espérer une meilleure gestion des rejets polluants et toxiques de cyanures, tout en limitant les coûts d'investissement.

PERSPECTIVES

Au vu de ce qui précède et tenant compte de la littérature, nous proposons que la suite de ce travail peut y avoir axée sur les points suivants :

- Influence de la variation de la température et du pH sur la croissance des microorganismes ferroxidants.
- Influence de la granulométrie sur la biolixiviation
- Effet de l'ajout du Fe^{2+} et/ou Fe^{3+} initial en solution sur l'oxydation des sulfures par le mécanisme indirect
- Effet de l'ajout du CO_2 et de l' O_2 dans les réacteurs sur la biolixiviation.
- Faire des études de rentabilité et de faisabilité du procédé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-
- [1] **Fabienne Battaglia-Brunet**, Microflore bactérienne des milieux riches en métaux et métalloïdes. Life Sciences. Université de Provence - Aix-Marseille I, 2010. (30 Sep 2011).
- [2] **M.BAGHLI Hichem et M.BENABBOU Oussama**, Méthodologie d'approche de l'indice uranifère abalekane: De l'aérospectrométrie jusqu'à sa valorisation: Bassin de Tin Séririne, Hoggar, Algérie, Mémoire de fin d'étude, géoressources université de Tlemcen 2014. p 7.
- [3] **Aline GRATIEN**, Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur en sciences spécialité «science de l'Univers et de l'Environnement», Spectroscopie ultraviolet-visible et infrarouge de molécules clés atmosphériques (2008).
- [4] **A. Semiani**, Métallogénie de la zone de cisaillement aurifère est-ouzzalienne: structure, pétrologie et géochimie des gisements D'or de Tirek et Amesmassa (Hoggar Occidental, Algérie), Géoscience, Renne, Mémoire 1996. p12.
- [5] **MOISAN M. et BLANCHARD F**, Utilisation de la cyanuration dans l'industrie aurifère en Guyane. Impact potentiels sur l'environnement et recommandation. Rapport final BRGM/RP-61968-FR (Février 2013). p 21-24.
- [6] **Nieves Iglesias and Francisco Carranza**, Refractory gold-bearing ores: a review of treatment methods and recent advances in biotechnological techniques, Hydrometallurgy, 34 (1994) 383-395 Elsevier Science B.V., Amsterdam (March 1993). p 393.
- [7] **Pazdniakov** Rapport de fin des travaux sur l'évaluation de gisement d'Amesmassa avec récapitulation des réserves, volume I, Office National De Recherche Géologique Et Minière, (ORGM) (1993). p 4-28.
- [8] **Pokrovski G.S**, Sulfur radical species form gold deposits on Earth. Proceedings of National Academy of Science (PNAS), in press. (2015).
- [9] **Jérôme Gouin**. Mode de genèse et valorisation des minerais de type black shales: cas du Kupferschiefer (Pologne) et des schistes noirs de Talvivaara (Finlande). Mineralogy. Université d'Orléans, 2008. p 68-70.
- [10] **S. Syed**, Hydrometallurgy, volume 115-116 (2012) p 30–51.

- [11] **Jean-Louis VIGNES et Yves JEHANNE**, L'hydrométallurgie, Vol.97– (Octobre 2003).P 1281.
- [12] **Marcos Gustavo Monroy Fernandez**, Thèse présentée à l'institut national polytechnique de lorraine, Biolixiviation-cyanuration de minerais sulfurés aurifères réfractaires en dispositifs de percolation: Comportement des populations de *Thiobacillus Ferrooxidans* et influence de la minéralogie et des conditions opératoires (22 juin1993). p 30-61.
- [13] **Valérie TONIAZZO**, Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université: Henri-Poincaré, Nancy 1 en Géo microbiologie, Approche des mécanismes d'oxydation de la pyrite par *Thiobacillus Ferroxydans* grâce à la modélisation morpho chimique de la surface minérale: rôle fondamental des phases superficielles oxydées (le 10 février 1998). p 7-13.
- [14] **Rupert Hochleitner**, Adaptation française par Jean-Peaul Poirot, 300 roches et minéraux (2010). p 39.
- [15] **Ronald L. Bonewitz**, Roches et minéraux du monde, Delachaux et Niestlé, 2005 paris (p 120).
- [16] **Pierfranco Lattanzi**. Economic Minerals: A Review of their Characteristics and Occurrence, GEOLOGY – Vol. IV.
- [17] **Pokrovski G.S**, Sulfur radical species form gold deposits on Earth. Proceedings of National Academy of Science (PNAS), in press. (2015).
- [18] **Pierre BLAZY, Al-Aid JDID**, Métallurgie de l'or, procédé, technique d'ingénieur. (2013) p 2-3.
- [19] **Jean-François Wilhekny, M.Sc**, Caractérisation minéralogique préliminaire, Projet Cadillac Extension. p 3.
- [20] **Veiga, M. M. et R. Baker**. Protocols for Environmental and Health Assessment of Mercury Released by Artisanal and Small-scale Gold Miners. Publié par le Projet mondial FEM/PNUD/ONUDI sur le mercure, Vienne. (2004). p 2.
- [21] **Heinen, Harold J**, Processing gold ores using heap leach carbon adsorption methods / by H. J. Heinen, D. G. Peterson, and R. E. Lindstrom. [Washington]: U.S. Dept. of the Interior. Bureau of Mines, (1978). p 8.

- [22] **JESSICA EGAN**, Effet de la granulométrie sur la cyanuration de l'or, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en génie de la métallurgie pour l'obtention du grade de maître en sciences (M. Se.), (Décembre 2007). p 3-11.
- [23] **Res.J.Recent Sci**, Research Journal of Recent Sciences, ISSN 2277-2502 Vol. 1(10), October (2012). p 85-99.
- [24] **Guy NKULU WA NGOIE**, Thèse de doctorat en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Ingénieur, Biolixiviation de la carrolite–Applications aux minerais sulfurés polymétalliques de l'Arc Cuprifère du Katanga en République Démocratique du Congo (RDC) (Cas des minerais de la mine de Kamoya/Kambove) (Novembre 2012). p 22-50.
- [25] **W.Schumann**. Minéraux et roches: caractéristiques, gisements, utilisations, édition Vigot. Paris, guide vigot de la nature, 1 vol. (2004) (p 124).
- [26] **K. Nowaczyk, A. Juszczak, F. Domka, J. Siepak**, Polish Journal of Environmental Studies Vol. 7, No. 5 (1998), The Use of *Thiobacillus Ferrooxidans* Bacteria in the Process of Chalcopyrite Leaching,(17 June 1998). P 307-312
- [27] **M. Bruschi, C. Cavazza, Marie**, Thèse Giudici-Ortoni, Biooxydation de minéraux sulfurés et dissolution de métaux par la bactérie acidophile: *Thiobacillus Ferrooxidans*, sciences et techniques -N°4- (Décembre 1996).
- [28] **Christine ROUAS**. Thèse de doctorat de l'université (biologie cellulaire-microbiologie), production de solutions de sulfate ferrique par *Thiobacillus Ferrooxidans* à partir de pyrite, application à la lixiviation d'un minerai d'uranium, université d'Aix Marseille I (21 décembre 1988). p 6-22.
- [29] **Pascale Vachon B. Sc.** Microbiologie, Mémoire présenté à l'Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau), Essai de lixiviation de l'aluminium contenu dans les boues rouges par voies chimique et biologique, Université du Québec (avril 1992). p 12-16.
- [30] **Madigan. M, Martinko. J, Parker. J**, Biology of microorganisms Brock, 8th ed., (1997). p 661-663.

- [31] **A. Michael Charles**, Mécanisme d'oxydation Thiosulfate par *Thiobacillus Intermedius*, Archives de biochimie et de biophysique Volume 129, Issue 1, (Janvier 1969), (p 124-130).
- [32] **Thomas D. Brock, Katherine M. Brock Robert T. Belly, Richard L. Weiss**, Article Archive Microbiology, Sulfobus: A new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature (March 1972). Volume 84, Issue 1, p 54-68.
- [33] **Stéphane PICHER**, Mémoire présenté pour l'obtention du grade de (M.Sc.), Université du Québec Institut national de la recherche scientifique Eau, Terre et Environnement, Utilisation d'effluents riches en matière organique comme milieux de culture lors de la biolixiviation de sulfures métalliques (2001). p 5-9.
- [34] **B. NAZARI**, Formation of jarosite and its effect on important ions for *Acidithiobacillus ferrooxidans* bacteria /Trans. Nonferrous Met. Soc. China 24(2014) P 1152–1160.
- [35] **Max Bugnicourt**, Ellipses / dictionnaire de microbiologie générale, édition marketing S.A., 1995 32 Rue Bague, paris (15°).
- [36] **Ingénieur W. LEMAIRE, Ir I. DUNLOP, Ir C. CHARLIER, GRAMME** – Liège, Etude du procédé de flottation pour l'extraction d'or, Revue Scientifique des Ingénieurs Industriels N°26, (2012).p 160-162.
- [37] **Peter Wiltje Uitterdijk Appel, Leoncio Degay Na-Oy**, Mercury-Free Gold Extraction Using Borax for Small-Scale Gold Miners, Journal of Environmental Protection, (2014), p 493-499.
- [38] **Pierre BLAZY**, Métallurgie de l'or - Propriétés, économie et ressources, techniques de l'ingénieur, 2012. p 2-4.
- [39] **Brahim Tegn Et Recep Z YADANO GULLARI**, L'effet du processus sulfuration sur flottation du minerai de cuivre contenant de l'or et l'argent Journal of Minerals & Materials Caractérisation & Engineering, Vol.7, N°3, (2008). p 193-202.
- [40] **René MICHEL**, Métallurgie de l'or, Techniques de l'ingénieur traité Matériaux métalliques (2012) p 3.
- [41] **CHRISTELLE NOT**, Caractérisation de l'oxydation du fer ferreux en présence de deux bactéries ferro-oxydantes neutrophiles, du champ hydrothermal de loihi, hawaï, (mars 2006) p 19.

- [42] **W. Stange**, The process design of gold leaching and carbon-in-pulp circuits, The Journal of The South African Institute of Mining and Metallurgy January/February 1999. p 13-16.
- [43] **Christophe Aronica**, Diffraction des rayons x: Techniques et études des structure cristallines, publié par catherine simand, 28/10/2009. p 2.
- [44] **Cécile FONTANGE, Fabien CHAUCHARD**, Introduction à l'apport des techniques proche infrarouge pour le contrôle des procédés de l'industrie pharmaceutique et démarche PAT, SPECTRA ANALYSE N° 269 Septembre - Octobre 2009.
- [45] **Luc Beaunier et Stephan Borensztajn**, La Microscopie électronique à balayage: une loupe puissante, journal N°117-2000 p 11-14.
- [46] **H. Marchandin**, PHYSIOLOGIE BACTÉRIENNE Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes, Janvier 2007.
- [47] **Rabah CHABBI**, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister (Ecole Doctorale), Caractérisation des bactéries isolées à partir du genre *Trigonella* L. (Légumineuses) poussant dans différents écosystèmes de l'Est algérien. Université Mentouri Constantine Faculté des sciences de la nature et de la vie 14/01/2010. p 38.
- [48] **Ismaël B**, Isolement et identification de microorganismes indigènes de cacaoyères en Côte d'Ivoire et mise en évidence de leurs effets antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses. sciences & Nature Vol.6 N°1: p 71 - 74(2009).
- [49] **D.G. MACDONALD and R.H. CLARK**, Oxidation of aqueous ferrous sulphate by *thiobacillus ferrooxidans*, the Canadian journal chemical Engineering.
- [50] **François Godard**, En vue de l'obtention du grade de maitre des sciences appliquées, cinétique d'oxydation du fer ferreux par *thiobacillus ferrooxidans* en culture libre et en biofilm, universite de Montreal (Aout 1987) p 24.
- [51] **Willy KITOBO SAMSON**, Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'ingénieur, Dépollution Et Valorisation Des Rejets Miniers Sulfurés Du

Katanga « Cas des tailings de l'Ancien Concentrateur de Kipushi » Université de Liège,
(Juillet 2009) p 69.

[52] **N. Marchal, j.l bourdon, drichard**, les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, Doin Editeur, 8, place de l'odéon, 75006 Paris. p 48.

ANNEXES

Résumé

Historiquement, le métier de la mine a toujours été associé à une unité de concentration physique et/ou chimique qui permettait aux espèces minéralisées de valeur contenue dans le tout-venant, d'atteindre des niveaux de teneur suffisamment élevées pour en faire des pré-concentrés, et permettre ainsi leur commercialisation et leur transport d'une façon économique. Les grands enjeux techniques et technologiques sont situés actuellement dans le traitement des matières difficiles, dont les espèces minéralisées sont soit inaccessibles, soit inadaptées pour le traitement par les techniques classiques ou encore extrêmement difficiles à récupérer pour lesquels il faut envisager des technologies de pointes pour les mettre en solution, les concentrer, les purifier, les séparer et les récupérer.

La révolution des biotechnologies a fait réfléchir les scientifiques à faire travailler les microorganismes naturellement présents dans certaines minéralisations pour servir la cause de l'industrie minière. Le développement de la biohydrométallurgie vient en alternative pour les techniques communément utilisées et qui sont lourdes en terme de consommation d'énergie, d'investissement et de pollution.

Mots clés : BioHydrométallurgie, Biolixiviation, Bactéries ferooxidantes,

Abstract

Historically, the craft of mine has always been associated with a physical unit of concentration and/or chemical that allowed mineralized cash value contained in the all-comers, to reach levels high enough content to make pre-concentrated, and allow their marketing and transport economically. The great technical and technological issues are currently located in processing difficult materials, including mineralized species are either inaccessible or unsuitable for treatment by conventional techniques or extremely difficult to recover for which we must consider advanced technologies for to solution, concentrate, purify, separate and recover.

The biotechnology revolution has reminded scientists to work microorganisms naturally present in some mineralization to serve the cause of the mining industry. The development comes biohydrometallurgy alternative for techniques commonly used and are heavy in terms of energy consumption, investment and pollution.

Keywords: Biohydrométallurgy, Bioleaching, bacteria ferooxidans.