

## Étude biogéochimique de la production du cuivre par la recherche de *Thiobacillus ferrooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans*

Banza K P<sup>1</sup>, Maryabo K<sup>2</sup>, Kasamba E<sup>3</sup>, Ndibualonji B.B<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Institut supérieur des Techniques Médicales de Lubumbashi, B.P. 4748, Lubumbashi, R.D. Congo

<sup>2</sup> Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Lubumbashi, B.P. 1825, R.D. Congo

<sup>3</sup> Faculté de Médecine, Université de Lubumbashi, B.P. 1825, R.D. Congo

Correspondance : BANZA KATOLO PATRICK Tel:+243995605330, E-mail : [patrickbanzakatolo@gmail.com](mailto:patrickbanzakatolo@gmail.com)

Original submitted in on 20<sup>th</sup> December 2017. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 28<sup>th</sup> February 2018  
<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v122i1.5>

### RESUME

**Objectifs** : L'objectif de cette étude était de rechercher une éventuelle présence de bactéries Ferrooxydantes, en particulier les *Thiobacillus* et les *Leptospirillum*, et d'évaluer leur contribution dans la lixiviation des minerais de cuivre.

**Méthodologie et résultats** : Nous avons sélectionné deux types d'échantillons de la solution de lixiviation : le filtrat de la pulpe et la pulpe. Chaque échantillon a été ensemencé sur le milieu thioglycolate resazurine et repiqué sur gélose au sang en anaérobiose. Aucune des deux bactéries recherchées n'a poussé dans le filtrat de la pulpe tandis que *Thiobacillus ferrooxidans* a été isolé dans le solide de la pulpe. L'influence de la température et du pH de 1,5 au cœur du terril a varié suite à l'activité de la chaleur microbienne, ainsi que les sources d'énergies pour la croissance microbienne qui étaient favorables au développement de *Thiobacillus* et défavorables au développement de *Leptospirillum* qui croît seulement sur le Fe<sup>2+</sup> et à un pH très acide, inférieur à 1, dans la lixiviation des minerais du cuivre.

**Conclusion et applications** : Dans notre étude sur les transformations chimiques réalisées par les organismes vivants (biogéochimie) dans la lixiviation du cuivre, seul *Thiobacillus ferrooxidans* a été détecté. La lixiviation est surtout employée dans le cas des minerais du cuivre, car le sulfate de cuivre formé pendant l'oxydation des minerais de sulfure de cuivre est très soluble dans l'eau. Cependant, *Acidithiobacillus* et d'autres procaryotes métallo-oxydants peuvent catalyser l'oxydation des sulfures minéraux à un taux plus élevé, contribuant ainsi à la mise en solution du métal.

**Mot-clés** : lixiviation, cuivre, métallo-oxydants, anaérobiose, pulpe.

## ABSTRACT

### Biogeochemical study of the copper production by the research of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*

**Objectives:** The objective of this study was to investigate for a possible presence of iron oxidizing bacteria, in particular Thiobacilluses and leptospirillum, and to evaluate their contribution in the lixiviation of copper ores.

**Methodology and Results :** Two types of samples were selected from the solution of lixiviation : the pulp's filtrate and the pulp. Every sample has been sowed on the thioglycolate resazurine medium and planted out on blood gelose in anaerobic. None of the two studied bacteria grew in the pulp's filtrate while *Thiobacillus ferrooxidans* was isolated in the pulp's solid. The temperature influence and the pH of 1,5 to the heart of the slagheap varied following the activity of the microbial heat, as well as the energy sources for the microbial growth that were favorable for the development of *Thiobacillus* and unfavorable for the development of *Leptospirillum* which only grows on the Fe<sup>2+</sup> and to a very acidic pH, lower to 1, in the lixiviation of copper ores.

**Conclusion and applications :** In our study on the chemical transformations achieved by the living organisms in the lixiviation of the copper, only *Thiobacillus ferrooxidans* has been detected. The lixiviation is especially used in the case of copper ores, because the formed copper sulphate during the oxidization of the copper sulphide ores is very water-soluble. However, *Acidithiobacillus* and other metal-oxidizing procaryotes can catalyze the oxidization of the mineral sulphides to a higher rate, contributing thus to the setting in solution of metal.

**Keywords :** lixiviation, copper, metal oxidizing, anaerobic, pulp.

## INTRODUCTION

L'étude des transformations chimiques réalisées par les organismes vivants à la surface du globe ont laissé leurs empreintes sur l'évolution des êtres vivants et tenter de les deviner. C'est un sujet passionnant auquel s'attachent des géologues, des géophysiciens et des biologistes. Un certain nombre d'hypothèses fondées sur les observations pluridisciplinaires contemporaines forment la base des réflexions (Pelmont, 2000 ; Madigan et Martinko, 2007). Historiquement, par sa complexité, le sol en tant qu'habitat a défié notre compréhension de son environnement. Un géologue décrirait celui-ci comme la roche désagrégée, combinée avec de la matière organique (Jambon et Thomas., 2009). Un agronome attirera l'attention sur le sol, support de la vie végétale (Pomerol et coll., 2006). Cependant un écologiste microbien et un biologiste savent que la formation de la matière organique et la croissance des plantes dépendent de la communauté microbienne qui se trouve dans le sol (Tortora et Coll., 2012). Il existe deux groupes écologiques importants des bactéries, les sulfo-oxydantes et les ferroxydantes : celles qui vivent à pH neutre et celles qui vivent à pH acide. Les bactéries ferroxydantes les mieux connues sont les *Acidithiobacillus ferroxydans* et les *Leptospirillum*

*ferroxydans*. Toutes deux croissent en autotrophe en utilisant le fer ferreux comme donneur d'électrons et peuvent croître à des pH inférieurs à 1. Ces organismes sont très communs dans les environnements soumis à des pollutions acides comme les déchets de mines (Prescott et Coll., 2003). Les *Thiobacillus* et les espèces proches comptent plusieurs espèces bactériennes gram négatif en forme de bâtonnets. Au point de vue phylogénétique, les espèces du genre *Thiobacillus* se répartissent au sein des protéobactéries avec des espèces appartenant aux sous-divisions alpha, bêta, gamma. Ce sont de bactéries d'ordre écologique, elles utilisent comme source d'électrons le S<sup>0</sup>, le sulfure métallique, le Fe<sup>2+</sup>, le S<sub>2</sub><sup>0</sup>, le H<sub>2</sub>S pour leur métabolisme. Ces réactions génèrent de grandes quantités d'énergie et d'acide sulfurique. Ainsi, plusieurs *Thiobacillus* sont acidophiles. Une des espèces acidophiles, *Acidithiobacillus ferroxydans*, peut également croître en chimiolithotrophe en oxydant le fer ferreux en fer ferrique et est l'un des agents biologiques majeurs de l'oxydation des métaux (Madigan et Martinko, 2007, Prescott et Coll., 2010). L'oxydation aérobie du fer de l'état ferreux (Fe<sup>2+</sup>) à l'état ferrique (Fe<sup>3+</sup>) est une réaction génératrice d'énergie pour certains procaryotes.

Cette oxydation libère seulement une faible quantité d'énergie et pour cette raison les ferro-bactéries doivent oxyder de grandes quantités de fer afin d'assurer leur croissance. Le fer ferrique produit forme de précipités insolubles d'hydroxydes ferriques ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) dans l'eau. Ceci est dû en partie au fait qu'à pH neutre, le fer ferreux est rapidement oxydé en fer ferrique par des processus abiotiques. Il est ainsi stable pour de longues périodes seulement en conditions anoxiques. Cependant à pH acide, le fer ferreux est stable en conditions oxygénées. Cela explique pourquoi la plupart des bactéries ferro-oxydantes sont des acidophiles obligatoires. Le cuivre est un élément chimique de numéro atomique

$Z = 29$ , c'est un métal rougeâtre, malléable et ductile qui conduit bien la chaleur et l'électricité. Il résiste à l'air et à l'eau mais se patine lentement en présence de carbonate. Il est présent dans la nature sous forme de minerais de cuivre natif, de minerais oxydés ou sulfurés. En métallurgie, il entre dans de nombreux alliages comme le laiton (cuivre et zinc), le bronze (cuivre et étain), le maillechort (cuivre, nickel et zinc) ([www.wikipedia.org/wiki/cuivre](http://www.wikipedia.org/wiki/cuivre), 2016). L'objectif de cette étude était de rechercher une éventuelle présence de bactéries Ferrooxydantes, en particulier les *Thiobacillus* et les *Leptospirillum*, et d'évaluer leur contribution dans la lixiviation des minerais de cuivre.

## **MATERIEL ET METHODES**

**Milieu :** Notre étude a été effectuée à la société Schemaf (chemical Mining Africa) dans le département d'hydrométallurgie et au laboratoire d'analyses médicales des cliniques universitaires de Lubumbashi dans le service de bactériologie. Chef-lieu de la province du Haut-Katanga, Lubumbashi est située à  $11^{\circ}40'$  de latitude Sud et à  $27^{\circ}28'$  de longitude Est, à 1268 mètres d'altitude. Le climat est caractérisé par deux saisons : 6 mois de saison sèche et 6 mois de saison des pluies. La température moyenne est de  $21^{\circ}\text{C}$  (Le BLANC et MALAISE, 1978).

### **Matériel**

**Échantillon :** Nous avons sélectionné deux types d'échantillons : le filtrat de la pulpe et la pulpe. La Société Schemaf exploite la mine de Kalukuluku. Les scories qui proviennent de cette mine sont directement acheminées dans le département de l'hydrométallurgie où ils subissent un broyage humide jusqu'à l'obtention d'une pulpe de densité  $\pm 1,50$  dans la section appelée « BALL MILL ». On y ajoute de l'acide sulfurique concentré (98,8%, de densité 1,83) et une quantité de sulfate gazeux et le méta bisulfite de sodium jusqu'à l'obtention d'une pulpe ayant un pH de 1,50 et un potentiel de 350 mv (millivolt). La solution de la pulpe est recueillie dans un réacteur sous agitateur en vue d'une homogénéisation de la solution. Les conditions de pH 1,50 et le potentiel de 350 millivolts doivent être maintenus pendant 4 heures du

temps. L'ensemble de ce processus s'appelle « lixiviation ou leaching » qui consiste à séparer le minéral utile de la gangue (déchets). A la fin, on obtient un échantillon provenant de la lixiviation qui passe par le filtre presse ayant un pH 1,50 et un potentiel de 350 millivolts avec une densité de  $\pm 1,20$ . Cet échantillon est composé de deux parties, le filtrat de la pulpe (partie liquide) et la partie solide ; les deux forment ce qu'on appelle la pulpe qui sera analysée au laboratoire chimique pour déterminer le pourcentage de cuivre.

**Autre matériel :** Anse de platine, boîte de Pétri, bec bünzène, allumettes, garre pour les germes anaérobiques, bougie, bassin et flacons stériles. Réacteur sous agitateur, filtre presse, pH mètre, densimètre, terril, étuve, frigo. Milieux de culture (thioglycolate résazurine, gélose au sang).

**Réactifs :** Acide sulfurique, sulfate gazeux, méta bisulfite de sodium, eau distillée.

**Méthodes :** Le filtrat et le solide de la pulpe à l'étude ont étéensemencés dans le bouillon thioglycolate résazurine et repiqués sur gélose au sang en anaérobiose. Les deux parties ont étéensemencées dans le but de déterminer où s'effectuent les transformations chimiques réalisées par les organismes vivants (biogéochimie).

## RESULTATS

Les principaux résultats sont présentés dans les tableaux 1 et 2

**Tableau 1 :** Résultats obtenus après culture du filtrat de la pulpe

Milieu de culture	Thioglycolate résazurine	Gélose au sang
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Pas de pousse	Pas de germes
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Pas de pousse	Pas de germes

Le tableau 2 montre qu'aucune de deux bactéries recherchées n'a poussé avec le filtrat de la pulpe

**Tableau 2.** Résultats obtenus après culture du solide de la pulpe

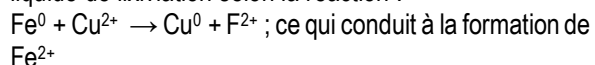
Milieu de culture	Thioglycolate résazurine	Gélose ou sang
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Pousse bactérienne	Présence de colonies
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Pas de pousse	Pas de germes détectés

Le tableau 2 montre que *Thiobacillus ferrooxidans* est la seule bactérie détectée dans le solide de la pulpe tandis que *Leptospirillum ferrooxidans* n'a pas poussé.

## DISCUSSION

De nos résultats obtenus après culture, il convient de signaler que *Thiobacillus ferrooxidans* a été la seule bactérie détectée dans la lixiviation du cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Cette bactérie oxyde le fer ferreux en fer ferrique, lequel participe à la mise en solution de minerais. *Acidithiobacillus ferrooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans* vivent dans des environnements dans lesquels l'acide sulfurique est dominant, et où de grandes quantités de sulfates sont présentes. Selon le processus de lixiviation de minerais de cuivre adopté par la Société Schemaf, nous avons constaté que les scories de Kalukuluku exploitées, les appareils utilisés, les réactifs utilisés, le temps qu'il faut pour une réaction chimique, le maintien de la densité de la pulpe (1,50), du pH (1,50) et du potentiel de 350 millivolts favorisent le milieu nutritionnel pour les bactéries et s'accompagnent d'une activité bactérienne qui participe à la biolixiviation de minerais. Les températures élevées peuvent être un problème pour les opérations de lixiviation. Néanmoins, la température au cœur d'un terril peut augmenter spontanément suite à la chaleur résultant de l'activité microbienne. Dans le cas des chimiolithotrophes ferroxydantes thermophiles, comme des espèces de *Thiobacillus*, de *Leptospirillum*, de *Sulfobacillus*, et à des températures encore plus élevées (60 à 80°C) des espèces du genre *Sulfolobus*, interviennent dans le processus de lixiviation. Cependant, *Acidithiobacillus ferrooxidans* et d'autres procaryotes métallo-oxydants peuvent catalyser l'oxydation des sulfures minéraux à un

taux plus élevé, contribuant ainsi à la mise en solution du métal. Le cuivre soluble est alors récupéré du liquide de lixiviation dans l'installation de précipitation. Des copeaux de fer ( $\text{Fe}^0$ ) sont ajoutés pour récupérer le cuivre du liquide de lixiviation selon la réaction :



Le liquide riche en  $\text{Fe}^{2+}$  est alors transféré dans un bassin d'oxydation où *Acidithiobacillus ferrooxidans* se développe et oxyde le  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$ . De l'acide est ajouté dans le bassin pour maintenir un pH faible, ce qui maintient le  $\text{Fe}^{3+}$  en solution. Ce liquide riche en fer ferrique est alors pompé vers le sommet du terril, et le  $\text{Fe}^{3+}$  contribue à oxyder davantage le sulfure du minerai. Le minerai de cuivre peut être oxydé lors de réactions oxygène-dépendantes (1) et oxygène-indépendantes (2), qui solubilisent le cuivre :

- $\text{CuS} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}_2\text{O} + \text{SO}_4^{2-}$
- $\text{CuS} + 8\text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + 8\text{Fe}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} + 8\text{H}^+$  (Mc QUARRIE et coll., 2011).

Ainsi, l'ensemble du processus de lixiviation est entretenu par l'oxydation de  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  par les bactéries. A 20 – 30°C et à pH modérément acide, *Acidithiobacillus ferrooxidans* semble dominer et croît en chimiolithotrophe sur  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{S}_2^0$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}$  tandis qu'à 30 – 50°C et à pH plus acide *Leptospirillum* est l'organisme dominant et croît seulement sur le  $\text{Fe}^{2+}$  (Madigan et Martinko, 2007). La production d'acide et la mise en solution des minéraux par les bactéries acidophiles peuvent être bénéfiques

dans l'exploitation minière de certains métaux. Les sulfures se combinent avec de nombreux métaux pour former des minéraux très insolubles. De nombreux minéraux utilisés comme source de ces métaux sont des sulfures. Si la concentration en métal du minerai est faible, il peut ne pas être économiquement rentable de concentrer le minéral par des procédés chimiques conventionnels. Dans ce cas, la lixiviation microbienne est mise en œuvre. La lixiviation est surtout employée dans le cas des minéraux de cuivre, car le sulfate de cuivre formé pendant l'oxydation des minéraux des sulfures de cuivre est très soluble dans l'eau. Ainsi un quart environ de tout le cuivre extrait dans le monde est obtenu par lixiviation (Madigan et Martinko, 2007 ; Prescott et Coll., 2010). Les minéraux sont différemment sensibles à l'oxydation et ceux qui sont les plus facilement oxydés sont les plus adaptés à la lixiviation microbienne. C'est ainsi que les minerais de sulfure de fer (Fe S) et de sulfure de cuivre sont facilement lessivés tandis que les minerais de plomb et de molybdène le sont beaucoup moins. L'oxydation du FeS<sub>2</sub> et plus spécialement dans les opérations minières, peut être à la fois bénéfique (la lixiviation du minerai sépare le fer du sulfure métallique) et désastreuse d'un point de vue écologique. L'acidification de l'environnement s'accompagne d'un relargage d'autres métaux lourds associés à la pyrite qui ne sont pas des métaux d'intérêt pour une société minière (Prescott et Coll., 2003 ; Ricklefs et Miller, 2005). L'oxydation bactérienne des sulfures minéraux est la principale cause des effluents miniers acides, ce qui constitue un problème d'environnement. Le mélange des eaux minières acides avec les eaux naturelles des rivières et des lacs produit de sérieuses dégradations de la qualité des eaux naturelles, en raison à la fois de l'acidité et des métaux toxiques pour les organismes aquatiques. L'acide formé attaque d'autres minéraux associés au charbon et la pyrite provoquant la cassure de la roche elle-même. Le besoin en oxygène pour l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique permet d'expliquer pourquoi les effluents miniers acides se forment. Aussi longtemps que le charbon n'est pas exploité, l'oxydation de la pyrite ne peut pas se faire car ni l'air, ni les bactéries ne peuvent l'atteindre. Dès que le charbon est exposé, il est rapidement contaminé par *Acidithiobacillus*. L'oxygène et l'eau sont introduits et rendent possible l'oxydation de la pyrite. L'acide formé peut alors s'écouler dans les ruisseaux environnants (Pomerol et Coll., 2006, Madigan et Martinko, 2007 ; Jambon et Thomas, 2009). Nos résultats convergent avec ceux de nos prédécesseurs, comme BRUSCHI (2015) qui

avait observé que l'identification et la caractérisation de protéines d'oxydoréduction directement impliquées dans l'oxydation du fer et dans le métabolisme énergétique de *Thiobacillus ferrooxidans* sont importantes pour la mise en solution de métaux d'intérêt industriel ou, au contraire, toxiques. Cette étude peut permettre également, par ingénierie génétique, de modifier les gènes ou leur régulation orientant les bactéries vers une plus grande capacité biolixivante. Dans l'étude de KITOBO (2009), les souches bactériennes mésophiles utilisées étaient de deux types : souche MTM (service de métallurgie, traitement des minerais et recyclage) et l'autre d'origine bulgare. Toutes ces deux souches étaient constituées d'un mélange principalement d'*Acidithiobacillus ferrooxidans*, de *Leptospirillum ferrooxidans*, et d'*Acidithiobacillus thiooxidans*. Ces souches étaient a priori adaptées puisqu'elles ont été cultivées par repiquages mensuels sur des minerais sulfurés de chalcopryrite, pyrite, sphalérite. Dans la première série d'essais réalisée avec les bactéries mésophiles et thermophiles à des pH de 1,5 à 1,9, les tests de biolixiviation en erlenmeyer à faible densité de pulpe ont démontré la capacité des bactéries mésophiles et thermophiles modérées à lixivier les sulfures des taillings de Kipushi à des températures plus faibles que celles requises pour la lixiviation chimique. Ces sulfures étant partiellement altérés, l'auteur a observé d'abord la dissolution chimique des minéraux oxydés présents. Cette lixiviation dissout environ 30 à 35% de cuivre et 10% de zinc, ce qui permet d'apporter rapidement des ions ferreux qui sont nécessaires pour la biolixiviation. La deuxième biolixiviation a été réalisée à une densité de pulpe égale à 1% de solide avec des bactéries mésophiles (33%) et thermophiles modérées (22%). Elle a montré la possibilité de réaliser la lixiviation à des températures modérées et d'obtenir des rendements de dissolution de cuivre et de zinc identiques à la lixiviation chimique à haute température. La troisième biolixiviation à densité de pulpe élevée a montré que le cuivre se lixivie bien jusqu'à 15% quel que soit le type de bactéries utilisé. Seule la fraction constituée par la chalcopryrite se lixivie mal et reste en majorité dans le résidu. Par contre, l'auteur a observé une lixiviation presque nulle du zinc à des densités de pulpe supérieures à 5%, comme si l'activité des bactéries était totalement inhibée. L'étude de l'influence des paramètres tels que le pH, le Fer(II) initial et la granulométrie, lui a permis de comprendre les phénomènes qui gouvernent la biolixiviation lorsqu'elle est maintenue à une valeur inférieure à 2 pour éviter la précipitation d'ions ferriques. La dissolution des minéraux de cuivre se ferait

principalement par le mécanisme de contact direct avec les bactéries tandis que le sulfure de zinc se lixivierait essentiellement suivant un mécanisme indirect qui est fort

influencé par les facteurs qui augmentent la cinétique de la réaction chimique entre le minéral et les ions  $Fe^{3+}$ .

## CONCLUSION

Dans notre étude sur les transformations chimiques réalisées par les organismes vivants (biogéochimie) dans la lixiviation du cuivre, seul le *Thiobacillus ferrooxidans* a été détecté. L'influence de la température, le maintien du pH au cœur du terril, l'ajout de sources énergétiques, ainsi que les scories de la mine de Kalukuluku sont

défavorable au développement de *Leptospirillum*. Par contre, ces facteurs sont favorables au développement de *Thiobacillus ferrooxydans* qui oxyde le fer ferreux en fer ferrique, lequel participe à la mise en solution de minerais, car le cuivre se présente sous forme de minerais sulfureux.

## REFERENCES

- Bruschi M, 2015. Biooxydation de minerais sulfures et dissolution de métaux par les bactéries acidophiles : *Thiobacillus ferrooxidans*. CNRS, Marseille, France, 9 p.
- Jambon A, Thomas A, 2009. Géochimie : Géodynamique et cycles. 3<sup>ème</sup> éd., Dunod, Paris, France, 98 p.
- Kitobo W S, 2009. Dépollution et Valorisation des rejets miniers sulfures du Katanga (cas des tailings de l'ancien concentrateur de Kipushi). Thèse de doctorat en chimie, Université de Liège, Belgique, 42, 46, 143, 158, 176, 187, 220 p.
- Leblanc M, Malaise F, 1978. Lubumbashi un écosystème urbain tropical Cis/UNAZA, Campus de Lubumbashi, Zaire, 164 p.
- Madigan M T, Martinko J M, 2007. Biologie des microorganismes. 1<sup>ère</sup> éd, Université Carbondale de l'Illinois de Sud, USA, 565, 566, 628, 629, 661, 663 p.
- Mc Quarrie D A, Gallogly A, Rock P A, 2011. Chimie analytique. 3<sup>ème</sup> éd, De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, 35 p.
- Pelmont J, 2000. Bactéries et environnement : Adaptations physiologiques. 5<sup>ème</sup> éd., Université de Grenoble, Ministère de la recherche et de la technologie, Paris, France, 461 p.
- Pomerol C, Gabriel Y, Renard M, 2006. Eléments de Géologie. 13<sup>ème</sup> éd, Dunod, Paris, France, 492 p.
- Prescott M L, Harley P J, Klein A D 2003. Microbiologie. 1<sup>ère</sup> éd, De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, 830, 831 p.
- Prescott M L, Harley P J, Klein A D, Sherwood M L, Woolverton W S, 2010. Microbiologie. 3<sup>ème</sup> édition, De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, 551, 651 p.
- Ricklefs R E, Miller G, 2005. Écologie. De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, 42 p.
- Tortora G J, Funke B J, Case C L, 2012. Introduction à la microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition, Renouveau Pédagogique, Québec, Canada, 810 p.
- [www.wikipedia.org/wiki/cuivre,2016,consulté le 25 juillet.](http://www.wikipedia.org/wiki/cuivre,2016,consulté%20le%2025%20juillet)