

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Présentée pour obtenir le Grade de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie de l'Environnement

Par

Khlar Chahinez

Thème

**ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DES
EAUX A USAGE PHARMACEUTIQUE.
COMPARAISON AVEC LES EAUX POTABLE ET MINERALE**

Soutenu le 03/07/2013, devant le jury composé de :

Mr.	Houcine	Smain	Prof. - UMMTO	Président
Mr.	SAHMOUNE	Amar	Prof. - UMMTO	Rapporteur
Mr.	BOUDIS	Hakim	MA. -Univ d'Alger	Co-rapporteur
Mme.	MITICHE	lynda	MCB - UMMTO	Examinatrice
Mr.	MEZIANE	Smail	MCA - UMMTO	Examineur

R e m e r c i e m e n t s

Je remercie le bon DIEU, le tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté de mener à terme ce modeste travail.

Mes profonds remerciements et ma sincère reconnaissance s'adressent particulièrement à Mr Boudis Hakim pour m'avoir proposé ce thème, de m'avoir aidé, conseillé malgré un emploi du temps très chargé. Une rencontre certes improbable, mais dont le fruit n'a fait que me propulser vers l'avant, de découverte en découverte, depuis deux ans maintenant que votre suivit m'a ouvert les yeux vers beaucoup de choses. MERCI !

Je remercie vivement Mr Sahmoune mon promoteur, mon enseignant aussi, pour toutes les connaissances en chimie acquises lors de ses cours aussi passionnants les uns que les autres, pour sa grande disponibilité ainsi que pour tous les efforts qu'il a fournis pour corriger mon travail. MERCI !

Un grand merci à Mme Mitiche pour le réactif qu'elle a pu me ramener jusqu'au laboratoire.

Ce travail a été réalisé en partie au sein du laboratoire SEAAL (Alger), sous la tutelle de Mme Rami Djamila. Je la remercie pour tous les moyens qu'elle a mis à ma disposition et de l'extrême attention dont elle a fait preuve envers moi.

Je remercie également Mr Mechtaoui responsable au laboratoire de l'analyse physicochimique (SEAAL) pour ses encouragements et ces bons conseils, ainsi que toute l'équipe du laboratoire de l'analyse physicochimique et microbiologique: Nassima, Adem, Merouane, Radia, Mejda, Houria.

Qu'ils trouvent ici, l'assurance de toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements toute l'équipe de l'unité de production d'eau hautement purifiée et d'eau pour préparation injectable BIOTIC (SAIDAL) de Gué de Constantine Alger, avec qui j'ai beaucoup appris en si peu de temps, en

commençant par Mr Aissaoui pour toutes les explications fournies, ses conseils et surtout sa sympathie, Mme Hattabi Rachida pour toutes ses explications, ses bons conseils sans lesquels je n'aurais pu faire mes prélèvements, Mme Bougoufa Souad pour ses questions très pertinentes et pour toutes ses explications sur le LAL.

Vous avez joint qualité professionnels et humaines. Un grand Merci !

Mes remerciements vont aussi à Mr Athmania de l'unité de production d'eau purifiée BIOTIC (SAIDAL) El Harrach, pour toutes les explications et toute la documentation qu'il a mis à ma disposition, sans laquelle je n'aurais pu faire l'essai des nitrates, et sa disponibilité qui m'a été d'un grand soutien. Merci !

Je remercie Mr Hocine de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mes remerciements s'adressent à Mme Mitiche et Mr Meziane d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie toute personne m'ayant aidé de près ou de loin à réaliser mon travail.

Khiar Chahinez

D édicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux êtres les plus chères à mes yeux ;

Papa, maman

Ce travail est aussi le votre, sans vous je ne serais arrivée là ou j'en suis, je ne vous remercierais jamais assez.

*Par vos encouragements incessants, pour votre confiance, je vous dis merci !
J'exprime ainsi tout le respect et l'amour que j'ai pour vous et pour vous témoigner ma reconnaissance pour tous vos efforts et sacrifices.*

A mes très chers frères : Younes et Said

Toujours présents à mes cotés, vous avez fait en sorte à ce que je ne manque de rien.

Ce travail vous est dédié.

A mes grands parents !

A mes très chères tantes, maternelles et paternelles.

A mes très chères cousines et cousins.

A mes oncles, maternels et paternels.

A ma chère amie Imane, merci d'avoir été toujours là !

A toute personne m'ayant soutenu et encouragé.

A ma défunte grand-mère

Que le bon Dieu ait son âme, qu'elle repose en paix.

« Le poison est dans chaque substance et rien n'est exempt de poison.

Ce n'est que le dosage qui en fait soit un poison, soit un remède »

Paracelse (1493-1541).

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de normalisation.

EDTA : Sel sodique d'acide éthylène-diamine tétraacétique $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$.

EP : Eau purifiée.

EHP : Eau hautement purifiée.

EPPI : Eau pour préparation injectable.

E.Coli : Escherichia Coli.

°f : Degré français.

ISO: International Organization for Standardization.

LAL: Lysat d'amœbocytes de limule.

N : Normalité

OMS : Organisation mondiale de la santé.

pH : Potentiel hydrogène.

SAA : Spectrométrie d'absorption atomique.

TA : Titre alcalimétrique.

TAC : Titre alcalimétrique complet.

TH : Titre hydrométrique ou dureté.

UV/VIS: Ultraviolet/ visible.

Liste des tableaux

Tableau1 : Les différents usages des eaux pharmaceutiques.....	5
Tableau2 : Concentrations des éléments de l'eau pour hémodialyse.....	7
Tableau 3 : Combinaison de techniques de purification pour la production de l'eau pour les différents usages pharmaceutiques.....	14
Tableau 4 : Symptômes rencontrés en cas d'infiltration de certains métaux dans l'eau pour hémodialyse.....	16
Tableau 5 : Normes de chaque eau pharmaceutique telle que précisée dans la pharmacopée Européenne 6 ^e édition.....	18
Tableau 6 : Normes Algérienne d'une eau potable.....	20
Tableau 7 : Matériels et réactifs pour le dosage des nitrates.....	27
Tableau 8 : Matériels et réactifs pour le dosage des sulfates.....	27
Tableau 9 : Matériels et réactifs pour le dosage des chlorures.....	28
Tableau 10 : Matériels et réactifs pour le dosage du calcium et magnésium.....	29
Tableau 11 : Matériels et réactifs pour la détermination de l'alcalinité.....	31
Tableau 12 : Matériel et réactifs pour la détermination de la teneur en matière organique....	32
Tableau 13 : Matériels et réactifs pour le dosage de l'aluminium.....	33
Tableau 14 : Matériels et milieu de culture de la recherche des microorganismes revivifiables.....	34
Tableau 15 : Matériels et milieu de culture utilisés pour la recherche de coliformes et d'E.Coli.....	35
Tableau 16 : Matériels et milieu de culture utilisés pour la recherche des spores et des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	36
Tableau 17 : Résultats des essais physicochimiques pour les eaux pharmaceutiques.....	39

Liste des tableaux

Tableau 18: Résultats des métaux des eaux pour usage pharmaceutique réalisée par SAA...39

Tableau 19: Résultats des dosages physico chimiques de l'eau potable et minérale.....43

Tableau 20: Résultats des analyses microbiologiques obtenus pour toutes les eaux analysées.....47

Liste des figures

Figure 1 : Principe de l'osmose et l'osmose inverse	11
Figure 2 : Principe de fonctionnement de l'électrodésionisation.....	13
Figure 3 : Taille des particules éliminées par des techniques de séparations.....	14
Figure 4 : Principe du système de boucle de la purification de l'eau.....	22
Figure 5 : Schéma SP de l'unité de production d'eau hautement purifiée.....	23
Figure 6 : Schéma SMP de l'unité de production d'eau pour préparation injectable.....	24
Figure 7 : Les résultats des essais physicochimiques.....	38
Figure 8 : Histogramme de comparaison du pH mesuré avec les normes admises dans les eaux pharmaceutiques.....	40
Figure 9 : Les résultats de la conductivité à 20°C et les normes de la pharmacopée européenne 6ème édition.....	40
Figure 10 : Les résultats de la conductivité à 20°C et les normes de la pharmacopée européenne 6ème édition.....	41
Figure 11 : Les résultats de la conductivité à 20°C et les normes de la pharmacopée européenne 6ème édition.....	44
Figure 12 : Histogramme de comparaison de la conductivité des eaux analysées.....	45
Figure 13 : Histogramme de comparaison des valeurs des nitrates des eaux analysées.....	46
Figure 14 : Exemple de résultats obtenus sur l'analyse microbiologique.....	47
Figure 15 : Mécanisme de gélification du LAL en contact des endotoxines.....	48

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
-----------------------------------	----------

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les eaux pharmaceutiques

1. Définition d'un excipient.....	3
2. Les pharmacopées.....	3
3. Les différents types d'eau pharmaceutique.....	3
3.1. Eau purifiée.....	4
3.1.1. Eau purifiée en vrac.....	4
3.1.2. Eau purifiée conditionnée en récipients.....	4
3.2. Eau hautement purifiée.....	4
3.3. Eau pour préparation injectable.....	4
3.3.1. Eau pour préparation injectable en vrac.....	4
3.3.2. Eau stérilisée pour préparation injectable.....	5
4. Usage des eaux pharmaceutiques.....	5
5. Autres eaux.....	6
5.1. Eau (¹⁵ O) injectable.....	6
5.2. Eau tritiée (³ H).....	6
5.3. Solution concentrée pour hémodialyse (eau pour dilution).....	6

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

1. Prétraitement.....	8
1.1. Filtration.....	8
1.2. Adoucissement.....	9
2. Traitement.....	10
2.1. Microfiltration.....	10
2.2. Ultrafiltration.....	10
2.3. Osmose inverse.....	10

2.4.Désinfection.....	12
2.4.1. L'ozonation.....	12
2.4.2. Stérilisation par ultraviolets.....	12
2.5. Elèctrodéionisation.....	12
2.6. Distillation.....	13
3. Stockage et distribution.....	13
4. Combinaison de chaque technique	13

Chapitre III : Paramètres de l'analyse physico-chimique et microbiologique

1. Paramètres physico-chimiques.....	15
1.1. Caractère organoleptique.....	15
1.2. Conductivité.....	15
1.3. Nitrates	15
1.4. Métaux lourds.....	15
1.5. Carbone organique total.....	16
1.6. Substances oxydables.....	16
1.7. Aluminium.....	16
2. Paramètres microbiologiques.....	17
2.1. Endotoxines bactériennes.....	17
2.2. Germes aérobies viables totaux.....	17
2.3. Essais bactériens.....	17
3. Autres analyses.....	17
4. Normes admises.....	18

Chapitre IV : Généralités sur les eaux potable et minérale

1. Eau potable.....	19
1.1. Définition.....	19
1.2. Paramètres de l'analyse physico-chimique.....	19
2. Eau minérale.....	19
3. Normes admises pour l'eau potable.....	19

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre V : Méthodologie expérimentale

1. Présentation des stations de production de l'eau: purifiée, hautement purifiée et eau pour préparation injectable.....	23
1.1.Station de production d'eau purifiée.....	23
1.2. Station de production d'eau hautement purifiée et d'eau pour préparation injectable.....	24
1.2.1. Unité de production de l'eau hautement purifiée.....	24
1.2.2. Unité de production de l'eau pour préparation injectable.....	25
2. Prélèvement de l'eau.....	26
2.1.Pour l'analyse physicochimique.....	26
2.2.Pour l'analyse microbiologique.....	26

Chapitre VI : Matériels et méthodes

1. Analyses physicochimiques.....	26
1.1.Analyse des eaux pour usage pharmaceutique.....	26
1.1.1. Mesure de pH et conductivité.....	26
1.1.2. Essais des nitrates.....	26
1.1.3. Carbone organique total.....	27
1.1.4. Essais des substances oxydables.....	27
1.1.5. Essais des métaux lourds.....	27
1.2.Analyse des eaux potables et minérales.....	27
1.2.1. Mesure du pH et conductivité.....	27
1.2.2. Nitrate.....	28
1.2.3. Sulfate.....	28
1.2.4. Nitrite.....	29
1.2.5. Chlorure.....	29
1.2.6. Calcium et magnésium.....	30
1.2.7. Teneur en ions bicarbonate (alcalinité).....	31
1.2.8. Résidus secs.....	32
1.2.9. Matière organique.....	33

1.2.10. Métaux.....	34
2. Analyse microbiologique.....	34
2.1. Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables.....	34
2.2. Recherche des bactéries coliformes et d'Escherichia Coli.....	35
2.3. Recherche des spores et bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	36
2.4. Recherche de pseudomonas aeruginosa.....	36
2.5. Essais des endotoxines bactériennes.....	37

Chapitre VII : Résultats et discussions

1. L'analyse physicochimique des eaux pour usage pharmaceutique.....	38
1.1.Comparaison et discussion des résultats obtenus.....	39
1.1.1. Caractère organoleptique.....	39
1.1.2. pH.....	39
1.1.3. Conductivité.....	40
1.1.4. Nitrate.....	41
1.1.5. Substance oxydable.....	42
1.1.6. Métaux.....	42
2. L'analyse physicochimique des eaux potable et minérale.....	43
2.1.Résultats des dosages physicochimiques.....	43
3. Etude comparative des paramètres entre les eaux pharmaceutique, eau potable et l'eau minérale (SAIDA).....	44
3.1. Étude comparative du pH.....	44
3.2. Étude comparative de la conductivité.....	45
3.3. Étude comparative des nitrates	46
3.4. Étude comparative des substances oxydables.....	46
4. Analyse microbiologique.....	47
4.1.Résultats obtenus.....	47
4.2. Discussion des résultats.....	48
4.3.Test des endotoxines.....	48
CONCLUSION GENERALE.....	50

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

L'eau est omniprésente dans l'industrie. Il n'y a pas de produit qui n'est pas au moins rincé avec de l'eau au cours de sa production. L'eau est un composant essentiel de la production de plusieurs produits de nombreux domaines qui vont de la médecine à la biologie en passant par l'industrie pharmaceutique. Elle est essentielle à la vie de tous les êtres vivants et elle est le solvant le plus utilisé par le monde industriel.

L'eau est un « solvant universel » capable de dissoudre de nombreuses substances, qu'elles soient solides, liquides ou gazeuses. Au cours de son cycle, elle se charge en éléments divers tels que des gaz, des matières en suspension (minérales ou organiques) ; elle renferme toujours de multiples composés, en particulier des sels minéraux. C'est pourquoi « l'eau pure » n'existe pas dans la nature et doit être obtenue par des processus physico-chimiques.

L'eau a une constante diélectrique très élevée, elle dissout un grand nombre de corps ioniques, comme les sels en donnant les ions, ainsi que certaines substances chimiques toxiques ou non formées de molécules polaires. Cette dissolution résulte du caractère polaire des molécules d'eau qui, grâce aux charges positives et négatives qu'elles portent, sont attirées par les charges de signes contraires des ions ou molécules polaires qui leur sont proches. Cette propriété fait de l'eau, le véhicule privilégié de substances vitales ou toxiques pour le corps humain et les végétaux ce qui fait que sa consommation est régie par des normes.

Les normes de l'eau diffèrent en fonction de son usage; l'eau potable utilisée pour la consommation nécessite pas une pureté élevée. Par contre l'eau utilisée dans la fabrication de produits pharmaceutiques exige une pureté très élevée, et doit être exempte de polluants même à l'état de traces, par conséquent la qualité de l'eau est essentielle dans les processus de l'industrie pharmaceutique. Elle doit faire l'objet d'une vigilance particulière de tous les instants et doit répondre aux normes de conformité physicochimique et bactériologique définies par la réglementation de la pharmacopée.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la composition et à la qualité des eaux purifiées produites par l'unité BIOTIC de l'industrie pharmaceutique Algérienne SAIDAL. Une étude comparative de la composition de ces eaux avec l'eau minérale Algérienne SAIDA et avec l'eau potable consommée à la ville d'Alger est également présentée.

Introduction générale

Le mémoire comprend deux parties, la première où sont exposées les généralités sur les eaux pharmaceutiques, les procédés de production de ces eaux, les paramètres, physico-chimique et microbiologique ainsi que des généralités sur les eaux potables et minérales.

La deuxième partie porte sur la méthodologie expérimentale, sur les résultats et l'interprétation des analyses effectuées.

Nous terminerons le mémoire par une conclusion.

Chapitre I : Généralités sur les eaux à usage pharmaceutique

L'eau est le produit le plus utilisé dans l'industrie pharmaceutique notamment lors de la préparation de la grande majorité des médicaments. L'eau est utilisée en tant qu'excipient, pour reconstituer un médicament, lors des étapes de synthèse sur principe actif ou de la formulation du produit fini ou comme élément principal de nettoyage des cuves, des équipements ou des emballages primaires. L'eau intervient également dans la stérilisation des équipements et la sanitisation des systèmes (stérilisation à la vapeur ou sanitisation à l'eau surchauffée). Elle entre donc en contact direct ou indirect avec le produit qui sera administré au patient et c'est à ce titre que le législateur a imposé un cadre réglementaire.

1. Définition d'un excipient :

Substance associée au principe actif d'un médicament, indispensable dans sa préparation, elle assure sa conservation, lui donne un volume et une présentation utilisable par le malade et permet également son identification. L'excipient joue aussi un rôle important dans la vitesse de mise à disposition de l'organisme du principe actif. Inactif quant à son intérêt thérapeutique, il peut néanmoins entraîner des effets nocifs. Il doit être autorisé par la réglementation. [2]

2. Les pharmacopées :

Les pharmacopées définissent l'aspect normatif des qualités précises des eaux destinées à la production de produits pharmaceutiques et leur mode d'obtention.

Des seuils d'alerte et d'intervention sont établis en vue de la détection de toute évolution indésirable. Elles décrivent donc les qualités physico-chimiques et microbiologiques requises pour chacune des eaux «monographiées», les méthodes d'analyse pour valider leur conformité et leur(s) mode(s) de génération.

3. Les différents types d'eau pharmaceutique :

Les eaux à usage pharmaceutique peuvent être classées en trois familles selon les pharmacopées Européennes, Américaines ou Japonaises.

- 1- Eau dite « purifiée » (EP) ;
- 2- Eau « hautement purifiée » (EHP) ;
- 3- Eau « pour préparations injectables » (EPPI).

3.1. Eau purifiée (Aqua purificata) :

Eau destinée à la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes, sauf exception justifiée et autorisée. [1]

3.1.1. Eau purifiée en vrac :

L'eau purifiée en vrac est préparée par distillation, par échange d'ions, par osmose inverse ou par tout autre procédé approprié à partir d'une eau destinée à la consommation humaine comme établi par l'Autorité compétente. L'eau purifiée en vrac est conservée et distribuée dans des conditions visant à empêcher la croissance de microorganismes et à éviter toute autre contamination. [1]

3.1.2. Eau purifiée conditionnée en récipients :

Eau purifiée en vrac répartie en récipients et conservée dans des conditions visant à assurer la qualité microbiologique requise. L'eau purifiée conditionnée en récipients est exempte de tout additif. [1]

3.2. Eau hautement purifiée (Aqua valde purificata) :

Eau destinée à être utilisée dans la préparation de médicaments lorsqu'une eau d'une qualité biologique élevée est nécessaire, sauf dans les cas où l'emploi d'eau pour préparations injectables est requis. La technique de purification utilisée est l'ultrafiltration qui permet d'obtenir une eau hautement purifiée. [1]

3.3. Eau pour préparations injectables (Aqua ad iniectionabilia):

Eau destinée soit à la préparation de médicaments pour administration parentérale à véhicule aqueux (eau pour préparations injectables en vrac), soit à la dissolution ou la dilution de substances ou préparations pour administration parentérale. [1]

3.3.1. Eau pour préparation injectable en vrac :

L'eau pour préparations injectables en vrac est obtenue soit à partir d'une eau destinée à la consommation humaine, comme établi par l'Autorité compétente, soit à partir d'une eau purifiée, par distillation dans un appareil dont les surfaces en contact avec l'eau sont constituées de verre neutre, de quartz ou d'un métal approprié. Cet appareil est muni d'un dispositif efficace pour empêcher le primage.

L'entretien correct de l'appareil est essentiel. La première fraction du distillat, obtenue lors de la mise en marche, est rejetée. Le distillat est ensuite recueilli. Afin de garantir l'obtention d'une eau de qualité appropriée, des méthodes validées sont appliquées et un suivi en cours de

Chapitre I : Généralités sur les eaux à usage pharmaceutique

production de la conductivité électrique ainsi que des contrôles réguliers de pureté microbiologique sont effectués.

L'eau pour préparations injectables en vrac est conservée et distribuée dans des conditions visant à empêcher la croissance de microorganismes et à éviter toute autre contamination. [1]

3.3.2. Eau stérilisée pour préparations injectables :

Eau pour préparations injectables en vrac répartie dans des récipients appropriés qui sont ensuite fermés, puis stérilisés par la chaleur, dans des conditions telles que l'eau reste conforme à la limite spécifiée dans l'essai des endotoxines bactériennes. L'eau stérilisée pour préparations injectables est exempte de tout additif.

Examinée dans des conditions appropriées de visibilité, l'eau stérilisée pour préparations injectables est limpide et incolore. Chaque récipient contient une quantité d'eau suffisante pour permettre le prélèvement du volume nominal. [1]

4. Usages des eaux pharmaceutiques : [9]

L'eau à usage pharmaceutique remplit plusieurs fonctions que ce soit pour la production de médicaments ou pour utilisation médicale ; ceux-ci sont résumés dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Tableau montrant les différents usages des eaux pharmaceutiques

Eaux pharmaceutique	Usages
Eau purifiée (EP)	<ul style="list-style-type: none">- Préparations orales- Solutions pour nébulisation- Préparations dermatologiques- Préparations nasales et optiques<ul style="list-style-type: none">- Ophtalmica- Granulés- Enrobage de comprimés- Lyophilisats non stériles- Forme finale stérile- Formes finales stériles ou non (sauf parentérales)- Parentérales lavage et nP initiaux
Eau pour préparation injectable (EPPI)	<ul style="list-style-type: none">- Parenteralia- Solutions d'hémofiltration- Solutions d'hémodiafiltration- Solutions de dialyse péritonéale- Solutions pour irrigation- Lyophilisats stériles- Forme finale parentérale- Parentérales lavage final

5. Autres eaux :

5.1. Eau (^{15}O) injectable:

L'eau (^{15}O) injectable est une solution stérile d' ^{15}O eau, à usage diagnostique. La solution contient au minimum 90% et au maximum 110% de la radioactivité due à l'oxygène-15 indiquée à la date et à l'heure figurant sur l'étiquette. L'oxygène-15 présent sous forme d'eau représente 99% de la radioactivité totale. [1]

5.2. Eau tritiée (^3H) (solution injectable) :

La solution injectable d'eau tritiée (^3H) est de l'eau pour préparations injectables dans laquelle une partie des molécules d'eau renferme des atomes de tritium à la place des atomes de protium. La solution peut être rendue isotonique par addition de chlorure de sodium. Le tritium (^3H) peut être obtenu par irradiation neutronique du lithium. La solution contient au minimum 90% et au maximum 110% de la radioactivité due au tritium indiquée à la date figurant sur l'étiquette. [1]

5.3. Solutions concentrées pour hémodialyse (eau pour dilution) :

L'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse est obtenue à partir d'eau potable par distillation, par osmose inverse, par échange d'ions ou par tout autre procédé approprié. Les conditions de préparation, de transfert et de conservation permettent de limiter le risque de contamination chimique et microbienne.

Lorsque de l'eau obtenue par l'une des méthodes décrites ci-dessus n'est pas disponible, de l'eau potable peut être utilisée pour les dialyses à domicile. Dans ce cas, il convient de tenir compte de sa composition chimique, qui varie considérablement d'une localité à l'autre, et de procéder aux ajustements nécessaires de la teneur en ions pour que la composition finale de la solution diluée corresponde à l'usage prévu.

Il convient également de prendre en considération la présence éventuelle de résidus provenant du traitement de l'eau (par exemple, l'aluminium, les chloramines) et d'hydrocarbures halogénés volatils. [1]

L'exigence de qualité de l'eau pour hémodialyse peut se définir selon deux grandes lignes directrices :

- Le maintien des paramètres physico-chimiques de la solution diluée
- Ne doit pas être toxique pour le patient tout au long de sa préparation

L'eau pour hémodialyse doit présenter une qualité physicochimique constante et une innocuité totale. L'eau pour hémodialyse, élément principal entrant dans la composition du dialysât, est produite à partir de l'eau de ville. Cette eau subit différents traitements successifs

Chapitre I : Généralités sur les eaux à usage pharmaceutique

(filtration, adoucissement, osmose inverse) pour éliminer au maximum électrolytes, métaux lourds, micro-organismes et autres impuretés. Pour éviter ce risque de contamination, des normes ont été définies par la pharmacopée Européenne à partir de 1977 (tableau 2). [20]

Tableau 2 : Concentrations des éléments de l'eau pour hémodialyse, Norme AFNOR NF S93-310 (2004).

Eléments	Eau dialyse (mg/l)
Eléments chlorés	0.1
Chlorures	50
Fluorures	0.2
Nitrates	2
Nitrites	0.005
Phosphates	5
Sulfates	50
Aluminium total	0.01
Ammonium	0.2
Calcium	2
Etain	0.1
Magnésium	2
Mercure	0.001
Sodium	50
Potassium	2
Zinc	0.1
Métaux lourds	<0.1
Cadmium	<0.1
Plomb	<0.1
Cuivre	<0.1

Il ressort de cette étude bibliographique que les eaux utilisées en pharmacie doivent être d'une grande pureté et les réglementations quant aux normes d'utilisation, elles sont très strictes.

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

La qualité de l'eau, quelle soit de provenance (source, forage...) n'est pas suffisante pour être utilisée en pharmacologie. Elle nécessite un traitement plus au moins poussé. Parmi ces traitements on peut citer : la filtration, l'adoucissement, l'osmose inverse,...

Nous présentons dans ce chapitre les traitements les plus employés et les plus faciles à mettre en œuvre.

1. Prétraitement :

Les eaux destinées à la consommation humaine contiennent des éléments indésirables, tels que :

-Matières solubles, (ions, gaz, molécules organiques)

-Matières insolubles (matières en suspension, matières colloïdales, micro-organismes,...).

Il est donc nécessaire de leur faire subir des traitements complémentaires, afin de leur conférer les caractéristiques nécessaires. [3]

1.1.Filtration :

Par filtration on entend une méthode pour éliminer des impuretés de l'eau en la faisant passer à travers un média filtrant.

Généralement, tout système de purification de l'eau dans l'industrie comprend une première étape de filtration particulière. Même lorsqu'il n'y a pas d'exigence quant à l'absence de particules dans le produit fini, une filtration est nécessaire pour protéger le matériel de purification de l'eau, qu'il s'agisse de pompe, de résines échangeuses d'ions ou de membranes d'osmose inverse, en particulier du risque de colmatage. C'est pourquoi une préfiltration est souvent utilisée comme le premier maillon d'une chaîne de purification d'eau afin d'éliminer les grosses particules en suspension, des coliformes, des virus, des parasites et réduire la turbidité. [14]

▼ Exemples de types de filtres :

Il existe plusieurs types de filtres utilisés dans la purification de l'eau dans l'industrie, exemple : filtres à sable, les filtres à poche ou à panier, filtres à cartouches lavables et filtres autonettoyants...

Ceux qui se distinguent le plus sont : les filtres à sable ou à cartouches.

- *Filtre à sable :*

On parle génériquement de filtres à sable même si le média filtrant n'est forcément pas du sable. Il peut aussi s'agir d'anthracite ou de sable de vert, ou un autre média filtrant.

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

L'anthracite est plus léger que le sable proprement dit et fournit une couche de préfiltration. Le sable vert est un sable qui est recouvert d'une couche d'oxyde de manganèse et a la propriété d'oxyder le fer dissous dans l'eau, et aussi le manganèse et l'hydrogène sulfureux.

Une fois que ces impuretés ont été oxydées, elles tendent à rester, par adsorption, dans le sable vert. Les filtres avec une couche de sable vert permettent de réduire les concentrations de fer dissous, de manganèse dissous et l'hydrogène sulfuré à moins de 0,01 ppm.

Les filtres à sable contiennent aussi souvent du gravier. Celui-ci n'est en général pas un média filtrant, mais sert à former une couche poreuse au fond du filtre.

- *Filtres à cartouches lavables et filtres autonettoyants :*

Sous ces noms l'on trouve une très grande variété de technologies, et souvent des nouveaux filtres autonettoyants sont présentés comme la solution à tous les problèmes de filtration. S'ils présentent un avantage en termes de coûts de fonctionnement, il faut être conscient de leurs désavantages, qui limitent leurs applications, notamment leur seuil de filtration qui est de quelques dizaines de mm, ce qui est insuffisant pour certaines applications, comme la préfiltration pour un osmoseur ainsi que la complexité de l'installation ou encore lors du nettoyage périodique, ces filtres rejettent une eau fortement chargée en particules, qu'il est souvent impossible de conduire à l'égout sans un traitement particulier : cela complique encore l'installation.

1.2.Adoucissement :

Le rôle de l'adoucissement est de réduire la dureté de l'eau qui est responsable de l'entartrage correspondant à un dépôt de calcium et de magnésium. L'eau est traitée par une résine échangeuse de cations divalents. Cette résine échange les ions calcium et magnésium avec du sodium. La conductivité d'une eau adoucie n'est donc pas ou peu modifiée par rapport à la conductivité de l'eau arrivant à l'entrée de l'établissement.

L'adoucissement constitue le plus souvent un prétraitement dans la filière des traitements de purification nécessaires à l'obtention d'une eau de qualité requise par exemple pour alimenter une unité d'osmose inverse ou pour produire la vapeur des autoclaves.

Le but de l'adoucissement est d'abaisser le TH entre 5 et 8. Mais la résine sature et il est nécessaire périodiquement de la régénérer à l'aide d'une solution concentrée en sels de sodium. La résine est également un support favorable au développement bactérien. Il est essentiel de pratiquer une désinfection autant que de besoin. [8]

2. Le traitement :

Le traitement est l'ensemble des opérations permettant d'amener l'eau prétraitée (ou compatible avec les exigences du traitement aval) à une qualité répondant aux spécifications requises.

Dans le cas de l'eau purifiée, six méthodes peuvent être combinées : distillation (simple ou multiple), osmose inverse (simple ou double), électrodéionisation, échange d'ions en lits mélangés, échange d'ions en lits séparés, ultrafiltration.

Dans le cas de l'eau pour préparations injectables, il est possible de produire celle-ci à partir de l'eau potable, mais d'un point de vue technologique (problème d'entartrage, de dépôt de silice,...) il est préférable d'utiliser de l'eau purifiée ou de l'eau purifiée apyrogène. En Europe seule la distillation est autorisée. [3]

2.1. Microfiltration :

La microfiltration, définie par la rétention des particules de 5 à 0,05 μm , est opérée en mode frontal sur cartouche, ou en mode tangentiel sur membrane, en général tubulaire, capillaire ou fibres creuses et sur une installation en boucle fermée : une partie du flux traverse la membrane tandis que l'autre en balaie la surface pour limiter le colmatage et reste dans la boucle. Le concentrât, ou retentât, doit être régulièrement purgé. [21]

2.2. Ultrafiltration :

L'ultrafiltration, définie comme la rétention de molécules de 1 à 100 kDa (kilodaltons), est opérée en mode tangentiel sur des membranes minérales (analogues aux membranes de microfiltration) ou organiques, plus rarement en mode frontal (application en laboratoire). Leur courbe d'efficacité, rarement disponible, est plus plate que celle d'une cartouche.

Les mêmes critères de choix que ceux des cartouches s'appliquent.

En exploitation, parce que non consommables, les modules d'ultrafiltration sont nettoyés/décolmatés périodiquement, créant une contrainte de gestion des déchets. [21]

2.3. Osmose inverse :

L'osmose inverse est un traitement physico-chimique et antimicrobien. Il est le plus souvent mis en œuvre après un adoucissement et une ou plusieurs filtration(s) et peut constituer le dernier traitement d'une filière de traitement d'eau purifiée, d'eau pour dilution des solutions concentrées de dialyse rénale, d'eau pour le fonctionnement de certains appareils à usage hospitalier (autoclaves, laveurs désinfecteurs...).

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

L'osmose inverse est réalisée par passage de l'eau à traiter sur une membrane semi-perméable qui assure la rétention de la majorité des composés présents dans l'eau (particules, colloïdes, ions contaminants organiques y compris endotoxines bactériennes et micro-organismes).

L'osmose vise à extraire les substances inorganiques et organiques de l'eau. La conductivité d'une eau osmosée est plus faible que celle de l'eau initiale et sa corrosivité importante.

Les traitements par membranes d'osmose ne doivent pas être considérés comme des traitements stérilisants car malgré leur grande efficacité de filtration, il peut se produire des fuites minimales de micro-organismes, en particulier de virus, et des biofilms peuvent coloniser les canalisations et les réservoirs en aval du traitement. [9]

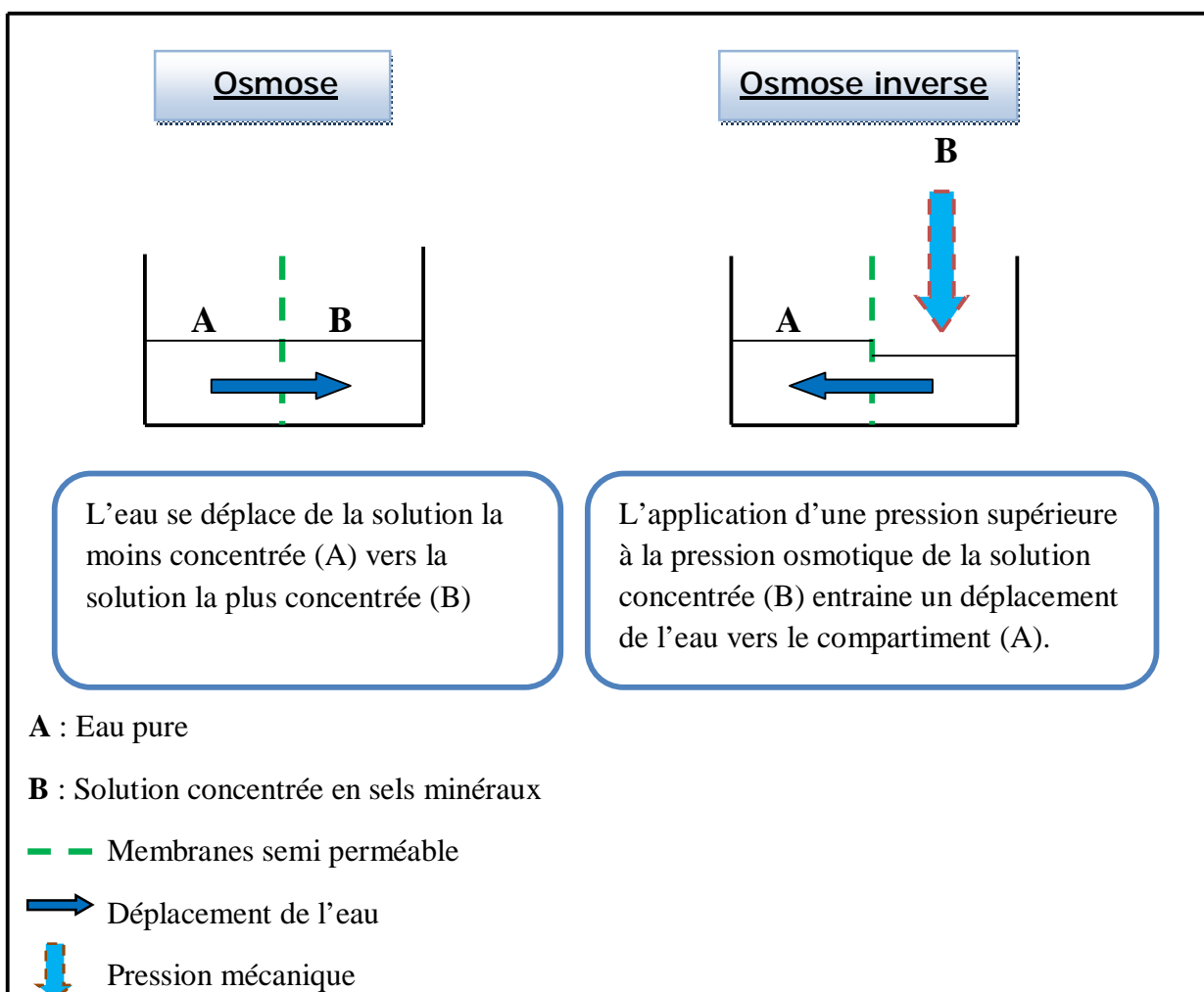


Figure 1 : Principe de l'osmose et l'osmose inverse.

2.4. Désinfection :

2.4.1. L'ozonation :

L'ozone O_3 , possède un pouvoir désinfectant très grand, plus efficace que celui du chlore. Il est instable et se décompose naturellement en oxygène. Son action n'est donc pas durable dans le temps, on parle dans ce cas de l'absence de l'effet de rémanence.

Le principe général de l'ozonation des eaux réside dans les propriétés de la molécule de trioxygène à réagir avec la matière organique en générant des molécules de plus faible masse moléculaire. [15] [16]

2.4.2. Stérilisation par ultraviolets :

Dans les systèmes de purification des eaux, on a communément recours à des lampes basses pressions, dont la principale émission devrait être comprise dans le spectre des rayons ultraviolets (entre 200 et 280 nm avec un pic bactéricide a une longueur d'onde de 254nm) dans un but de désinfection d'une part et de destruction de l'ozone d'une autre part (O_3 , très toxique), qui injecté dans la cuve de stockage de l'eau purifiée, les protège contre toute contamination bactérienne possible.

L'ultraviolet présente beaucoup d'avantages tels qu'il ne génère pas des produits toxiques et ne modifie pas les caractères organoleptiques de l'eau traitée.

Ce traitement consiste en une irradiation de l'eau par un rayonnement ultraviolet. Il a pour objectif de transformer des microorganismes vivants en micro-organismes non viables mais certains d'entre eux peuvent, s'ils ne sont pas suffisamment inactivés, recouvrer ultérieurement leurs propriétés initiales.

C'est un traitement photochimique non rémanent. Si l'eau traitée doit être distribuée en réseau ou stockée, il convient de vérifier qu'il n'existe pas de phénomène de reviviscence des micro-organismes mal inactivés par les rayonnements UV ou ayant réparé leurs lésions. [9]

2.5. Électrodéionisation :

L'électrodéionisation est un nouveau procédé de traitement de l'eau résultant de la combinaison de deux techniques : l'électrodialyse et l'échange d'ions.

Il s'agit d'un procédé, à base de résines échangeuses d'ions, capable de désioniser efficacement l'eau tout en régénérant ses résines en continu sous l'effet d'un courant électrique.

La plupart des dispositifs commerciaux d'électrodéionisation comportent une alternance de membranes échangeuses de cations et d'anions disposées parallèlement les unes aux autres, et

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

séparées par supports qui font respectivement office de compartiments de dilution et de concentration. [10-13]

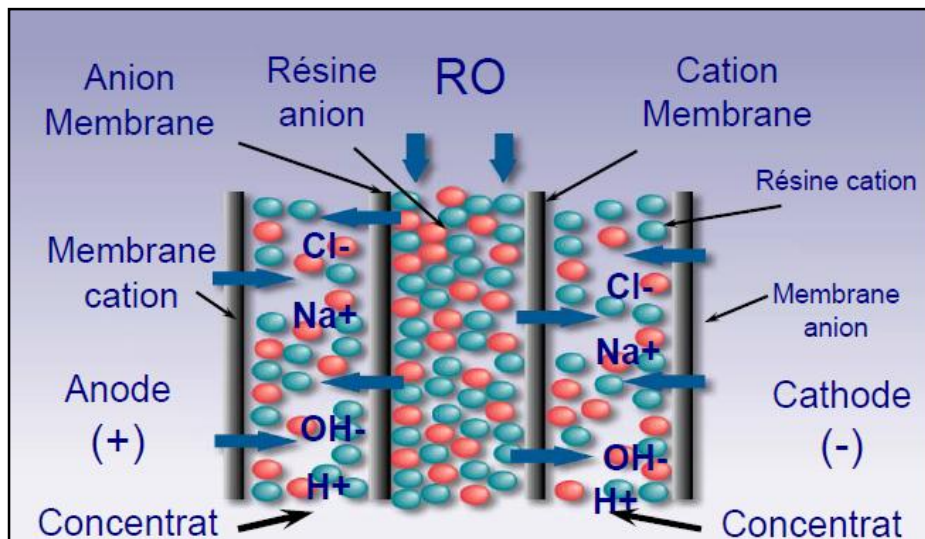


Figure 2 : Principe de fonctionnement de l'électrodéionisation.

2.6. Distillation :

La distillation constitue le plus souvent le traitement physicochimique ultime d'une filière de production d'eau purifiée ou d'eau pour préparation injectable. L'eau obtenue est d'une très grande pureté physico-chimique et microbiologique, sa conductivité est extrêmement faible (jusqu'à 0,06 $\mu\text{S}/\text{cm}$) et sa corrosivité importante et exempte d'endotoxines. [4]

3. Stockage et distribution :

Il s'agit des moyens mis en œuvre pour permettre la mise à disposition des eaux pharmaceutiques aux points d'utilisation, tout en maintenant leur qualité.

On y inclut cuves, pompes, échangeurs thermiques, tuyauterie, vannes et accessoires, générateurs de rayonnements U.V, générateurs d'ozone (par électrolyse).

On distingue également les éléments de gestion et de surveillance (capteurs et régulateurs) et les fluides (eau potable, ozone, azote, air comprimé, vapeur, électricité). Tous les éléments en contact avec l'eau doivent être de qualité et rugosité homogène : cuves, canalisation, etc. tout manque d'homogénéité doit être justifié. Le choix de la qualité des surfaces est lié aux technologies mises en œuvre en termes de désinfection et stérilisation. [3]

4. Combinaison de chaque technique :

En fonction de l'usage de l'eau, des combinaisons entre des techniques de traitement peuvent être effectuées. Le tableau 3 résume les différentes combinaisons possibles.

Chapitre II : Procédés de production de l'eau pour usage pharmaceutique

Tableau 3 : Combinaison de techniques de purification pour la production de l'eau pour les différents usages pharmaceutiques.

Techniques	EP	EHP	EPPI
Déminéralisation + UV + filtration	×		
Déminéralisation + ultrafiltration		×	
Double osmose	×	×	
Osmose et électrodésionisation + Générateur UV	×	×	
Distillation			×

- Le schéma de la figure 3 résume les techniques de séparation par procédés membranaires à utiliser pour éliminer des particules en fonction de leur taille. [20]

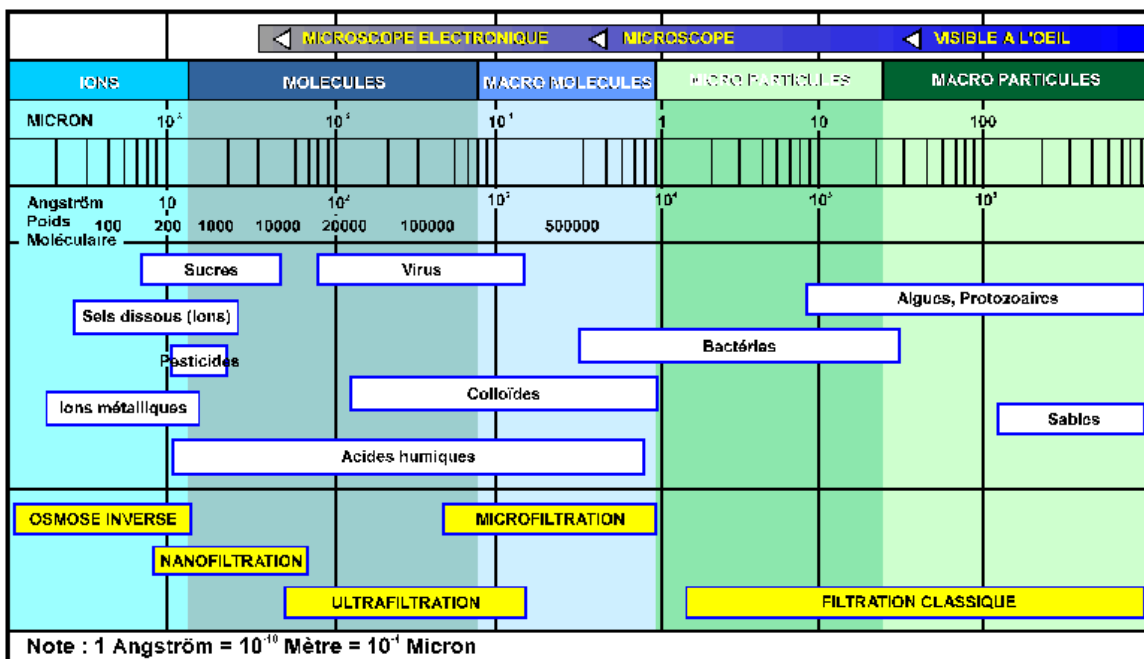


Figure 3 : Taille des particules éliminées par des techniques de séparations.

Cette partie sur les procédés de purification des eaux à usages pharmaceutiques montre que l'utilisation d'un seul procédé ne permet pas d'obtenir une eau de qualité requise, il faut souvent utiliser plusieurs traitements faisant appel à plusieurs procédés.

Chapitre III : Paramètres de l'analyse physico-chimique et microbiologique

Plusieurs contrôles obligatoires ont été mis en œuvre par les différentes pharmacopées afin d'assurer la qualité requise à l'eau, que se soit du point de vue physico-chimique et microbiologique. La pureté des eaux pharmaceutiques est quantifiée par la concentration en différents constituants naturels de l'eau (anions, cations, métaux, endotoxines, bactéries, virus, substances oxydables...)

1. Paramètres physico-chimiques :

La qualité physico chimique imposée aux eaux pour usage pharmaceutique dépend de l'usage qui en est fait, les normes varient selon le degré de pureté de l'eau.

1.1. Caractère organoleptique : limpidité, couleur, odeur, gout.

1.2. Conductivité :

La conductivité électrique traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. Cette notion est inversement proportionnelle à celle de résistivité électrique. L'unité de mesure communément utilisée est le Siemens (S/cm) exprimé souvent en micro siemens/cm ($\mu\text{s/cm}$) ou millisiemens (ms/cm). La conductivité est directement proportionnelle à la quantité de solides (les sels minéraux et non les matières organiques) dissous dans l'eau. Ainsi, plus la concentration en solide dissout sera importante, plus la conductivité sera élevée. La conductivité électrique donne une indication sur la minéralisation globale de cette eau. Les molécules de sels se dissocient en paires d'ions lorsqu'elles entrent en solution dans l'eau.

1.3. Nitrates :

La présence de nitrates dans une eau est souvent considérée comme indice de pollution. Les nitrates ne sont pas dangereux en l'état mais leur transformation en nitrites.

Chez l'homme, la présence de nitrites à forte dose dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer normalement l'oxygène. C'est donc à cause de la teneur en nitrites dans l'eau que les taux de nitrates doivent être réglementés. [1]

1.4. Métaux lourds :

Le traitement de l'eau permet de limiter voire de supprimer des ions métalliques qui peuvent entraîner de graves désordres du métabolisme. Comme par exemple, pour l'eau destinée à

Chapitre III : Paramètres de l'analyse physico-chimique et microbiologique

l'hémodialyse des seuils de toxicité ont été établis afin d'éviter une éventuelle contamination (Normes de qualité de la pharmacopée Européenne Xème édition). [20]

Tableau 4: Symptômes rencontrés en cas d'infiltration de certains métaux dans l'eau pour hémodialyse

Eléments	Norme pharmacopée française Xème édition	Seuil de toxicité	Symptômes
Etain	0,1 mg/l	-	Encéphalopathie.
Zinc	0,05 mg/l	0,2 mg/l	Anémie hémolytique, nausées, vomissements, suspicion d'encéphalopathie.
Cuivre	-	0,49 mg/l	Lésion hépatique.
Autres oligoéléments, tels que : le cadmium, le manganèse, le strontium et le fer			Ils s'accumulent dans les tissus des hémodialysés. Les répercussions cliniques n'en sont pas encore connues

1.5. Carbone organique total (COT) :

Le dosage du COT est une méthode de mesure indirecte des substances organiques présentes dans l'eau pour usage pharmaceutique. Cette méthode peut également servir à contrôler le déroulement de diverses opérations intervenant dans la préparation des médicaments. Le COT présent dans l'eau purifiée est synonyme de nourriture pour les microorganismes et donc de contamination bactérienne possible. [1]

1.6. Substances oxydables :

Effectuez l'essai du carbone organique total comme cité précédemment ou l'essai des substances oxydables.

1.7. Aluminium :

L'essai est réalisé que si l'eau est destinée à la fabrication de solution pour dialyse.

Chapitre III : Paramètres de l'analyse physico-chimique et microbiologique

2. Paramètres microbiologiques :

2.1. Endotoxines bactériennes :

L'essai des endotoxines bactériennes est destiné à la détection ou la quantification des endotoxines produites par des bactéries gram-négatives, au moyen d'un lysat d'amœbocytes de limule (LAL). Il peut être réalisé par 3 techniques : gélification (induction de la formation d'un gel), turbidimétrie (développement d'une turbidité par clivage d'un substrat endogène), colorimétrie (développement d'une coloration par clivage d'un complexe peptide-chromogène synthétique). [1]

2.2. Germes aérobies viables totaux :

Cet essai permet le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et levures capables de croître en aérobiose. Le dénombrement des germes aérobies viables totaux est réalisé par la méthode de filtration sur membrane ou par dénombrement sur plaque. [1]

2.3. Essais bactériens:

Au cours de la production et de la conservation de l'eau purifiée, des mesures appropriées sont prises, pour garantir que le nombre de germes microbiens soit contrôlé et maîtrisé. Des seuils d'alerte et d'intervention sont établis en vue de la détection de toute évolution indésirable.

Dans les conditions normales, est considéré comme seuil d'intervention approprié, un dénombrement microbien de 100 UFC/ml, déterminé par une filtration sur une membrane dont la taille nominale des pores n'excède pas 0,45 µm. [1]

Il existe plusieurs milieux d'incubation selon le type de bactérie.

3. Autres analyses :

Il existe d'autres essais autres que ceux cités ci-dessus, et ce selon la spécificité de l'usage de l'eau pharmaceutique, parmi eux :

- *Acidité ou alcalinité*
- *Essais limites des impuretés* : Ammonium, calcium, chlorures, magnésium.
- *Stérilité* :

L'essai s'applique aux substances, préparations et produits qui doivent être stériles selon la pharmacopée.

Chapitre III : Paramètres de l'analyse physico-chimique et microbiologique

Toutefois, un résultat favorable signifie seulement qu'aucun microorganisme contaminant n'a pu être décelé dans l'échantillon examiné, dans les conditions de l'essai.

- Contamination particulaire (particules non visibles) :

Les contaminations particulières des préparations injectables et des préparations pour perfusion est composée des particules étrangères, non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, qui ont été involontairement introduites dans ces préparations. [1]

4. Normes admises : [18] [1]

Les pharmacopées écrivent les qualités physico-chimique et microbiologique pour chacune des eaux « monographies » et le seuil à ne pas dépasser pour assurer une bonne qualité d'eau.

Tableau 5 : Normes de chaque eau pharmaceutique telle que précisée dans la pharmacopée Européenne 6^e édition 2008.

Essai	EP		EHP	EPPI	
	<i>vrac</i>	<i>Cond.réc</i>		<i>Vrac</i>	<i>Stér. PPI</i>
Carbone organique total	<0,5mg/l	<0,5mg/l	<0,5mg/l	<0,5mg/l	<0,5mg/l
Acidité ou alcalinité	NON	OUI	NON	NON	OUI
Conductivité (20°C) <	4,3µS/cm	1,1µS/cm	1,1µS/cm	1,1µS/cm	25(≤10ml) 5 (>10ml)
Conductivité (25°C)	5,1 µS/cm	NON	1,3µS/cm	1,3µS/cm	OUI
Substance oxydables	NON	OUI	NON	NON	OUI
Nitrates : <0,2ppm	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Sulfates	NON	OUI	NON	NON	OUI
Aluminium : <10ppb	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Ammonium <0,2ppm	NON	OUI	NON	NON	OUI
Chlorures	NON	OUI	NON	NON	<0,5ppm
Calcium et magnésium	NON	OUI	NON	NON	OUI
Métaux lourds <	0,1ppm	OUI	0,1ppm	0,1ppm	OUI
Contamination particulaire	NON	NON	NON	NON	PNV essaiA ou essaiB
Stérilité	NON	NON	NON	NON	OUI
Endotoxines bactériennes	<0,25UI/ml		<0,25UI/ml	<0,25UI/ml	<0,25UI/ml
Germes aérobies viables totaux	100UFC/ml	100UFC/ml	10UFC/100ml	10UFC/100ml	stérile

Il ressort de ce chapitre III que la pharmacopée Européenne présente des normes des différents constituants de l'eau, plus strictes et elle exige plusieurs essais pour qu'elle soit utilisée en pharmacologie.

Chapitre IV : Généralités sur l'eau potable et l'eau minérale

La composition physicochimique de l'eau diffère d'une eau à une autre en fonction de son usage. Dans cette partie, nous développerons les paramètres de contrôle de l'eau minérale et potable ainsi que l'aspect réglementaire de cette dernière.

1. Eau potable :

1.1. Définition :

Une eau est dite potable quand elle satisfait à un certain nombre de caractéristiques la rendant propre à la consommation humaine. Les standards de référence dans ce domaine diffèrent selon les époques et les pays et selon l'autorité en charge de cette définition dans certains pays.

L'eau potable est une eau ayant des caractéristiques microbiennes, chimiques et physiques qui répondent aux directives de l'OMS ou aux normes nationales relatives à la qualité de l'eau de boisson. [19]

1.2. Paramètres de l'analyse physico chimique et microbiologique :

Les différents paramètres de l'analyse physicochimique peuvent être physico chimiques (température, pH, résidus secs), de minéralisation globale (calcium, magnésium, sodium, etc.), de pollution (ammonium, nitrites, nitrates), des éléments indésirables (manganèse, aluminium, etc.) et microbiologiques (coliformes, Escherichia Coli, entérocoques, bactéries sulfitoréductrices, etc.)

2. Eau minérale :

Elles ne respectent pas forcément l'ensemble des critères de potabilité physico-chimique des eaux potables. Elles possèdent des caractéristiques qui sont de nature à leur conférer des propriétés thérapeutiques.

Une eau de boisson minérale est une eau d'origine souterraine, faisant en général l'objet d'une exploitation commerciale. Elle doit en général présenter certaines caractéristiques chimiques minimales et/ou constantes. [19]

3. Les normes admises :

Le tableau 6 donne les normes de potabilité d'une eau de consommation humaine, telle que précisées par le journal officiel de la république Algérienne n°18 du décret n° 11-125 du 22 mars 2011.

Chapitre IV : Généralités sur l'eau potable et l'eau minérale

Tableau 6 : Normes Algériennes d'une eau potable

Paramètres		Unités	Normes
Paramètres physico-chimique	pH	-	6,5-8,5
	Conductivité	µS/cm	2800
	Turbidité	NTU	5
	Température	°C	25
	Nitrites	mg/l	0,2
	Nitrates	mg/l	50
Paramètres de Minéralisation globale	Calcium	mg/l	200
	Magnésium	mg/l	150
	Sodium	mg/l	200
	Potassium	mg/l	12
	Chlorure	mg/l	500
	Sulfate	mg/l	400
	Dureté TH	mg CaCO ₃ /l	200
Paramètres de pollution	Ammonium	mg/l	0,5
	O-phosphate	mg/l	0,5
Eléments indésirables	Fer total	mg/l	0,3
	Manganèse	mg/l	0,5
	Aluminium	mg/l	0,2
Paramètres bactériologiques	Coliformes totaux	UFC/100ml	0
	Coliformes fécaux	UFC/100ml	0
	Escherichia Coli	UFC/100ml	0
	Entérocoques	UFC/100ml	0
	Bactéries sulfitoréductrices y compris les spores	UFC/100ml	0
Analyses fines	Plomb	mg/l	0,01
	Chrome	mg/l	0,05
	Cuivre	mg/l	2
	Cadmium	mg/l	0,03
	Zinc	mg/l	5

La composition d'une eau est définie par l'origine de sa provenance, celle-ci diffère d'un endroit à un autre, comme pour l'eau minérale ou l'eau potable, la source même de ces eaux en font leur qualité.

Conformément au thème de notre mémoire, la pratique que nous avons réalisée durant notre stage au laboratoire du SEAAL ainsi que dans les deux industries « BIOTIC » de SAIDAL, est exposée en détail dans cette deuxième partie. Comme nous l'avons déjà signalé dans la partie bibliographique, ces eaux sont soumises à des exigences bien précises pour assurer une excellente qualité. En premier lieu nous allons décrire les deux stations de production des trois différentes eaux qui rentrent dans la fabrication de médicaments et ce, avant d'aborder la méthode avec laquelle les essais ont été faits.

1. Présentation des stations de production de l'eau: purifiée, hautement purifiée et eau pour préparation injectable :

1.1. Station de production d'eau purifiée :

L'unité de production d'eau purifiée « BIOTIC », « SAIDAL » située à ELHARRACH, est composée d'une chaîne d'équipements où chacun de ces derniers a un rôle bien précis. Avec une capacité de production de 5 m³/heure, destinée à la fabrication de sirop, pommade et solution.

Ø Prétraitement :

- *Filtration* : filtre à sable.
- *Adoucissement* : résine échangeuse d'ions, élimine Mg²⁺ et Ca²⁺ remplacé avec Na²⁺, ajout d'un sel industriel NaCl pour la reminéralisation (régénération de l'adoucisseur), deux adoucisseurs et un en stand by.
- *Charbon actif* : pour l'élimination du chlore libre

Ø Traitement :

- *Filtration* : filtre à cartouche d'une porosité de 3µm.
- *Osmose inverse* : munis d'une pompe d'une pression de 20 bars, contenant 3 modules chacun contient 2 membranes.
- Double osmose inverse 2ème étage, puis l'eau passe à la cuve de stockage.
- Ajout de l'ozone pour la désinfection, puis passage de l'eau par la lampe UV afin d'éliminer l'ozone.

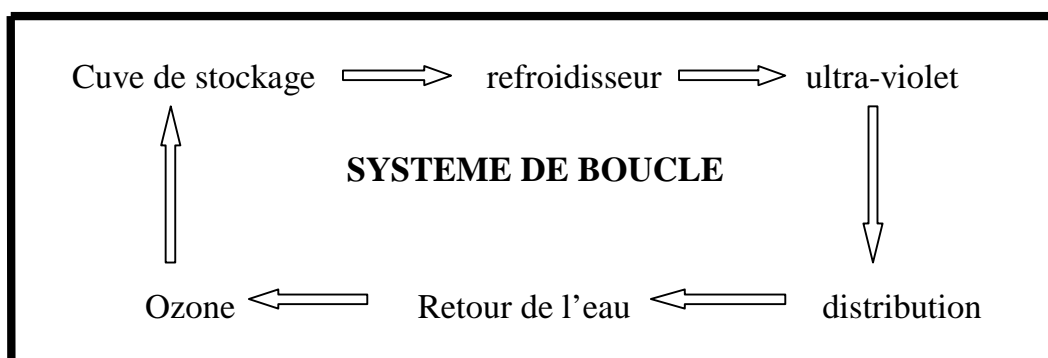


Figure 4 : Principe du système de boucle de la purification d'eau

1.2. Station de production d'eau hautement purifiée et d'eau pour préparation injectable :

Située au Gué de Constantine, BIOTIC « SAIDAL » spécialisée dans la production de l'eau hautement purifiée qui est destinée pour la fabrication de suppositoires, comprimés, et ampoules, ainsi que la production de l'eau distillée pour préparation injectable destinée pour la fabrication du sérum qui est fabriqué au sein même de cette unité.

1.2.1. Unité de production de l'eau hautement purifiée :

L'eau est issue d'un forage en vu de l'endroit même qui a été choisit justement pour l'existence de nappes phréatiques à quelques mètres sous terre.

- Filtration : des filtres à sable et graviers d'une porosité de 30 μm , utilisés dans le but d'éliminer les grosses particules, puis l'eau passe dans une cuve de stockage de 3000litre.
- Filtration : des filtres à cartouches de 10 μm .
- Déminéralisation : résine échangeuse d'ions cationique et anionique à lits séparés, le lavage de la résine se fait avec l'acide chlorhydrique et de d'hydroxyde de sodium
- Filtration : à l'aide de filtres à cartouche de 1 μm , passage de l'eau dans une cuve de stockage d'une capacité de 3000 litre.
- Filtration : à 0,45 μm , l'eau à ce niveau est stérile, puis passage de l'eau à la cuve de stockage, cuve en inox 316L.
- Distillation : par thermo compression, passage dans une cuve de stockage pour la production.

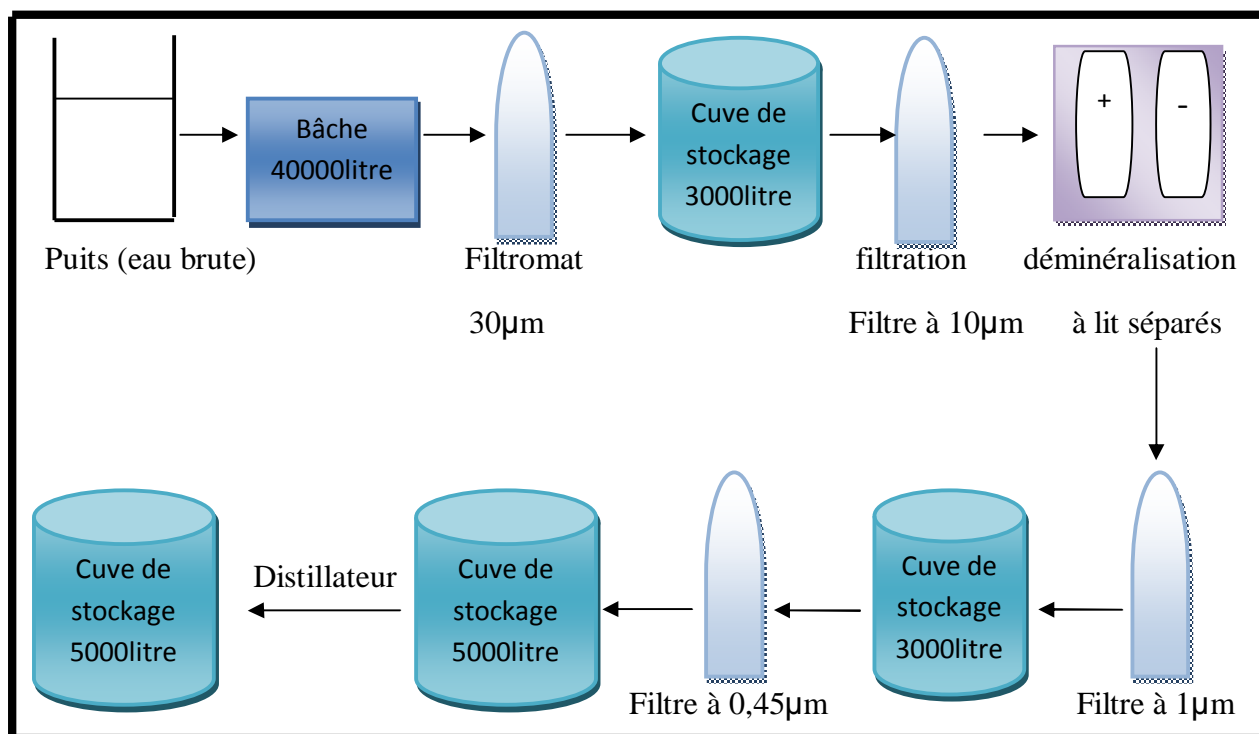


Figure 5 : Schéma SP de l'unité de production d'eau hautement purifiée

1.2.2. Unité de production de l'eau pour préparation injectable :

- Filtration : filtre en gravier à 30µm pour l'élimination du fer, au nombre de 4 en production et un en stand by.
- Adoucissement : résine échangeuse de cation, permet d'avoir une eau douce en éliminant Mg^{2+} et le Ca^{2+} , avec un adoucisseur en production et l'autre en stand by. Une partie de cette eau est orientée vers la chaudière pour la préparation de la vapeur et la stérilisation (autoclave).
- Filtration : filtre à cartouche à 5µm.
- Osmose inverse : les modules au nombre de 10, donc 40 membranes, puis le passage à la cuve de stockage d'une capacité 5000litres.
- Filtration : à 0,2 µm, puis vers la cuve de stockage d'une capacité de 3000litres.
- Distillation : par thermo compression, d'une capacité de production de 2000litre/heure, production d'une eau froide à une température de 18°C à 20 °C pour la production eau PPI, et d'eau chaude avoisinant de 90°C pour la sanitisation.

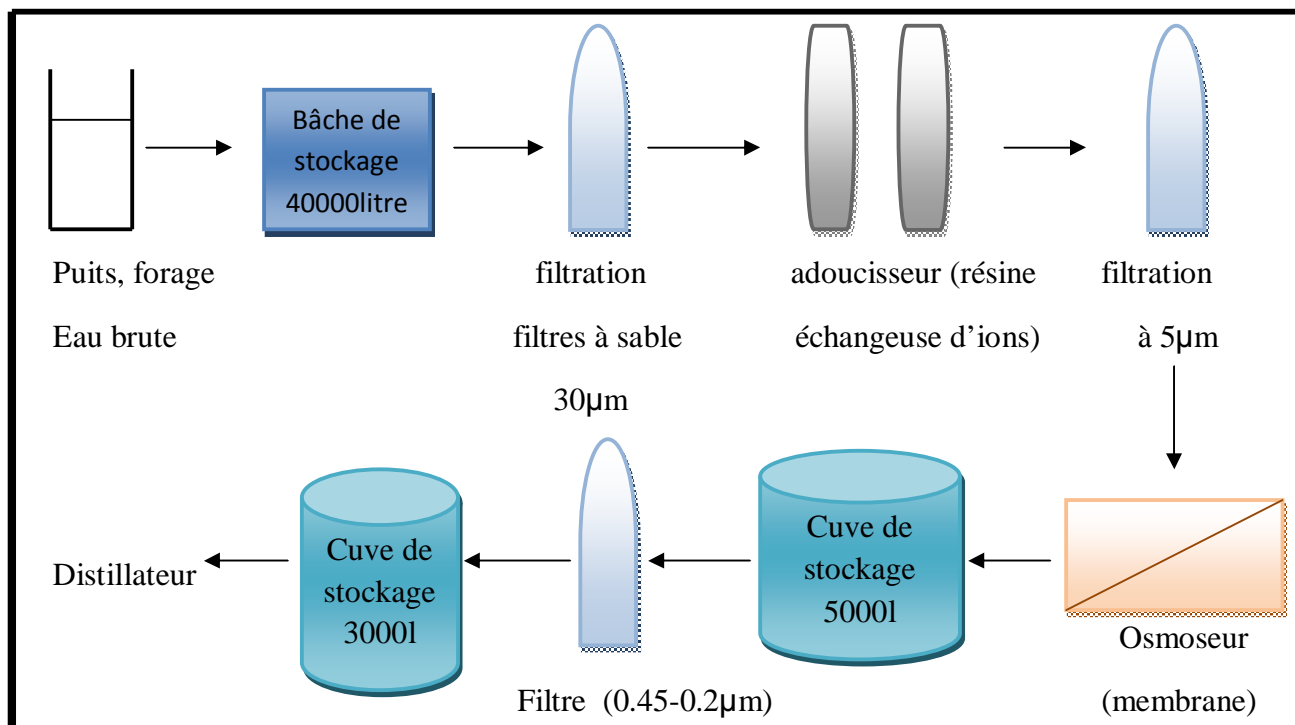


Figure 6 : Schéma de l'unité SMP de l'unité de production d'eau PPI

2. Prélèvement de l'eau :

Le prélèvement de l'eau a été fait selon les procédures données ci-dessous :

2.1. Pour l'analyse physico-chimique :

L'eau contenue dans la cuve de stockage a été prélevée :

- Après avoir ouvert le robinet, laisser couler l'eau durant un moment.
- Remplir un flacon, au préalable stérilisé à 121°C durant 30 minutes dans l'autoclave et étiqueté mentionnant la date, le but et le point de prélèvement.

2.2. Pour l'analyse microbiologique :

- Flamber le contour du prélèvement (la sortie de l'eau) à l'aide d'une flamme.
- Laisser couler l'eau pendant un moment
- Flamber le col du flacon stérilisé à l'ouverture, remplir au maximum et le refermer tout de suite après.

NB : le flacon stérilisé à 121°C pendant 30 minutes sauf pour l'essai des endotoxines, le flacon doit être dépyrogénéisé à 220°C.

1. Analyses physico-chimiques :

1.1. Analyse des eaux pour usage pharmaceutique :

Les essais suivants ont été réalisés selon les monographies de la pharmacopée Européenne sixième édition 2008, les mêmes méthodes de dosage l'eau purifiée, hautement purifiée et pour préparation injectable.

1.1.1. Mesure du pH et conductivité :

▼ pH :

Le pH mètre utilisé SensION (Hach), composé d'une électrode au platine combinée avec une sonde de température, cet appareil doté d'un système de compensation de température à 25°C. Introduire l'électrode du pH-mètre, préalablement rincée avec de l'eau distillée dans un bécher contenant l'échantillon, agiter doucement et lire la valeur sur l'appareil.

▼ Conductivité :

L'appareil utilisé est un conductimètre (Mettler Toledo MC226), équipé d'une électrode de mesure, d'une sonde de température et d'un convertisseur fourni par le fabricant, cet appareil a la propriété de compenser la température pour se ramener à des conditions de mesure à 25°C.

Remplir un bécher avec une quantité suffisante pour l'immersion de l'électrode, lire la valeur en $\mu\text{S}/\text{cm}$ sur le conductimètre.

1.1.2. Essais des nitrates :

- L'échantillon :

Dans un tube à essai placé dans de l'eau glacée, introduisez 5 ml d'eau purifiée en vrac et ajoutez 0,4 ml d'une solution de chlorure de potassium R à 100 g/l, 0,1 ml de solution de diphénylamine R puis, goutte à goutte et en agitant, 5 ml d'acide sulfurique exempt d'azote R. Placez le tube dans un bain-marie à 50 °C.

- Le témoin :

Il est préparé simultanément et dans les mêmes conditions avec un mélange de 4,5 ml d'eau exempte de nitrate R et de 0,5 ml de solution à 2 ppm de nitrate (NO_3) R. [1]

1.1.3. Essais des substances oxydables :

Effectuez l'essai du carbone organique total avec une limite de 0,5 mg/l, ou l'essai suivant des substances oxydables.

Chauffez à ébullition pendant 5 min un mélange de 100 ml d'eau purifiée, de 10 ml d'acide sulfurique dilué R et de 0,1 ml de permanganate de potassium 0,02 M. [1]

1.1.4. Essais des métaux lourds :

- Solution à examiner :

12 ml de la solution aqueuse prescrite de la substance à examiner.

- Solution témoin :

Un mélange de 10ml de solution à 1 ppm de plomb (Pb) R ou de solution à 2 ppm de plomb (Pb) R, comme prescrit, et de 2 ml de la solution aqueuse prescrite de la substance à examiner.

- Solution à blanc :

Un mélange de 10 ml d'eau R et de 2 ml de la solution aqueuse prescrite de la substance à examiner.

A chaque solution, ajoutez 2 ml de solution tampon pH 3,5 R. Mélangez et ajoutez à 1,2 ml de réactif au thioacétamide R puis mélangez immédiatement. Examinez les solutions, après 2 min. [1]

1.2. Analyse des eaux potables et minérales :

Les dosages effectués selon les protocoles établis par la SEAAL pour l'analyse des eaux, qui se réfère aux normes AFNOR/ISO. [6]

1.2.1. Mesure du pH et conductivité :

On procède de la même manière que pour les eaux à usage pharmaceutique.

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

1.2.2. Nitrate :

Tableau 7 : Matériels et réactifs utilisés pour le dosage des nitrates

Matériels	Réactifs
- matériel courant de laboratoire (fiolle, béchers, pipette...) - capsule de 60 ml - étuve portée à 80°C - spectrophotomètre (UV/VIS) Jasco V-530	- Solution d'hydroxyde de sodium à 30% - Solution de salicylate de sodium - Solution d'acide sulfurique concentré à 96%. - Tartrate double de sodium et de potassium

- Mode opératoire :

Introduire 10ml d'échantillon à analyser dans une capsule de 60ml (pour des teneurs en nitrates supérieur à 5 mg/l, opérer par une dilution), alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium, ajouter 1ml de salicylate de sodium, évaporer à sec dans une étuve portée à 80°C, laisser refroidir, reprendre le résidu par 2ml d'acide sulfurique concentré. Attendre 10 min, ajouter 15ml d'eau distillée puis 15ml de la solution de tartrate de sodium et de potassium qui développe la couleur en jaune. Effectuer la lecture au spectrophotomètre.

- Expression des résultats :

Pour une prise d'essai de 10 ml, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en milligrammes par litre d'eau. Pour obtenir la teneur en nitrate (NO₃), multiplier ce résultat par 4,42.

$$\text{Avec : } \frac{M_{\text{NO}_3^-}}{N} = \frac{62}{14} = \frac{[\text{NO}_3^-]}{[\text{N}]} \quad \text{où} \quad \frac{62}{14} = 4,42$$

$$\text{donc } [\text{NO}_3^-] = 4,42 \times [\text{N}]$$

1.2.3. Sulfate :

Tableau 8 : Matériels et réactifs utilisés pour le dosage des sulfates

Matériels	Réactifs
-matériels courant de laboratoire. -spectrophotomètre UV/VIS Jasco V-530	-solution stabilisante -solution de chlorure de baryum 0,01N

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- Mode opératoire :

Prendre 20ml d'échantillon à analyser, ajouter 5ml de la solution stabilisante, agiter quelques secondes, ajouter 2ml de chlorure de baryum, compléter à 100ml d'eau distillée.

Remplir rapidement la cuve avec l'échantillon à analyser, l'insérer sans perdre de temps dans le spectrophotomètre.

1.2.4. Nitrite :

- Réactifs :

Réactif mixte.

- Mode opératoire :

Introduire 50ml de l'échantillon à analyser dans une fiole préalablement lavée, ajouter 1ml du réactif mixte.

Remplir la cuve avec l'échantillon à analyser, l'insérer dans le spectrophotomètre.

1.2.5. Chlorure :

Tableau 9: Matériels et réactifs utilisés pour le dosage des chlorures

Matériels	Réactifs
-burette automatique -matériels courant de laboratoire.	-solution de nitrate d'argent 0,02mole/l -chromate de potassium (indicateur coloré)

- Mode opératoire :

Introduire au moyen d'une fiole, 100ml de l'échantillon (volume V_a), dans un bécher conique placé sur un fond blanc (si la teneur est élevée plus de 200mg/l réaliser d'abord une dilution).

Ajouter 1ml d'indicateur de chromate de potassium et tirer la solution par addition goutte à goutte de solution de nitrate d'argent jusqu'à ce que la solution prenne une couleur brun rougeâtre. Noter le volume V_s .

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- *Essais à blanc* : Titrer une solution à blanc en utilisant 100ml d'eau distillée à la place de l'échantillon, noter le volume de nitrate d'argent versé V_B . ce volume V_B ne doit pas dépasser 0,2ml, dans le cas contraire vérifier la pureté de l'eau (conductivité, pH...).
- Expression des résultats :

La concentration en chlorure C_{Cl} exprimé en mg/l est donnée par la formule suivante :

$$[Cl^-] = [(V_S \times F_D) - V_B] \times 7,1$$

Où :

V_S : le volume en ml de la solution de nitrate d'argent utilisée pour le titrage de l'échantillon.

V_B : le volume en ml de la solution de nitrate d'argent utilisée pour le titrage du blanc.

F_D : facteur de dilution = 10

$$7,1 = \frac{C \times F}{V_a} = \frac{0,02 \times 35453}{100}$$

Où :

C : concentration $AgNO_3$.

F : masse molaire de $Cl \square 1000$

V_a : volume de la prise d'essais.

1.2.6. Calcium et magnésium :

Tableau 10 : Matériels et réactifs utilisés pour le dosage du calcium et magnésium

Matériels	Réactifs
-Dosimat (distributeur automatique, utilisé pour d'EDTA). -matériel courant de laboratoire.	- calcium : <ul style="list-style-type: none"> - solution d'hydroxyde de sodium 2N. - solution titrée d'EDTA à 0,01N - murexide (indicateur coloré).
	-Magnésium : <ul style="list-style-type: none"> - Solution tampon PH 10. - Solution titrée d'EDTA à 0,01mole/l - Noir ériochromeT (indicateur coloré).

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

▼ *Calcium* :

- Référence : norme ISO 6058 NA 1655
- Mode opératoire :

Prélever une prise d'essais de 50ml de l'échantillon, ajouter 2ml de la solution d'hydroxyde 2N et une pincée d'indicateur coloré (Murexide), bien mélanger le tout et titrer avec la solution d'EDTA, en versant lentement. Le virage est atteint lorsque la couleur devient nettement violette. La couleur ne doit plus changer avec l'ajout d'une goutte supplémentaire de la solution d'EDTA.

- Expression des résultats :

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{C_1 V_1 A}{V_0} \times f_c \times 1000 \times F$$

Où :

C_1 : concentration de la solution d'EDTA qui est de 0,01mg/l.

V_0 : volume de la prise 50ml.

V_1 : volume de la solution d'EDTA utilisée pour le dosage.

A : la masse atomique du calcium 40,08g/mole

F_c : facteur de correction du titre ≈ 1

F : facteur de dilution =5 (pour une dilution de 10ml dans 50ml)

▼ *Magnésium* :

- Mode opératoire :

Prélever une prise d'essai de 50ml. Ajouter 4ml de solution tampon ph 10 et une pincée de l'indicateur coloré bien mélanger. La solution doit se colorer en rose.

Titre immédiatement à l'aide de la solution d'EDTA, en versant lentement tout en agitant constamment jusqu'au virage au bleu.

La solution ne doit plus changer par addition d'une goutte supplémentaire de la solution d'EDTA.

- Expression des résultats :

$$[\text{Mg}^{2+}] = (V_{\text{Mg}^{2+}} - V_{\text{Ca}^{2+}}) \times 4,86 \times F_D$$

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- Pour le TH : $TH = V_{Ca^{2+}} \times F_D \times 2$

1.2.7. Teneur en ions bicarbonates (alcalinité) ou TA, TAC :

Tableau 11 : Matériels et réactifs utilisés pour la détermination de l'alcalinité

Matériels	Réactifs
-pH mètre, dosimat. -matériel courant de laboratoire. -agitateur magnétique.	- acide chlorhydrique à 0,01N

- Mode opératoire :

Prendre 100ml de l'échantillon à analyser et mesurer le pH.

Si le PH est supérieur à 8,3. Verser lentement de l'acide chlorhydrique 0,01N pour obtenir 8,3. Noter V_1 (ml) d'acide lu au dosimat. Continuer à verser doucement de l'acide chlorhydrique 0,01N jusqu'à obtenir un PH 4,5. Noter le volume V_2 (ml) d'acide versé pour amener le PH à 4,5.

Si le PH est inférieur à 8,3. Verser lentement de l'acide chlorhydrique 0,01N pour obtenir, noter le volume V_2 (ml) d'acide lu au dosimat.

- Expression des résultats :

$$[CO_3^{2-}] = \frac{(V_1 \times N \times 1000) \times M_1}{V}$$

$$[HCO_3^-] = \frac{(V_2 \times N \times 1000)M_2}{V}$$

Où :

M_1 : la masse molaire des $CO_3^{2-} = 60g$.

M_2 : la masse molaire des $HCO_3^- = 61g$.

V : le volume de la prise d'essai 100ml.

V_1 : le volume d'HCl lu au dosimat pour amener le pH à 8,3.

V_2 : le volume total d'HCl en ml lu au dosimat.

N : la normalité de la solution acide.

1.2.8. Résidus secs :

- Matériels :

Etuve à 105°C, matériel courant de laboratoire, dessiccateur, balance électronique et un bain marie.

- Mode opératoire :
 - Rincer une capsule à l'aide de l'acide sulfurique ou chlorhydrique puis avec de l'eau de robinet pour finir avec de l'eau distillée.
 - Mettre la capsule dans l'étuve à 105°C pendant 1h, la retirer et la mettre dans le dessiccateur, effectuer une pesée et noter le poids (poids vide P_V).
 - Effectuer une prise d'essai de 50ml de l'échantillon à analyser.
 - Mettre au bain marie jusqu'à évaporation de toute l'eau que contient la capsule.
 - Retirer la capsule et la mettre directement dans l'étuve à 105°C pendant 1h.
 - Récupérer la capsule de l'étuve et la placer dans le dessiccateur.
 - Après refroidissement de la capsule, effectuer une pesée et noter le poids (poids plein P_P).
- Expression des résultats :

$$R_S = \frac{(P_P - P_V)}{50} \times 1000 \times 1000 \text{ (mg/l)}$$

Où :

R_S : résidus secs

P_V : poids de la capsule vide.

P_P : poids de la capsule pleine.

1.2.9. Matière organique, substance oxydable ou indice de permanganate :

Tableau 12: Matériel et réactifs utilisés pour la détermination de la teneur en matière organique

Matériels	Réactifs
- Bain marie à 80°C	- Acide sulfurique à 2mol/l
- Matériels courant de laboratoire	- Permanganate de potassium 2mmol/l
	- Oxalate de sodium à 5mmol/l

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- Mode opératoire :

Effectuer une prise d'essais de 100ml de l'échantillon à analyser dans un bécher de 250ml, ajouter 20ml d'acide sulfurique et mettre au bain marie durant 10min. au bout de 10min ajouter 20ml de permanganate de potassium et laisser 10min, au bout de 10min ajouter à l'aide d'une pipette 20ml de la solution étalon d'oxalate de sodium et attendre la décoloration. Retirer le bécher et titrer pendant que la solution est encore chaude avec une solution de KMnO_4 à 2mmol/l jusqu'à une coloration rose pale noter V_E .

Effectuer en parallèle un essai à blanc en utilisant le même mode opératoire, mais en remplaçant la prise d'essais par 100ml d'eau distillée. Noter V_0 le volume de la solution de KMnO_4 consommée. Noter V_2 le volume de la solution de KMnO_4 consommée.

- Expression des résultats :

$$MO = \frac{(V_E - V_{1\text{BLANC}}) \times 16}{V_{2\text{BLANC}}}$$

Où:

MO : matière organique.

1.2.10. Métaux :

- ✓ *Sodium, potassium, fer, manganèse, zinc :*

Le dosage des métaux se fait par spectrométrie d'absorption atomique, l'appareil utilisé est de marque PERKINLMER800.

- ✓ *Aluminium :*

Tableau 13: Matériels et réactifs utilisés pour le dosage de l'aluminium

Matériels	Réactifs
-spectrophotomètre UV/VIS Jasco V-530 -matériel courant de laboratoire.	- Thiosulfate de sodium 0,028 N - Acide ascorbique concentration 10g/l - Acide sulfurique - Solution tampon pH 6,2 - Solution fille d'eriochrome cyanine.

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- Mode opératoire :

Verser 25ml de l'échantillon à analyser dans une fiole de 50ml, ajouter dans l'ordre les réactifs suivant : 0,5ml de thiosulfate de sodium à 0,028N et agiter, 1ml d'acide ascorbique concentration 10g/l, 1ml d'acide sulfurique 0,04N, 10ml de la solution tampon pH 6,2 et 5ml de la solution fille d'eriochrome cyanine.

Compléter chaque fiole à 50ml avec de l'eau distillée, et homogénéiser.

Laisser reposer 10min avant mesure au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 535nm.

2. Analyse microbiologique :

2.1. Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables :

Tableau 14: Matériels et milieu de culture utilisés pour la recherche des microorganismes revivifiables

Milieu de culture	Matériels
Gélose T.G.E.A	boîte pétri : diamètre 55mm stériles, à usage unique. pipettes stériles à usage unique. étuve à 37°C et à 22°C. Bain d'eau thermostaté. bec Bunsen, compteur de colonies.

- Mode opératoire:
 - Prendre deux boîtes Pétri vides, les numéroter.
 - Porter aseptiquement 1ml de l'échantillon à analyser.
 - Ajouter 15 à 20ml du milieu fondu et refroidi.
 - Mélanger avec précaution par rotation lente, laisser refroidir.
 - Retourner les boîtes et incuber : une à 37°C pendant 44±4h (1^{ère} lecture), et l'autre à 22°C pendant 68±4h (2^{ème} lecture).

Le temps entre l'addition de milieu fondu et l'addition de la prise d'essais ne doit pas excéder 15 minutes.

Chapitre VI : Matériels et méthodes d'analyse

- Dénombrement :
 - Retirer les boites des étuves et compter les colonies présentes dans chaque boite.
 - Calculer le nombre estimé d'unités formant colonies.

2.2. Recherche des bactéries coliformes et d'Escherichia Coli :

Tableau 15: Matériels et milieu de culture utilisés pour la recherche de coliformes et d'E.Coli

Milieu de culture	Matériels
Tergitol	<ul style="list-style-type: none">- rampe de filtration en acier inoxydable stérilisée à la flamme avant chaque analyse.- Membranes de filtration stériles de 0,45µm de porosité.<ul style="list-style-type: none">- Pincés.- Etuves à 37°C et 44°C.- Boites Pétri de diamètre 55mm.<ul style="list-style-type: none">- Bec bunsen.- Trompe à vide.- Pipettes stériles à usage unique (pipette pasteur).

- Mode opératoire :
 - Stériliser la surface supérieure de la rampe de filtration ainsi que la plaque poreuse.
 - Prélever une membrane de son emballage à l'aide d'une pince stérile et la poser sur la plaque poreuse de la rampe de filtration.
 - Verser 100ml d'eau à analysée et ouvrir le robinet de la rampe pour laisser l'eau s'écouler.
 - Dès que la quantité d'eau est filtrée, prélever la membrane avec une pince stérile en la saisissant par son bord.
 - Déposer la membrane sur le milieu Tergitol.
 - Incubation à 37°C pendant 22±2h, le couvercle vers le bas.

2.3. Recherche des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices :

Tableau 16: Matériels et milieu de culture utilisés pour la recherche des spores et des bactéries anaérobies sulfito-réductrices

Milieu de culture	Matériels
gélose base viande-foie. additif alun de fer. additif sulfite de sodium.	les mêmes que pour la recherche des bactéries coliformes et E.Coli mis à part le filtre qui sera de 0,22µm.

- Mode opératoire :
 - Avant de procéder à l'essai, l'échantillon à analyser doit être chauffé dans un bain marie à 75°C±5 pendant 15min à partir du moment où cette température a été atteinte.
 - Refroidir immédiatement sous l'eau de robinet jusqu'à température ambiante.
 - Filtration de 100ml sur une membrane de 0,22µm.
 - Après filtration, enlever la membrane avec une pince stérile et la placer, face supérieure tournée vers le bas dans le fond d'une boîte pétri en s'assurant qu'il ne reste pas de bulles d'air sous la membrane.
 - Ensuite verser soigneusement le milieu de culture liquéfié avec additifs, jusqu'au rebord de la boîte de pétri.
 - Incuber à 37°C pendant 22±2h (1^{ère} lecture) et 44±2h (2^{ème} lecture).

2.4. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

- Milieu de culture :

Gélose au Cétrimide.

- Matériels utilisés :

Le même que pour la recherche des coliformes.

- Mode opératoire :
 - Après stérilisation de la rampe, filtrer la prise d'essai de l'échantillon à travers une membrane filtrante d'une porosité de 0,45µm.
 - Dépôt de cette dernière sur un milieu sélectif, gélose au cétrimide.
 - Incubation à 37°C pendant 48h.

2.5. Essais des endotoxines bactériennes :

La méthode avec laquelle l'essai a été réalisé est la méthode de gélification, utilisée pour sa simplicité, la décision de déclarer le résultat de l'essai positif ou négatif reposant sur la présence ou de l'absence de gélification visible à l'œil nu.

- Réactifs :

Le lysat d'amoebocytes de limule (LAL).

- Mode opératoire :

Après prélèvement de l'échantillon à analyser dans des flacons dépyrogénisés(c'est-à-dire stérilisée à une température à plus de 220 °C). Faire une prise d'essais de 100µl qu'on mélange à 100µl de réactif LAL.

Laisser pendant une heure. [1]

NB : Cet essai est réalisé seulement pour les eaux à usage pharmaceutique.

Chapitre VII : Résultats et discussions

Dans ce chapitre VII, nous avons présenté toutes les mesures et analyses des eaux utilisées en pharmacie, de l'eau de consommation de la ville d'Alger et de l'eau minérale de marque SAIDA ainsi que les interprétations et les discussions des résultats obtenus.

1. L'analyse physico chimique des eaux pour usage pharmaceutique :

L'analyse a concerné, dans un premier temps, l'évaluation de matières nuisibles et/ou polluantes se rapportant aux paramètres suivants : couleur, odeur, pH, conductivité, température, nitrates, substances oxydables, métaux de transition zinc, manganèse, fer et métaux alcalins sodium et potassium dans l'eau purifiée (EP), l'eau hautement purifiée (EHP) et l'eau pour préparation injectable (EPI).

Les résultats préliminaires obtenus pour certains paramètres sont représentés sur la figure7 et consignés dans les tableaux17 et 18.



Résultats de l'essai des nitrates
(EP, EHP, EPPI, témoin)

Résultats de l'essai des substances
oxydables (EP, EHP, EPPI, eau potable)

Résultats des métaux lourds
(EP, EHP, EPPI, témoin, blanc)

Figure 7: Les résultats des essais physicochimiques.

Chapitre VII : Résultats et discussions

Tableau 17: Résultats des essais physicochimiques pour les eaux pharmaceutiques

Essais	pH	Conductivité (µS/cm)		Nitrates	Substances oxydables	Métaux lourds
		20°C	25°C			
Eau purifiée	6,65	4,13	4,3	Aucune coloration après 24h coloration en bleu pale	Aucune coloration	Aucune coloration
Eau hautement purifiée	6,01	0,54	1,19	Aucune coloration	Légèrement coloré en rose	Aucune coloration
Eau pour préparation injectable	5,44	0,56	1,74	Aucune coloration	Légèrement coloré en rose	Aucune coloration

Tableau 18: Résultats des métaux des eaux pour usage pharmaceutique réalisée par SAA

	Na ⁺ (mg/l)	K ⁺ (mg/l)	Fe ²⁺ (mg/l)	Mn ²⁺ (mg/l)	Zn ²⁺ (mg/l)
EP	<5	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05
EHP	<5	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05
EPPI	<5	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05

1.1 Comparaison et discussion des résultats obtenus:

1.1.1. Caractère organoleptique (couleur et odeur) :

Les différentes eaux analysées présentent un aspect limpide, elles sont incolores et inodores.

1.1.2. pH :

Sur la figure 8, nous avons représenté les valeurs du pH de ces eaux que nous comparons aux valeurs de pH requises selon les normes de la pharmacopée Européenne. La valeur du pH de ces eaux varie de l'origine d'une eau à une autre. Elle est de 5.44 pour une eau pour préparation injectable et elle est, respectivement, de 6.65 et 6.04 pour une eau purifiée et une eau hautement purifiée. Les trois valeurs de pH obtenues sont bien conformes aux normes comprises dans l'intervalle [5-7] requises par la pharmacopée Européenne. [1]

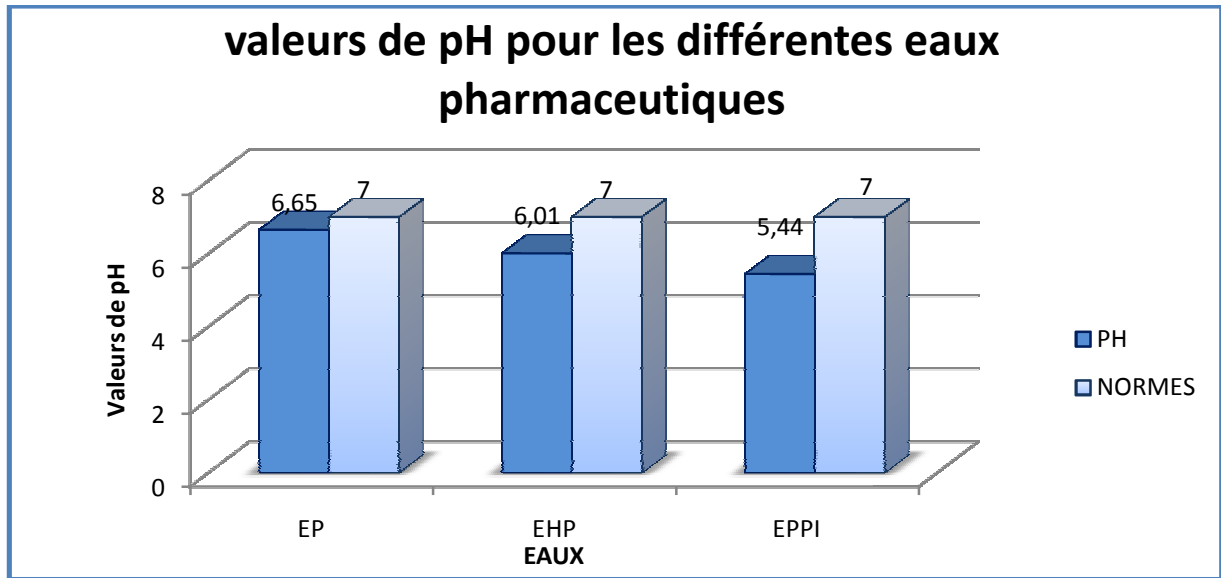


Figure 8: Histogramme de comparaison du pH mesuré avec les normes admises dans les eaux pharmaceutiques.

1.1.3. Conductivité :

La mesure de la conductivité d'une eau permet d'évaluer la teneur en sels dissous et dépend de la température.

Les valeurs de la conductivité mesurées à 20 °C pour les différentes eaux étudiées sont reportées sous formes d'histogrammes sur la figure 3. Elle est de 4.13 μ S/cm pour une eau purifiée et de 0.54 environ pour et une hautement purifiée et à 0,56 pour une eau pour préparation injectable.

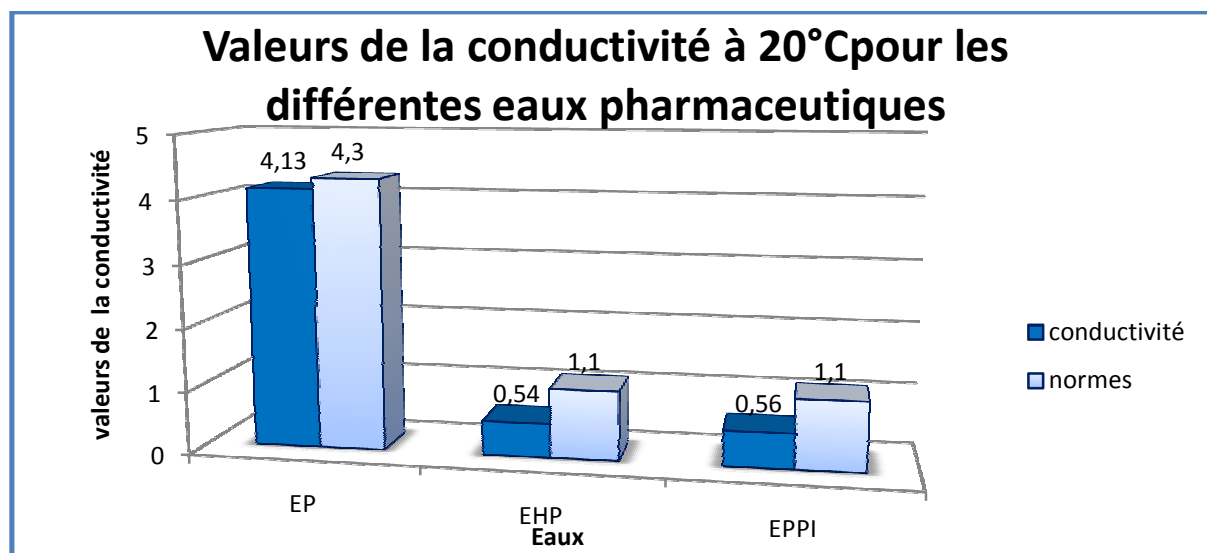


Figure 9: Les résultats de la conductivité à 20°C et les normes de la pharmacopée Européenne 6ème édition

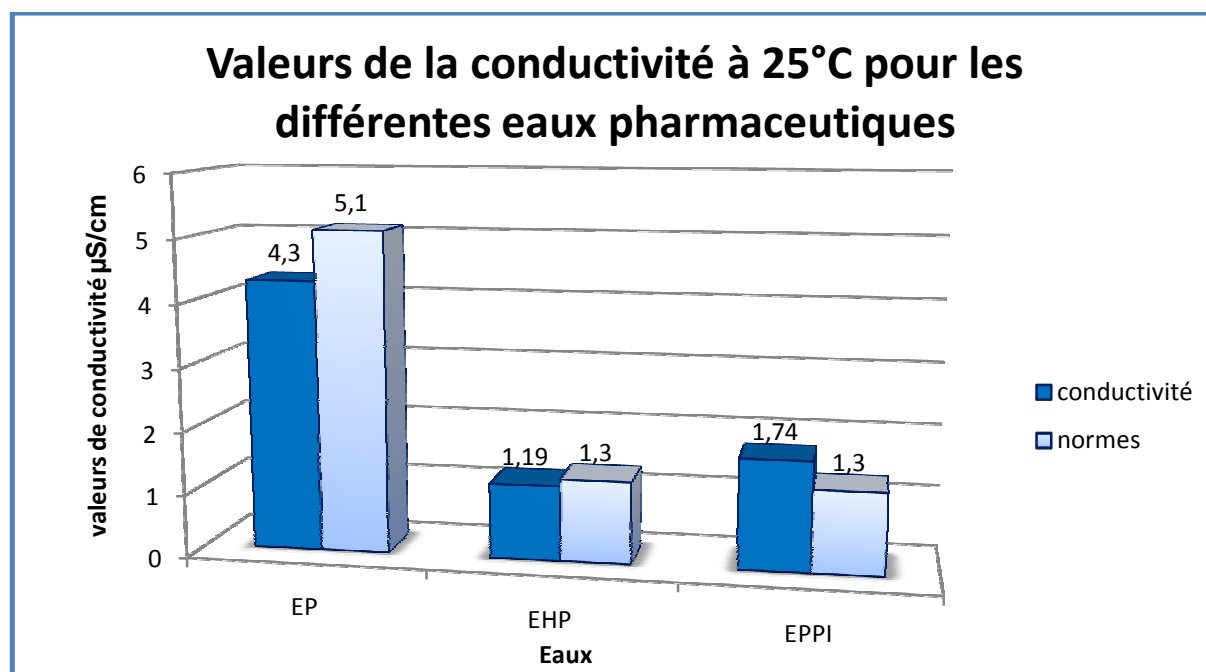


Figure 10: Les résultats de la conductivité à 25°C et les normes de la pharmacopée européenne 6ème édition

Pour les eaux à usage pharmaceutique analysées, les valeurs de la conductivité de l'eau purifiée (EP) et de l'eau hautement purifiée (EHP) mesurées à la température de 25 °C sont de 4.3 $\mu\text{S/cm}$ et 1.19 $\mu\text{S/cm}$, elles sont inférieures aux valeurs respectives 5.1 $\mu\text{S/cm}$ et 1.3 $\mu\text{S/cm}$ admises dans la norme de la pharmacopée Européenne 6ème édition[1].

Pour ce qui est de l'eau pour préparation injectable, la valeur de la conductivité est de 1,74 $\mu\text{S/cm}$, elle est légèrement plus élevée que la valeur de la norme, ceci revient à l'élévation de la température au cours du transport de l'échantillon, car la conductivité s'élève avec la température.

1.1.4. Nitrate :

Pour déterminer la présence des nitrates dans les différentes eaux étudiées, des échantillons ont été traités selon la procédure analytique décrite au chapitre VI. 1.1.2.

D'après les résultats des analyses de la présence des nitrates effectuées sur les différentes eaux étudiées, nous remarquons que la coloration bleue observée pour le témoin est quasiment absente dans les eaux analysées. L'eau hautement purifiée et l'eau pour préparation injectable sont limpides et incolores, par contre, l'eau purifiée est légèrement colorée en

Chapitre VII : Résultats et discussions

bleu pâle. Conformément à la réglementation de la pharmacopée, la teneur en nitrates de ces eaux est donc inférieure à 0,2ppm.

1.1.5. Substance oxydable :

Des essais sur la présence de substances oxydables dans les différentes eaux étudiées (EP, EHP, EPPI et Eau potable) ont été effectués.

Toutes les eaux pharmaceutiques et notamment l'eau brute traitée sont incolores ou légèrement colorées en rose pâle. Cette observation indique que ces eaux sont exemptes de substances oxydables et sont donc en bonne conformité avec les normes de la pharmacopée dont la teneur en substances oxydables dans ces eaux est fixée à 0,5mg/l.

1.1.6. Métaux :

Des tests d'analyse qualitative sur la présence des ions métalliques alcalins Na^+ , K^+ ainsi que l'analyse des ions des éléments métalliques Fe^{2+} , Mn^{2+} les plus rencontrées dans l'eau et des ions Al^{3+} qui peuvent entraîner de graves désordres du métabolisme ont été effectués. Les résultats obtenus ont montré, qu'après traitement des échantillons des différentes eaux à usage pharmaceutique, on n'observe aucune précipitation ni changement de coloration des échantillons étudiés et aucun élément métallique n'a été détecté. Les eaux de l'unité pharmaceutique SAIDAL traitées sont donc conformes aux normes requises.

Afin de s'assurer de l'absence de ces métaux dans les échantillons, nous avons dosé les métaux considérés par la technique d'absorption atomique à flamme. Les résultats des dosages ont montré que les métaux sont absents dans tous les échantillons analysés.

Les valeurs des dosages des métaux dans les eaux pharmaceutiques analysées par SAA sont toutes au dessous des seuils fixés par la réglementation de la pharmacopée. Cela démontre une fois de plus le degré de pureté très élevé de ces eaux.

Chapitre VII : Résultats et discussions

2. L'analyse physico chimique des eaux potable et minérale :

2.1. Résultats des dosages physico chimiques :

Tableau 19: Résultats des dosages physico chimiques de l'eau potable et minérale

Paramètres	Unités	Eau potable	Eau minérale (SAIDA)	
			Résultats obtenus	Étiquette sur la bouteille
Paramètres physique et chimique				
pH	-	7,85	7,72	7,5
Conductivité	µS/cm	892	1002	-
Dureté (TH)		44,5	40,2	-
Indice de permanganate	mg/l	0,55	-	-
Résidus secs		320 à 105°C	572 à 105°C	478 à 180°C
Calcium	mg/l	100	76,95	68
Magnésium	mg/l	53	51,03	50
Chlorure	mg/l	102,97	107,139	81
Sulfates	mg/l	525,5	141,15	65
Nitrites	mg/l	<0,02	0	0
Nitrates	mg/l	10	6,84	15
Bicarbonates		130	362,6	376
Métaux				
Zinc	mg/l	-	<0,05	-
Sodium	mg/l	117,2	54,38	58
Potassium	mg/l	12,32	2,26	02
Fer	mg/l	0,11	<0,05	-
Manganèse	mg/l	<50	<0,05	-
Aluminium	mg/l	<0,2	-	-

3. Etude comparative des paramètres entre les eaux pharmaceutique, eau potable et l'eau minérale (SAIDA) :

3.1. Etude comparative du pH :

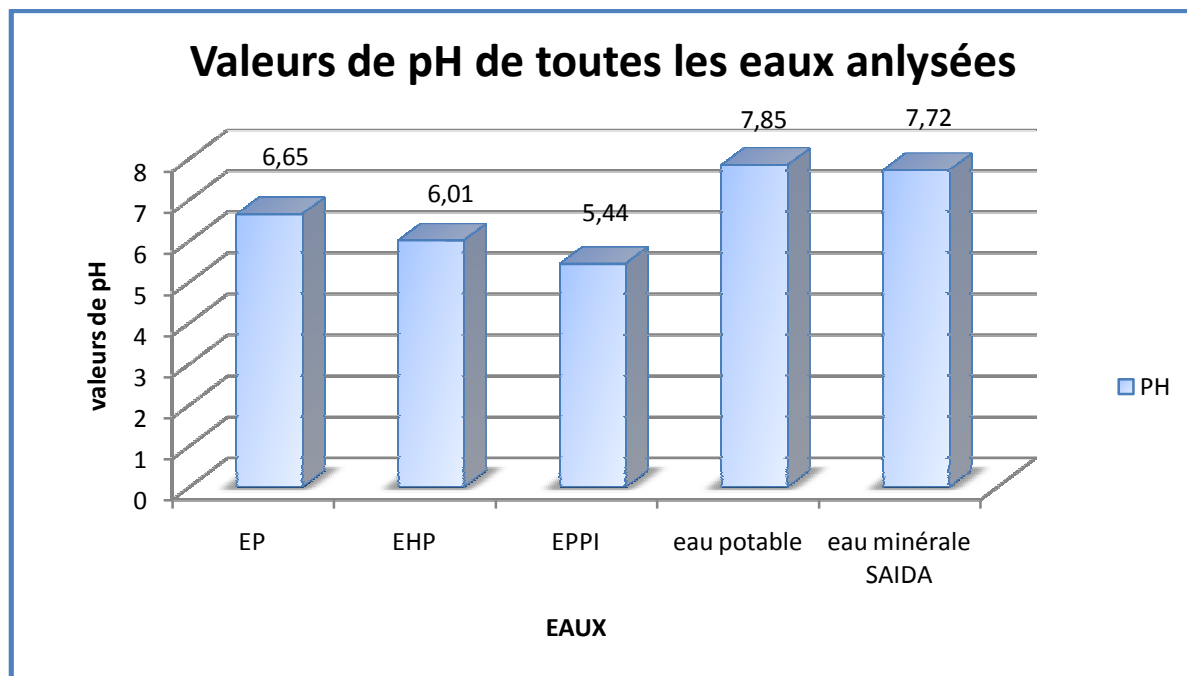


Figure 11: Histogramme de comparaison du PH de toutes les eaux analysées.

Sur la figure 11, nous avons représenté, sous forme d'histogrammes, les valeurs de pH obtenues à 25 °C pour les différentes eaux étudiées.

Le pH varie selon l'ordre suivant :

Eau potable > Eau minérale SAIDA > Eau Purifiée > Eau hautement purifiée > Eau pour préparation injectable.

La valeur élevée du pH pour l'eau potable et l'eau minérale SAIDA s'explique par le fait que l'eau de ville et les eaux minérales, en général, subissent un traitement physico chimique de sorte à ce que le pH de cette eau soit compris entre l'intervalle [6,5-8,5] conforme à la norme requise (tableau6).

C'est cette même eau de ville qui arrive à l'unité pharmaceutique de production d'eau ultra pure en subissant un traitement physico chimique beaucoup plus « stricte », abaisse le pH à des valeurs comprises entre 5,5 et 7,0.

Chapitre VII : Résultats et discussions

La valeur de pH de l'eau purifiée est légèrement supérieure à celle de l'eau hautement purifiée et à celle de l'eau pour préparation injectable. Ceci est dû à l'injection d'ozone durant la désinfection.

3.2. Étude comparative de la Conductivité :

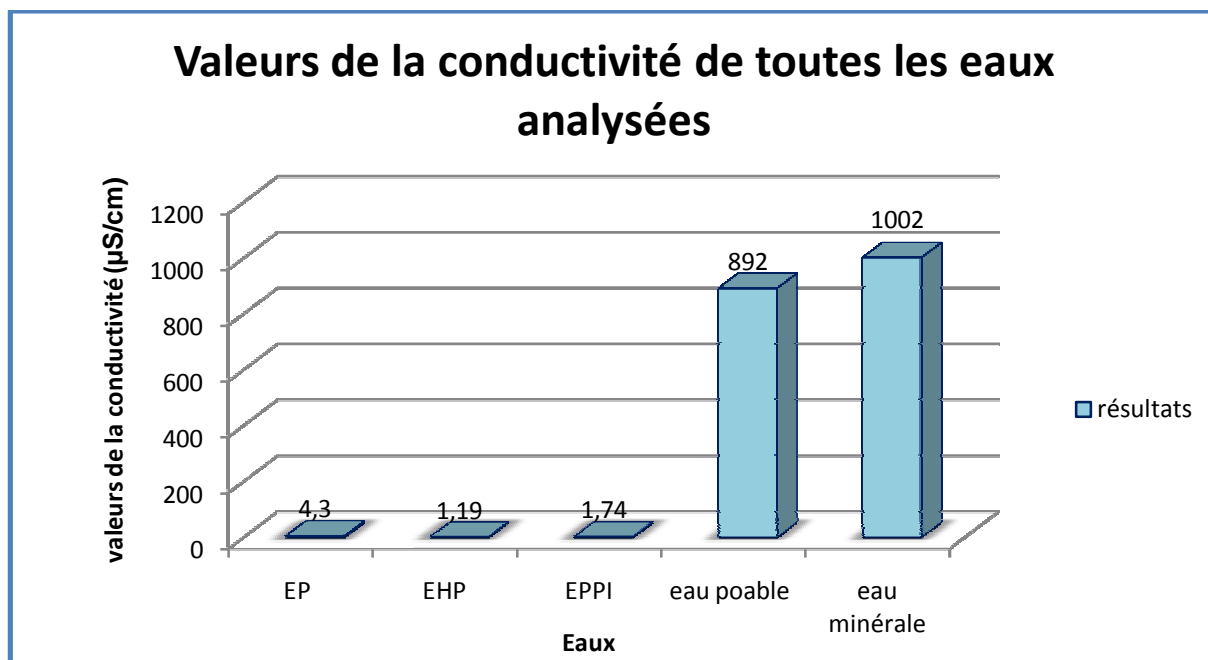


Figure 12: Histogramme de comparaison de la conductivité des eaux analysées

Les valeurs de la conductivité obtenus pour les eaux EP, EHP, EPPI sont faibles et ce en raison de la forte déminéralisation assurée par les résines échangeuses d'ions et les membranes d'osmose inverse. Cette faible conductivité se distingue beaucoup plus pour l'eau EHP (1,19 µS/cm) et l'eau EPPI (1,74µS/cm), car la distillation qui est effectuée en plus des traitements par résines échangeuses d'ions et membrane d'osmose inverse permet d'éliminer une grande partie des sels minéraux...

Par contre, l'eau potable et l'eau minérale doivent contenir des sels minéraux en quantité conforme aux normes requises, leurs conductivités sont donc plus élevées (892 et 1002µS/cm respectivement).

3.3. Etude comparative des nitrates :

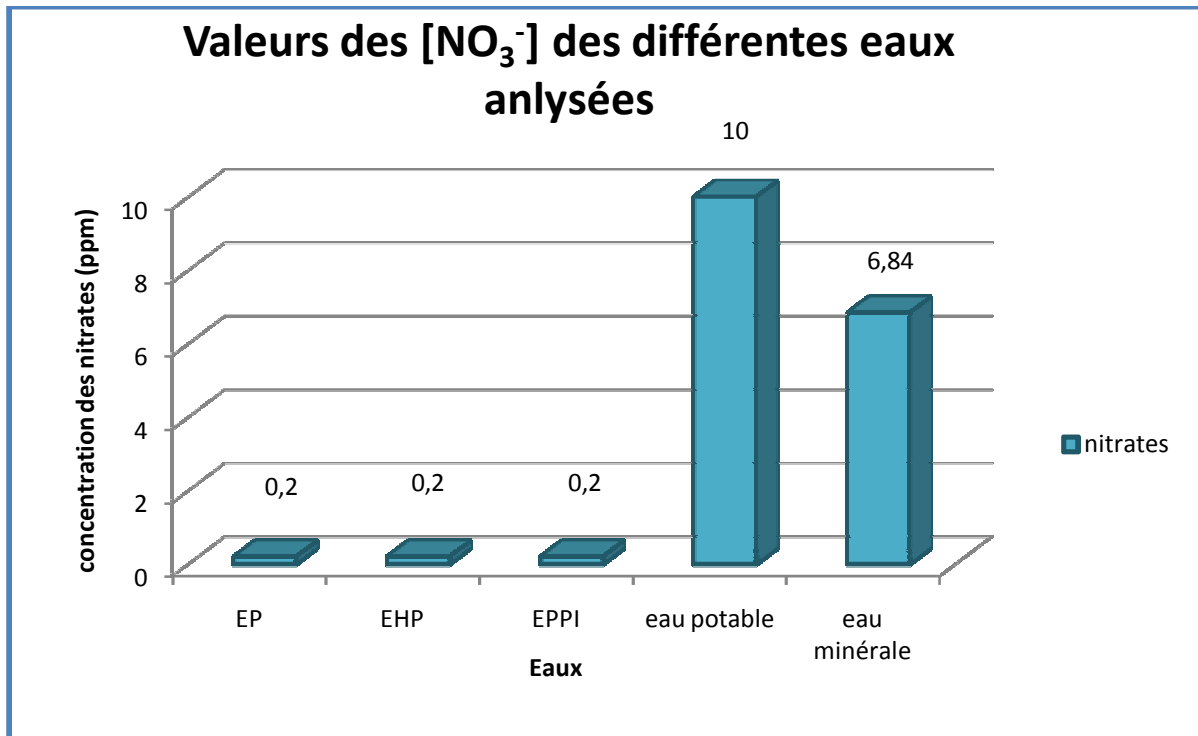


Figure 13: Histogramme de comparaison des valeurs des nitrates des eaux analysées

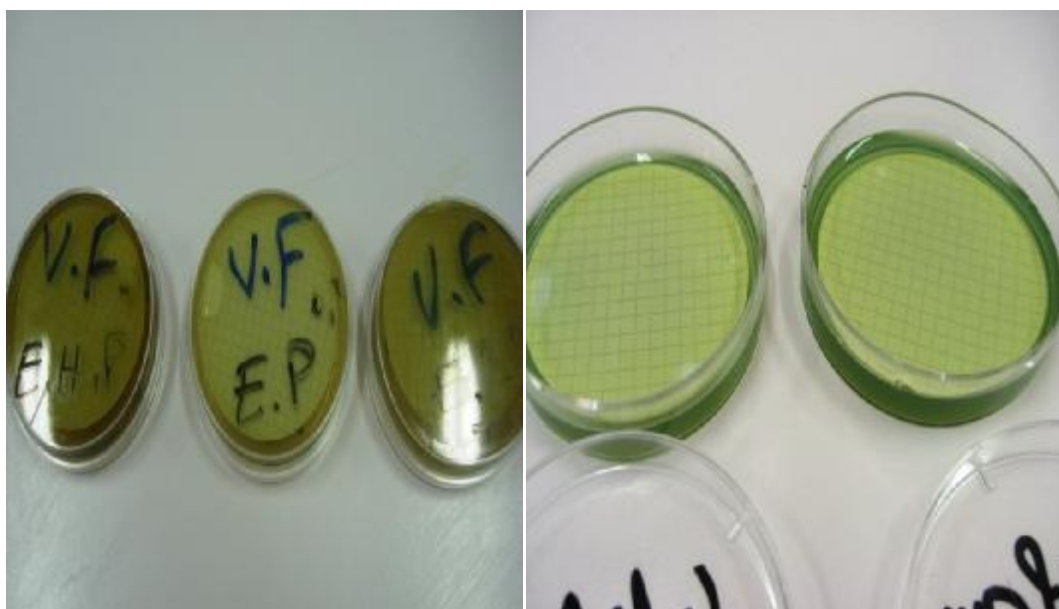
L'eau potable et l'eau minérale contiennent des quantités de nitrates plus importantes que les eaux à usage pharmaceutique ayant subi un traitement par procédé membranaire et par résine échangeuses qui éliminent de manière efficace les nitrates. La teneur en nitrates trouvée dans les eaux à usages pharmaceutiques est de 0,2 ppm alors que la teneur en nitrates de l'eau potable et de l'eau minérale est respectivement de 10 et 6,84 ppm.

3.4. Etude comparative des substances oxydables :

L'analyse des échantillons d'eau a montré que la quantité en substances oxydables présentes est de 0,5 mg/l pour les eaux à usages pharmaceutiques et elle est de 0,55 mg/l pour l'eau potable. La teneur des substances oxydables sont très faibles par rapport aux normes admises pour les deux types d'eaux.

4. Analyse microbiologique :

4.1 Résultats obtenus :



Résultats de recherche des bactéries

Résultats de recherche des coliformes

Sulfitoréductrices y compris les spores

Figure 14: Exemple de résultats obtenus sur l'analyse microbiologique

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus sont représentés dans le tableau 20 :

Tableau 20: Résultats des analyses microbiologiques obtenus pour toutes les eaux analysées

Essais			Résultats				
Bactéries	Milieu	Colonies	EP	EHP	EPPI	Eau potable	Eau minérale (Saida)
Coliformes et E.Coli	Tergitol	Jaunes	-	-	-	-	-
Pseudeumonas	Cétrimide	Bleu-vertes	-	-	-	-	-
Germes revivifiables	22°C	TGEA	Blanchâtres	-	-	-	-
	38°C			-	-	-	-
Spores et bactéries sulfito-réductrice	Gélose viande foie + additifs	Noires	-	-	-	-	-

(-) résultats négatifs, absence de colonies.

4.2 Discussion des résultats :

Le contrôle de la pureté microbiologique des eaux analysées, a révélé une absence de toute trace bactérienne et donc conformes, comme cité dans la pharmacopée européenne [1] et (tableau 6 chapitre IV)

L'absence de toutes formes de contamination bactérienne dans l'eau purifiée revient au fait que la désinfection effectuée lors du traitement de purification une ozonation suivit d'une stérilisation UV (chapitre II.2.4), assurent une eau d'une grande pureté microbiologique.

Quant à l'eau hautement purifiée et l'eau pour préparation injectable le fait quelles soient exemptes de bactéries est dû aux nombreuses filtrations subit (jusqu'à 0,45µm), rendues stériles avant même d'arriver à la filtration membranaire ou encore la distillation.

Les eaux potable et minérale respectent les normes comme indiqué dans le tableau 6, l'eau potable ayant subit toute une série de traitement pour la rendre propre à la consommation humaine y compris la chloration qui assure la désinfection la rendant ainsi exempte de toute présence bactérienne.

4.3 Test des endotoxines :

Le test s'est avéré positif, l'échantillon d'eau contenant des endotoxines du au fait que le contact de cette eau avec le réactif LAL a provoqué une gélification selon le mécanisme suivant :

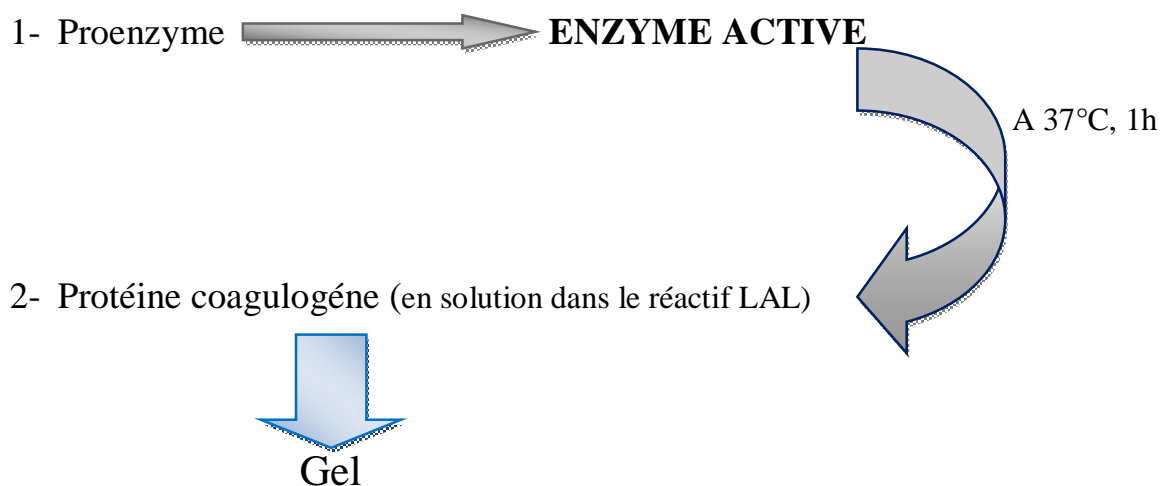


Figure 15 : Mécanisme de gélification du LAL en contact des endotoxines

Chapitre VII : Résultats et discussions

Le flacon avec lequel le prélèvement a été fait a été stérilisé à 121°C pendant 30min ce qui détruit les bactéries tout en laissant des débris de parois bactérienne, là ou les endotoxines sont présente. Contrairement à une dépyrogénéisation à 220°C cela les aurait détruits.

L'étude des paramètres de la qualité d'une eau à usage pharmaceutique de l'unité SAIDAL spécialisée dans la fabrication de médicaments et de produits pharmaceutiques a montré que les eaux traitées sont de grande pureté et ne présentent aucun danger quant à leur utilisation par les patients. Une eau d'une grande pureté qui satisfait à tous les essais.

Conclusion générale

Les industries pharmaceutiques utilisent des ressources naturelles en eau, ce qui les contraints à l'emploi des traitements les plus poussés de leurs eaux de process pour les besoins de leur production.

Ceci est la conséquence d'un cadre réglementaire strict régissant leurs activités et leur imposant une qualité d'eau très élevée si elle entre en contact direct ou indirect avec le produit finit. L'industriel de la pharmacie n'a d'autres alternatives que de répondre aux exigences des bonnes pratiques de fabrication et des pharmacopées.

Ce travail nous a donc permis de comprendre le rôle que joue l'eau dans la fabrication d'un médicament, et donc la nécessité de l'utilisation d'une eau ultrapure dans l'industrie pharmaceutique.

Une des questions principales du mémoire était de connaître la composition chimique et microbiologique de l'eau pour usage pharmaceutique, c'est dans ce contexte que nous avons effectué des essais physicochimiques et microbiologiques réalisés sur des échantillons d'eaux prélevées dans les unités de production d'eau purifiée BIOTIC « SAIDAL »,

Comme nous l'avons longuement dit dans ce mémoire, toutes les analyses effectuées sont régité par la pharmacopée Européenne 6^e édition en vigueur.

Tout le long de la partie expérimentale, nous avons apporté des réponses en ce qui concerne la composition des différentes eaux à usage pharmaceutiques, et ce qui la différencie d'une eau potable de consommation humaine et une eau minérale.

Nous avons pu voir que tous les essais (pH, conductivité, nitrates, substances oxydables, bactéries...), étant conformes aux normes imposées par la pharmacopée Européenne 6^e édition (2008) en vigueur, témoigne aussi de la validation de la chaîne de purification d'eau.

Nous pouvons ainsi dire, que le leader national du médicament générique, SAIDAL contribue autant que possible à prévenir, traiter et améliorer la qualité de vie des citoyens en répondant aux besoins médicaux majeurs.

Références bibliographiques

- [1] Pharmacopée Européenne. (2008).6.0 édition.
- [2] J.DANGOUMAU et al.(2006). Pharmacologie générale. 3.
- [3] A3P, séminaire. L'eau dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique.
- [4] F.Lerari., C.Meddad. Maitrise de la qualité de l'eau purifiée et son application pour valider une procédure de nettoyage. Thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Alger.
- [5] C.Peuchot., IFTS. Eaux pure et ultra pure : traitements et usages. Salles propres n°78. 21.
- [6] J.RODIER., B.Legube, N.Mrlet et Coll. L'analyse de l'eau. 9ème édition.
- [7] A3P, séminaire, eaux pharmaceutique ; rappels et généralités, production d'eau pharmaceutiques. Veolia Water.
- [8] C.Trailland. (2006). Actualités pharmaceutique hospitalière, les différents traitements de l'eau en stérilisation. Volume 2, issue 5. 10-49.
- [9] F.Sadghipour. Cours de 2ème année de master en pharmacie. Préparation pharmaceutique en petites quantités, eau pour l'usage pharmaceutique, introduction à la formulation pharmaceutique : Ecole de pharmacie, Genève, LAUSSANE. P4, 8-10.
- [10] F.Dimascio., J.Wood, J.M.Fenton. Continuous electrodeionization: production of high-purity water without regeneration chemical. The electrochemical society interface, (1998), 26-29.
- [11] G.C.Ganzi., Y.E.Gozy., A.J.Guffrida. (1987). High purity water by Electrodeionization. Performance of the ionpure continuous deionization system.ultrapure water journal, 43-50.
- [12] G.C.Ganzi., F.Dimascio., G.H.Wood. (1997).Theory and practice of continuous electrdeionization. Ultrapure water journal, 64-69.
- [13] Millipore's Technologie on electrodeionization systems for the production of ultrapure water, International research articles, Paris.
- [14] E.Riboni., C.Saint Martin. (1997). Purification de l'eau dans l'industrie. 27-124.
- [15] J.C.Joret., Y.Levi. (1986). Méthode rapide d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique. Trib. Cebedeau 39, 3-9.

Références bibliographiques

- [16] R.J.Miltner., H.MShukairy., R.S.Summers. (1992). Disinfection by-product formation and control by ozonation and biotreatment, Amer.J Water Works Assoc. 53-62.
- [17] A.Fager., C.Niezborala., M.Vaar. (2002). L'eau ultrapure obtention et application.
- [18] S.Kson., E.Laporte. les exigences des différentes pharmacopées en matière d'eau pharmaceutique. Salles propres n°78.
- [19] Comité technique régional de l'environnement hospitalier. L'eau dans les établissements de santé.
- [20] Contrôle Qualité en Hémodialyse, A.M. Collin, A. Detalminil, Projet TSIBH, UTC, 04-05. URL : <http://www.utc.fr/~farges/>
- [21] C.Peuchot., IFTS. Eaux pures et ultrapures : traitements et usages. Salles propres n°78. 21.

Annexes

Annexe 1 : Préparation des solutions pour le dosage des nitrates :

- Solution de salicylate de sodium :

Dissoudre 0,5g de salicylate de sodium (commercial) dans 100ml d'eau distillée. Cette solution est renouvelable toutes les 24h.

- Solution de tartrate double de sodium et de potassium :

Dissoudre 400g d'hydroxyde de sodium dans de l'eau distillée dans une fiole de 1000ml, ajouter 60g de tartrate double de sodium et de potassium, laisser refroidir et compléter avec l'eau distillée. La solution est conservée dans un flacon en polyéthylène à 4°C jusqu'à 1 mois.

- Solution d'hydroxyde de sodium à 30% :

Dissoudre 30g d'hydroxyde de sodium dans 100ml d'eau distillée.

Annexe 2 : Préparation des solutions pour le dosage des sulfates

- Solution stabilisante :

Dans une fiole jaugée de 1000ml, mettre 100ml d'eau distillée. Ajouter 60ml d'acide chlorhydrique pur (densité 1,19) puis 200ml d'éthanol, 150g de chlorure de sodium (NaCl) et 100ml de glycérol. Compléter à 1000ml avec de l'eau distillée. Cette solution se conserve 2 semaines dans un flacon brun à 4°C.

- Solution de chlorure de Baryum, 0,01N :

Peser 150g de chlorure de baryum (BaCl_2), verser dans une fiole de 1000ml et y ajouter 5ml d'acide chlorhydrique pur. Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Cette solution se conserve 2 semaines dans un flacon brun à 4°C.

Annexe 3 : Préparation des solutions pour le dosage des chlorures

- Solution de nitrate d'argent à 0,02mole/l :

Dissoudre dans de l'eau distillée 3,397g de nitrate d'argent (AgNO_3), séchés au préalable à l'étuve à 105°C pendant 2 heures, et compléter avec de l'eau distillée à 1000ml dans une fiole jaugée.

Annexes

- Chromate de potassium (indicateur) :

Dissoudre dans de l'eau distillée 10g de chromate de potassium K_2CrO_4 et compléter à 100ml.

Annexe 4 : Préparation des solutions pour le dosage du calcium et magnésium

- Solution d'hydroxyde de sodium à 2N :

Dissoudre 8g d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 100ml d'eau distillée, conserver dans une bouteille en polyéthylène.

- Solution titrée d'EDTA à 0,01mole/l :

Sécher une portion d'EDTA à 80°C pendant 2 heures (étuve), dissoudre ensuite 3,725g du sel sec dans de l'eau distillée et diluer à 1000ml. Conserver la solution d'EDTA dans une bouteille en verre et en vérifiant le titre de temps à autre.

- Solution tampon à pH 10 :

Dissoudre 67,5g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans 570ml de solution ammoniacal à 25% et diluer à 1000ml avec de l'eau distillée. Conserver la solution dans une bouteille en polyéthylène (durée de conservation 3 mois). Diluer 10ml de cette solution dans une fiole de 100ml (dilution au 1/10^{ème}) avec de l'eau distillée et vérifier que le pH est de $10 \pm 0,5$.

Annexe 5 : Solution pour la détermination de l'alcalinité

- Acide chlorhydrique à 0,01N :

Verser 1ml de l'acide chlorhydrique (HCl) à 1N dans une fiole de 100ml, et compléter avec de l'eau distillée.

Annexe 6 : Solutions pour le dosage de la matière organique :

- Acide sulfurique à 2 mol/l :

Dans une fiole de 1000ml, ajouter lentement sous agitation continue, 110ml d'acide sulfurique commercial à 500ml d'eau. Laisser refroidir et compléter à 1000ml avec de l'eau distillée.

Annexes

- Solution de permanganate de potassium à 2mmol/l :

Dans une fiole jaugée de 1000ml, introduire 100ml de la solution mère à 20mmol/l (3,2g de KMnO_4 dans 1000ml), compléter au volume avec de l'eau distillée et agiter, cette solution est stable au moins deux mois, stockée dans un flacon brun à 4°C.

- Solution d'oxalate de sodium à 5mmol/l :

Dans une fiole jaugée 1000ml, introduire 100ml de la solution mère d'oxalate de sodium, compléter au volume avec de l'eau distillée et agiter. Cette solution titrée est stable pendant deux semaines si elle est stockée à l'obscurité à 4°C.

Annexe 7 : Solution pour le dosage de l'aluminium

- Thiosulfate de sodium concentration 0,028N :

Introduire dans un bécher de 1000ml, 28,2ml de thiosulfate de sodium du commerce (concentration 1N). Ce réactif se conserve dans un flacon en verre brun, à 4°C, pendant un mois.

- Acide sulfurique, concentration 0,04N :

Introduire dans un bécher de 1000ml 40ml d'acide sulfurique (commercial) à une concentration 1N, et compléter à 1000ml avec de l'eau distillée. Conservation dans un flacon en verre à 4°C.

- Acide ascorbique concentration 10g/l :

Dissoudre 1g d'acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) dans 100ml d'eau distillée. Conserver dans une bouteille en verre foncé au réfrigérateur (4°C) le réactif reste stable pendant 2semaines, il peut cependant être utilisé ultérieurement tant qu'aucune coloration n'apparaît.

- Solution tampon à pH 6,2 :

Dissoudre 37,2g d'acétate d'ammonium dans un bécher d'un litre. Compléter à 1000ml avec de l'eau distillée. Ajouter de l'acide acétique cristallisable (commercial), sous agitation jusqu'à obtention d'un pH 6,2 mesuré avec une électrode de mesure.

Conservation dans un flacon en polyéthylène à 4°C. Vérifier le pH avant utilisation en cas de conservation prolongée.

Annexes

- Solution mère d'eriochrome cyanine (indicateur coloré) à 10g/l :

Dissoudre 10g d'eriochrome cyanine (commercial), dans un bécher d'un litre. Compléter à 1000ml avec de l'eau distillée. Conservation dans un flacon en verre brun, à 4°C pendant 2 mois.

- Solution fille d'eriochrome cyanine (indicateur coloré) à 0,1g/l :

Verser 1ml de la solution mère et compléter à 100ml avec de l'eau distillée. Cette solution est préparée et utilisée le jour même de l'analyse (pas de conservation).

Annexe 8 : Préparation du réactif LAL

Le réactif est préparé à partir du sang d'un animal marin (limule) qui est un fossile marin vivant dans les eaux côtières Atlantique du Canada jusqu'en Floride.

Les limules sont pêchés puis transférés dans des laboratoires où leur sang est prélevé sur anticoagulant, une aiguille stérile et apyrogène est enfoncé dans la cavité intracardiaque de l'animal, l'écoulement se fait spontanément et s'arrête dès que l'animal a donné 80% de son sang. Les 20% restant correspondent au volume viable minimum. Un animal donne entre 150 et 250ml de sang.

Annexe 9 : Spectrométrie d'absorption moléculaire (absorption des radiations lumineuses de l'UV et du visible)

- Principe :

Quand un rayonnement d'une longueur d'onde donnée λ traverse un milieu, son intensité diminue en fonction de la densité des espèces absorbantes et de l'épaisseur du milieu.

Cette propriété est utilisée pour déterminer la concentration des espèces chimiques absorbant à une longueur d'onde déterminée.

C'est l'interaction entre les photons de la source lumineuse et les ions ou molécules de l'échantillon qui provoque l'absorption lumineuse.

- Lois de la spectrométrie :

L'atténuation d'un faisceau lumineux monochromatique s'exprime par sa transmittance T (ou pourcentage de transmission), définie comme le rapport entre l'intensité lumineuse transmise (I) et l'intensité incidente (I_0) :

$$T = I/I_0$$

Annexes

On définit également l'absorbance A par :

$$A = -\log T = \log (I_0/I)$$

Pour un rayonnement monochromatique de longueur d'onde λ , la loi de BEER-LAMBERT établit une proportionnalité entre la concentration C d'une entité chimique en solution, sa nature chimique (caractérisée par son coefficient d'extinction molaire ϵ), son absorbance A et la longueur du trajet parcouru par la lumière dans la solution (trajet optique l) :

$$A = \log I_0 = \epsilon \lambda l C$$

Annexe 10 : Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie d'absorption atomique est une technique qui s'est largement développée ces dernières années mais dont le phénomène de base était connu depuis très longtemps. Les séduisantes possibilités de la méthode et en particulier sa rapidité, l'ont fait adapter au dosage d'un certain nombre d'éléments rencontrés dans les eaux.

- Principe :

Pour un atome à l'état libre, le passage de l'état fondamental à l'état excité est conditionné à la fourniture d'un quantum d'énergie correspondant à la différence d'énergie entre le niveau excité E_n et le niveau fondamental E_0 .

En spectrométrie d'absorption atomique (SAA) on utilise un générateur de photons dont la fréquence correspond à l'élément à doser. Une population d'atomes, générée par un atomiseur à partir de l'échantillon, est éclairée par ce rayonnement lumineux de longueur d'onde donnée. Les atomes absorbent cette énergie incidente pour passer du niveau fondamental au niveau énergétique excité et le nombre de photons absorbés dans ce rayonnement incident peut être relié à la concentration par la relation :

$$A = k C$$