

**UNIVERSITE CADI AYYAD**

**Faculté des Sciences et Techniques -Département des Sciences de la Terre  
Licence Eau & Environnement**

**Centre National d'Etudes et de Recherches sur l'Eau et l'Energie**

# Mémoire de fin d'études

**TESTES PRELIMINAIRES DE TRAITEMENT DES  
EAUX POLLUEES PAR LES DERIVEES DES  
PLANTES AROMATQUES ET MEDICINALES**

**Réalisé par :** EL MASSOUAB HALA et ESSAYD SOUMIA

**Soutenu le 25 juin Devant les membres de jury :**

**Dr. Abdessamad HEJJAJ : CNEREE, Encadrant externe**

**Pr. Driss ECHAIFI : FST- Marrakech, Examineur**

**Pr. Abdelfattah BENKADDOUR : FST- Marrakech, Encadrant**

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018**

## **DEDICACES**

Nous dédions ce travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Nos chères familles, pour leur affection, patience, et prières. Nos meilleurs amis pour leur aide, leur temps, leur encouragements, leur assistance et soutien.

Personnel du CNEREE qui nous a aidées à améliorer nos connaissances en nous prodiguant informations et conseils.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci infiniment.

# **REMERCIEMENT**

Au terme de ce travail, nous remercions en premier **Lieu** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Tout d'abord de grands remerciements à Monsieur le Professeur **BENKADDOUR Abdelfattah**, notre encadrant interne de la Faculté des Sciences et Techniques Marrakech, pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant de diriger ce travail, pour son orientation, ses conseils précieux et son appui tout au long de ce travail.

Toute notre gratitude et reconnaissance à notre honorable encadrant, le Professeur **HEJJAJ Abdessamad**, pour ses conseils avisés et le temps qu'il a consacré pour notre encadrement. Il nous a fait bénéficier de son expérience enrichissante et pleine d'intérêt durant la période du stage. Son précieux aide, sa confiance, ses conseils pertinents et sa bienveillance nous ont aidés à la réalisation de ce travail. Sans oublier sa disponibilité tout au long du stage, son sympathie et ses qualités humaines qui nous ont facilité l'intégration au laboratoire et l'accomplissement de ce rapport.

Nos sincères remerciements vont également au Professeur **CHAFIKI Driss**, notre enseignant à la FST, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce rapport et en siégeant dans ce jury. Ses jugements seront d'une grande valeur dans l'appréciation de ce travail.

Un très grand merci à l'ensemble du personnel du CNEREE pour leur aide, leurs conseils et pour leur appui tout au long de ce stage.

Nous tenons à exprimer notre gratitude également à la direction et à nos professeurs à la FST.

Enfin nos remerciements les plus chaleureux vont à toutes nos familles et nos amies pour leur soutien et leurs encouragements durant la période de ce stage.

# Présentation du CNEREE

Le Centre National d'Etude et de Recherche sur l'Eau et l'Energie (CNEREE), dans lequel s'est déroulé notre stage, est créé dans le cadre du plan quinquennal de développement économique et social 2000-2004 par la ministre de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur, de la Formation des Cadres de la Recherche Scientifique. Il s'inscrit dans le cadre de la politique générale de l'université Cadi Ayyad pour s'intégrer dans l'espace socio-économique du pays. Il traduit donc la volonté d'accompagner les efforts de développement au Maroc et fait de l'université un instrument d'épanouissement technologique et socioéconomique. Les objectifs du CNEREE s'articulent autour de deux principaux thèmes d'enjeux socio-économiques de grande envergure (majeur) pour le Maroc, à savoir l'Eau et l'Energie.

## ❖ Missions et objectifs du CNEREE :

Les objectifs ont été spécifiés dans les deux domaines de l'eau et d'énergie, ils s'agissent notamment de :

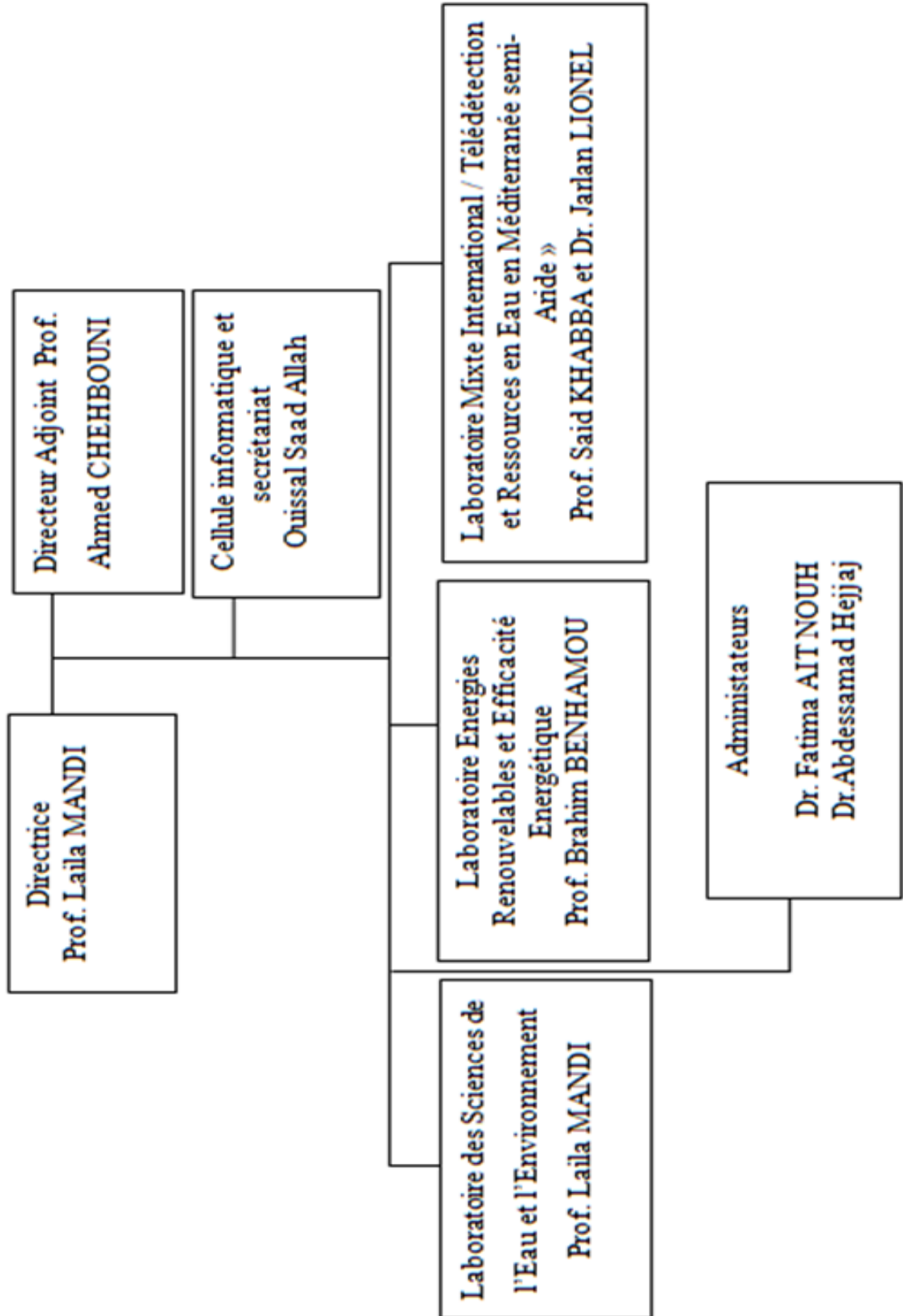
- ✓ Promouvoir la recherche dans le domaine de l'eau et des énergies renouvelables.
- ✓ Développer une expertise dans le domaine de l'eau et des énergies renouvelables.
- ✓ Entretenir une collaboration avec les organismes intervenants dans le domaine de l'eau et de l'énergie pour assurer un transfert efficace de la technologie.

## ❖ Laboratoires du CNEREE :

- ✓ Laboratoire des Sciences de l'Eau et l'Environnement (S2E) : Responsable, Prof. Laila MANDI ;
- ✓ Laboratoire des Energies Renouvelables et Efficacité Energétique (EnR2E) : Responsable, Prof. Brahim BENHAMOU ;
- ✓ Laboratoire Mixte International / Télédétection et Ressources en Eau en Méditerranée semi-aride » (TREMA). Responsables, Prof. Saïd Khabba (FSSM) et Dr. Jarlan Lionel (IRD) ;
- ✓ Laboratoires membres du PC2E.



**Organigramme du CNEREE :**



Organigramme représentatif de la structure du CNEREE (Roujjati et Ouzeren, 2017)

# LISTE DES ABREVIATIONS

CNEREE : Centre National d'Etude et de Recherche sur l'Eau et l'Energie

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

CF : Coliformes Fécaux

CT : Coliformes Totaux

EU : Eau Usée

MES : Matière En Suspension

N : Azote Organique

P : Phosphore

ED : Eau Distillé

pH : potentiel d'Hydrogène

HE : Huile Essentielle

STEP : Station de Traitement des Eaux Polluées

UFC : Unité faisant Colonie

AFNOR : Association Française de Normalisation

UV : Ultra-violets

STEP : Station d'Épuration des Eaux usées

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ARN : Acide Ribonucléique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

SODIS : Solar Disinfection

BRM : Bioréacteur à membrane

BEA : Bile Esculine Agar

OMPBR : Photo-Bioréacteur à Membrane Osmotique

OMS : Organisation Mondiale de la santé

ED : Eau Distillé

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Réutilisation des eaux usées dans différentes régions du monde.....	3
Figure 2 : Evolution des volumes d'eau usée brute urbaine au Maroc .....	5
Figure 3 : Différentes filières de traitement des eaux usées.....	6
Figure 4 : Principe du fonctionnement d'un photo-bioréacteur à membrane osmotique à osmose directe. 10	
Figure 5 : Unité pilote de traitement tertiaire .....	11
Figure 6 : Lit de sable utilisé pour traiter les eaux usées .....	12
Figure 7 : distillation à la vapeur d'eau .....	14
Figure 8 : Montage d'hydro-distillation.....	14
Figure 9 : Montage d'extraction par hydro-diffusion .....	15
Figure 10 : Système de distillation solaire .....	15
Figure 11 : Huile infusé du romarin .....	16
Figure 12 : Méthode d'extraction d'hydrolat .....	17
Figure 13 : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps suite au traitement avec 1ml d'huile de citrus limonum/litre .....	19
Figure 14 : Evolution de la superficie et la production du romarin exprimé en ha et en tonne de matière végétale (2008-2012) au Maroc .....	22
Figure 15 : Evolution des bactéries en fonction de différentes concentrations d'HE du romarin+ Ethanol	33
Figure 16 : Evolution des streptocoques en fonction de différentes concentrations.....	34
Figure 17 : Evolution des CF en fonction de diverses concentrations d'HE+ED .....	34
Figure 18 : Evolution des CT en fonction de diverses concentrations d'HE+ED .....	35
Figure 19 : Comparaison de l'évolution des germes présentes dans l'eau en fonction de concentration d'HE.....	35
Figure 20 : Concentration minimale d'inhibition pour les streptocoques.....	36
Figure 21 : Concentration minimale d'inhibition pour les CF.....	36
Figure 22 : Concentration minimale d'inhibition pour les CT.....	36
Figure 23 : Evolution de quantité des streptocoques au cours du temps en fonction des concentrations...37	
Figure 24 : Evolution de quantité de CF au cours du temps en fonction des concentrations.....38	
Figure 25 : Evolution des CT cinétiquement en fonction de concentration.....38	
figure 26 : Evolution des streptocoques en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym.....39	
Figure 27 : Evolution des CT en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym.....40	
Figure 28 : Evolution des CF en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym.....40	
Figure 29 , 30 et 31 : Evolution d'inhibition des streptocoques, CT et Cf en fonction de thym et romarin	441

# **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Effet inhibiteur des huiles essentielles des PAM contre certains types des germes pathogènes .....	18
Tableau 2 : Composantes de l'huile essentielle du romarin .....	23
Tableau 3 : Caractéristiques chimiques, physiques et bactériologiques d'eau prélevé .....	26
Tableau 4 : Evaluation de l'activité antibactérienne d'éthanol sur l'eau usée.....	34
Tableau 5 : Comparaison des résultats obtenus avec les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation du France.....	42
Tableau6 : Résultats des eaux polluées d'Entrée après traitement par HE+Ethanol.....	488
Tableau7 : Résultats de traitement d'eau d'Entrée par HE+ED.....	48
Tableau8 : Résultats se traitement d'eau usée de fosse septique en fonction de temps .....	49
Tableau 9 : Résultats de traitement de l'eau de fosse septique par le thym et romarin.....	49
Tableau 10 : Recommandation de OMS concernant les concentrations en pathogènes dans les eaux d'irrigation .....	50
Tableau 11 : Composition chimique de l'huile essentielle de 3 types du thym .....	50



# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>2</b>
<b>I. EAUX USEES .....</b>	<b>3</b>
1) Définition.....	3
2) Catégories des eaux usées .....	4
2-1) Eaux usées domestiques.....	4
2-2) Eaux usées industrielles.....	4
2-3) Eaux usées municipales ou urbaines.....	4
3) Potentiel des eaux usées aux Maroc.....	5
<b>II. TRAITEMENT DES EAUX USEES.....</b>	<b>5</b>
1) Prétraitement.....	6
1-1) Dégrillage .....	6
1-2) Dessablage.....	7
1-3) Dégraissage/Déshuilage.....	7
2) Traitement primaire : Décantation.....	7
3) Traitement secondaire.....	7
- par voie biologique.....	7
- par voie physico-chimique (Clarification).....	8
4) Traitement tertiaire conventionnel.....	8
-Traitement de l'azote et du phosphore.....	8
-Traitement bactériologique.....	9
5) Traitements tertiaire écologiques.....	9
5-1) Traitement à l'aide d'un photo-bioréacteur à membrane osmotique à osmose directe.....	9
5-3) Traitement par une unité pilote (Flottation à l'aire dissous et Filtration) au sein de la STEP.....	10
<b>III. TRAITEMENT DES EAUX USEES PAR DES DERIVEES PLANTES AROMATIQUES ET         MEDICINALES.....</b>	<b>12</b>
1) Dérivées des plantes.....	13
1-1) Huiles Essentielles.....	13
-Technique de vapeur d'eau.....	13
-Technique d'hydro-distillation.....	15
-Technique d'hydro-diffusion.....	15
-Technique de distillation solaire.....	15
1-2) Huiles Diffusions.....	16
1-3) Hydrolat.....	16
2) Effet bactériologiques des plantes aromatique et médicinales.....	17
<b>CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODS.....</b>	<b>20</b>

1) Matériel végétal.....	21
1-1) Classification scientifique du Romarin.....	21
1-2) Description du Romarin.....	21
1-3) Répartition Géographique.....	22
1-4) Composition chimique.....	22
1-5) Domaines d'utilisation.....	23
2) Extraction de l'huile essentielle.....	23
3) Bactéries a traitées .....	24
4) Méthodes d'échantillonnage des eaux usées .....	24
5) Tests de l'activité antibactérienne du romarin.....	26
5-1) Méthode de dénombrement des colonies bactériennes adoptées.....	26
- Milieu de culture.....	26
- Dilutions.....	29
- Ensemencement.....	29
- Incubation et lecture.....	30
<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>32</b>
I. Traitement des eaux usées de l'entrée de station de traitement .....	33
1) Traitement des eaux usées par l'huile essentielle de romarin.....	33
-Traitement des eaux usées à l'aide d'HE dilué par Ethanol.....	33
-Traitement des eaux usées à l'aide d'HE dilué par l'eau distillé.....	34
2) Détermination du Concentration Minimal d'Inhibition (CMI).....	36
II. Traitement des eaux usées d'une fausse septique .....	37
III. Tests de désinfection d'eau usée par le thym.....	39
IV. Synthèse des résultats (Comparaison des effets des deux huiles essentielles).....	40
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b>	

# INTRODUCTION GENERALE

Le traitement des eaux usées et leur réutilisation attire une grande attention à l'échelle mondiale; aussi bien les pays industrialisés que ceux en voie de développement. Les principales raisons du manque en ressources hydriques sont les quantités faibles de précipitations, les forts taux d'évaporations ainsi que la surexploitation des eaux douces par les populations, notamment dans le domaine agricole. Là où l'eau est utilisée de manière non rationnelle.

Depuis au moins deux ou trois décennies, l'Afrique du Nord connaît un stress hydrique sans précédent. Cette rareté des ressources hydriques ayant une répercussion sur les écosystèmes naturels et sur l'économie des nations est en partie liée aux changements climatiques à l'échelle globale. Dans ce contexte climatique mondial, le Maroc est caractérisé par un climat aride et un manque en ressources hydriques, malgré la présence de l'un des meilleurs réservoirs en eau douces en Afrique du nord à savoir le Moyen et le Haut Atlas.

Pour préserver les ressources hydriques et réaliser le développement durable, l'épuration des eaux usées devenu nécessaire. Cette épuration consiste à décanter les éléments polluants particuliers et à extraire les éléments dissous qui sont transformés en matière déposées suite à un traitement approprié. Ainsi, à la sortie de la station, il en résulte d'une part une eau épurée rejetée dans le milieu naturel, et d'autre part, une eau destinée à l'arrosage des espaces verts et tout particulièrement les immenses cours de golf. L'eau rejetée à la nature subit un type de traitement spécial nommé traitement tertiaire, consiste à éliminer les éléments pathogènes (bactéries, virus, les protozoaires...). Ces éléments produits par la station d'épuration constituent une quantité énorme de danger puisqu'elles sont considérées comme un déchet à part entier.

Dans tous les pays il y'a deux voies d'élimination des microorganismes pathogènes dans la station d'épuration :

**1-Traitement bactériologiques par rayonnement UV :** qui consiste à soumettre l'eau à traiter à une source de rayonnement UV en la faisant transiter à travers un canal contenant une série de lampes submergées.

**2-Traitement par le chlore et l'ozone :** qui élimine les germes pathogènes, sachant que le désinfectant le plus puissant est l'ozone, car il est capable de désactiver les organismes protozoaires; qui peuvent causer un grand nombre d'épidémies.

Dans ce cadre et pour une vraie stratégie de développement durable de l'environnement, nous nous sommes intéressées à d'autres méthodes plus écologiques dans le traitement des eaux polluées, on utilise des dérivées des plantes aromatiques et médicinales, en tenant compte du coût d'installation, de l'origine des dérivées, de la valeur ajoutée du produit qui en résulte et de l'impact sur l'environnement que pourrait avoir la filière retenue à cet égard.

**CHAPITRE 1 :**  
**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

# I. EAU USEE :

## 1) Définition d'eau usée

L'eau usée est une eau dont les caractéristiques physiques, chimiques ou biologiques sont dégradées, c'est-à-dire ils ont perdu leurs propriétés naturelles par l'effet des polluants après avoir été utilisées dans des activités humaines (domestiques, agricoles, industriels,...) (Ramade et al, 2000).

Pour cette raison, l'eau usée doit être traitée avant d'être rejetée aux milieux récepteurs et éviter ainsi de causer d'autre pollution notamment des rivières, des sols et de l'atmosphère. Ainsi que les eaux recyclées offrent également des opportunités d'approvisionnement en eau fiable et durable pour l'irrigation, les industries et les municipalités notamment avec un nombre croissant de villes qui dépendent de sources d'eau plus distantes et alternative pour satisfaire une demande grandissante

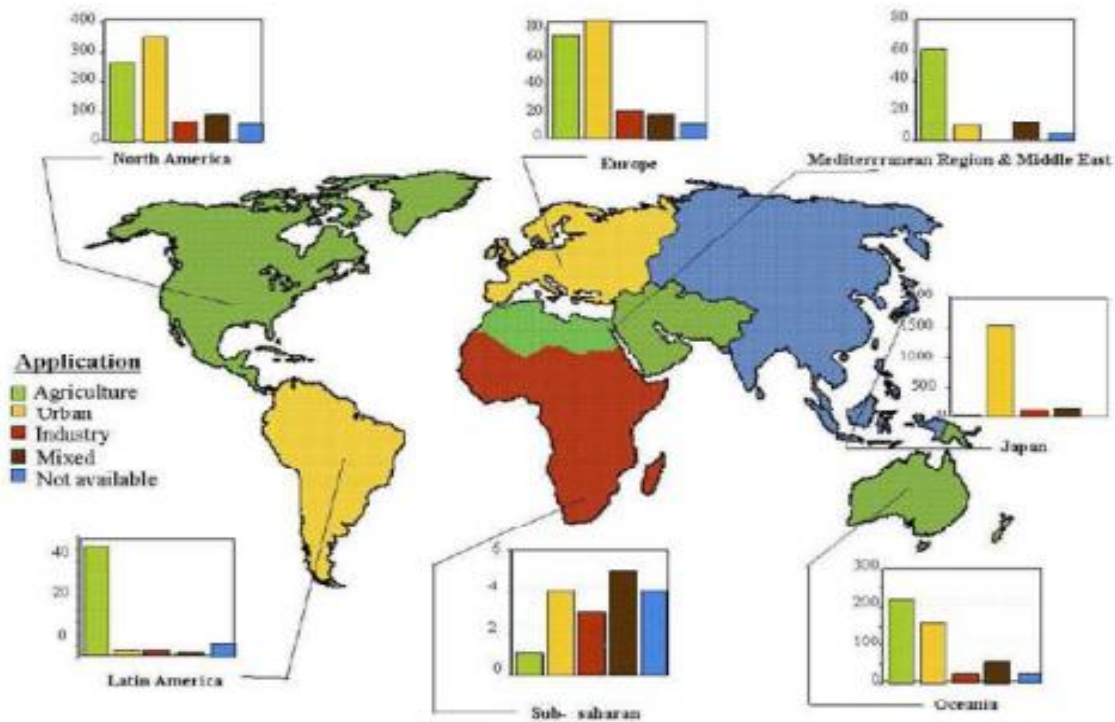


Figure 1: Réutilisation des eaux usées dans différentes régions du monde (Aziz et Farissi, 2014)

Les eaux usées proviennent de plusieurs sources. L'eau de pluie, ainsi que les différents polluants qui s'écoulent dans les égouts, aboutissent dans les centres de traitement. Les eaux usées peuvent aussi provenir de sources agricoles et industrielles. Généralement, les eaux usées issues des unités industrielles sont plus difficiles à traiter que les eaux usées domestiques. Par ailleurs, ces dernières peuvent être difficiles à traiter en raison de l'augmentation du nombre de produits chimiques, pharmaceutiques et de soins personnels qui s'y trouvent.

## 2) Catégories d'eau usée

On distingue trois grandes catégories d'eaux usées : les eaux domestiques, les eaux industrielles et les eaux urbaines/municipales.

### **2-1) Eaux domestiques:**

Les eaux usées domestiques sont essentiellement les eaux ménagères (eaux de toilette, de lessive, de cuisine) et les eaux vannes (Baumont et al, 2004). Ces eaux sont chargées de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux.

La pollution journalière produite par une personne utilisant de 150 à 200 litres d'eau est évaluée à (RADEEMA, 2007) :

- de 70 à 90 grammes de matières en suspension ;
- de 60 à 70 grammes de matières organiques ;
- de 15 à 17 grammes de matières azotées ;
- 4 grammes de phosphore ;
- plusieurs milliards de germes pour 100 ml.

### **2-2) Eaux industrielles:**

Les eaux usées industrielles sont toutes les eaux provenant des établissements utilisées à des fins commerciales ou industrielles, autres que les eaux usées ménagères et les eaux de ruissellement (Bliefert et Perraud, 2001). La composition et la concentration des eaux usées industrielles sont extrêmement variables selon le type d'industrie. Elles comprennent les eaux de procédés, les purges de système de refroidissement, les eaux usées d'hôpitaux, de restaurants, etc. Ces eaux sont extrêmement hétérogènes et présentent souvent un large spectre de polluants chimiques (composées à l'état solide ou dissous, matières organiques et minérales, huiles, graisses, sels, etc.) à divers niveaux de toxicité.

### **2-3) Eaux usées urbaines et municipales :**

Les eaux usées municipales (urbaines) sont un mélange des eaux usées domestiques, des eaux de ruissellement (eaux pluviales, eaux d'arrosage des voies publiques, eaux de lavage du caniveau) et des eaux industrielles (hôpitaux, restaurants, établissements scolaires, etc.). Les eaux qui ruissellent sur les cours, les jardins, les espaces verts, et les marches entraînent toute sorte de déchets minéraux et organiques (limons, boues, sables, déchets végétaux), de micropolluants (hydrocarbures, pesticides, détergents, etc.).

### **1) Potentiel des eaux usées au Maroc :**

Le volume annuel des eaux usées a presque triplé au cours des trois dernières décennies. Ils sont passés de 48 millions à 600 millions de m<sup>3</sup> entre 1960 et 2005 pour atteindre 700 millions m<sup>3</sup> en l'an 2010. Selon les prévisions, ces rejets continueront à croître rapidement pour atteindre 900 millions de m<sup>3</sup> à l'horizon 2020 (Ait Younes ,2012 in CSEC, 1994). L'évolution temporelle des rejets urbains est présentée sur la (Figure 1)

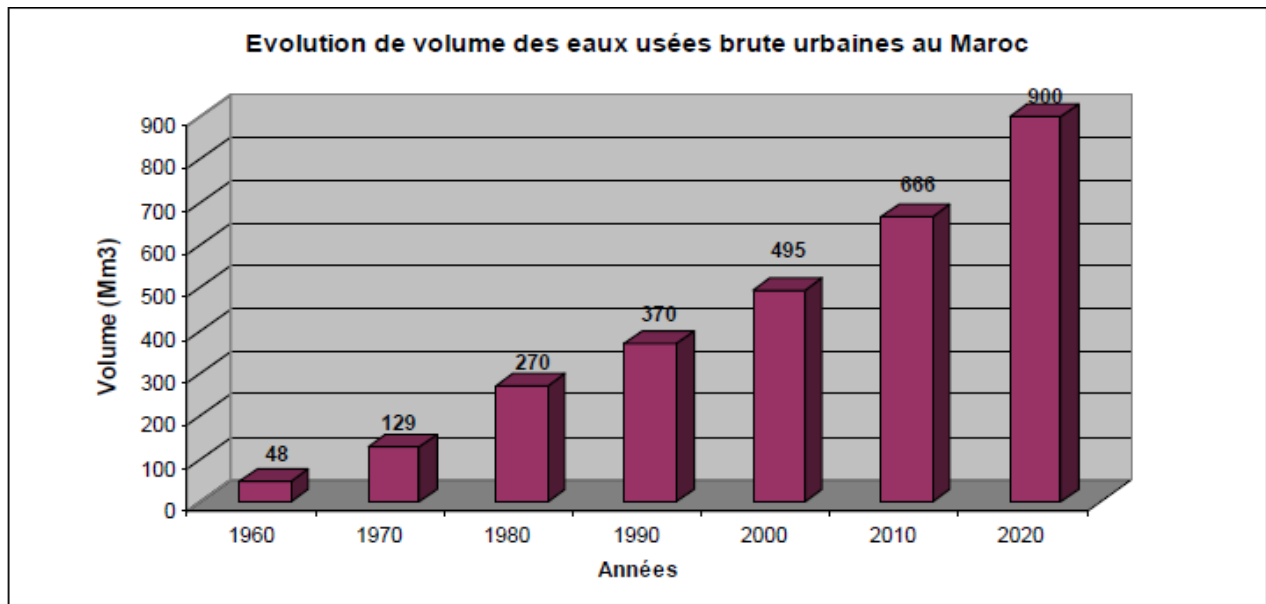


Figure 2 : Evolution des volumes d'eau usée brute urbaine au Maroc (Ait younes, 2012)

Les principaux facteurs qui contribuent à cette augmentation sont :

- L'accroissement de la population urbaine, Le dernier recensement officiel évalue la population du Maroc à 33,8 millions d'habitants auxquels il faut ajouter la diaspora estimée à 4,5 millions de personnes.
- La forte augmentation du taux de branchement au réseau d'eau potable dans les zones urbaines. Elle est passée de 53 % en 1972 à 79 % en 1993 et à 85 % en l'an 2000.
- L'augmentation du taux de branchement au réseau d'assainissement a pu atteindre 75 % dans les grandes villes en 1999.

## II. TRAITEMENT DES EAUX USEES :

Les accroissements démographiques, économiques et urbains sont à l'origine de la production des eaux usées souvent rejetées dans le milieu récepteur (mer, rivières, sols...) sans traitement préalable génère de nombreuses maladies et épidémies (OMS, 1989; Prost, 1991). Aussi l'accroissement de la demande en eau pour les divers consommations poussé les décideurs à considérer les eaux usées comme une ressource hydrique appréciable, qu'il faut absolument récupérer après leur épuration.

La réutilisation de ces eaux requière des traitements qui ont pour but de diminuer la turbidité, les contaminants organiques, inorganiques et les microorganismes pathogènes dans des stations spécialisées à l'épuration.

⇒ **Structure général d'une station d'épuration :**

Une station de traitement des eaux polluées (STEP) peut s'apparenter à une usine de dépollution des eaux avant leur rejet en milieu naturel, généralement en rivière. Par sa fonction, elle est installée à l'extrémité d'un réseau de collecte des égouts et en amont du milieu naturel. Elle rassemble une

succession de dispositifs, empruntés tour à tour par les eaux usées, chacun de ces dispositifs étant conçu pour extraire au fur et à mesure les différents polluants contenus dans les eaux.

Il existe plusieurs filières de stations d'épuration selon le type et la quantité de pollution à traiter. Voici ci-dessous les différentes filières des stations d'épuration domestiques.

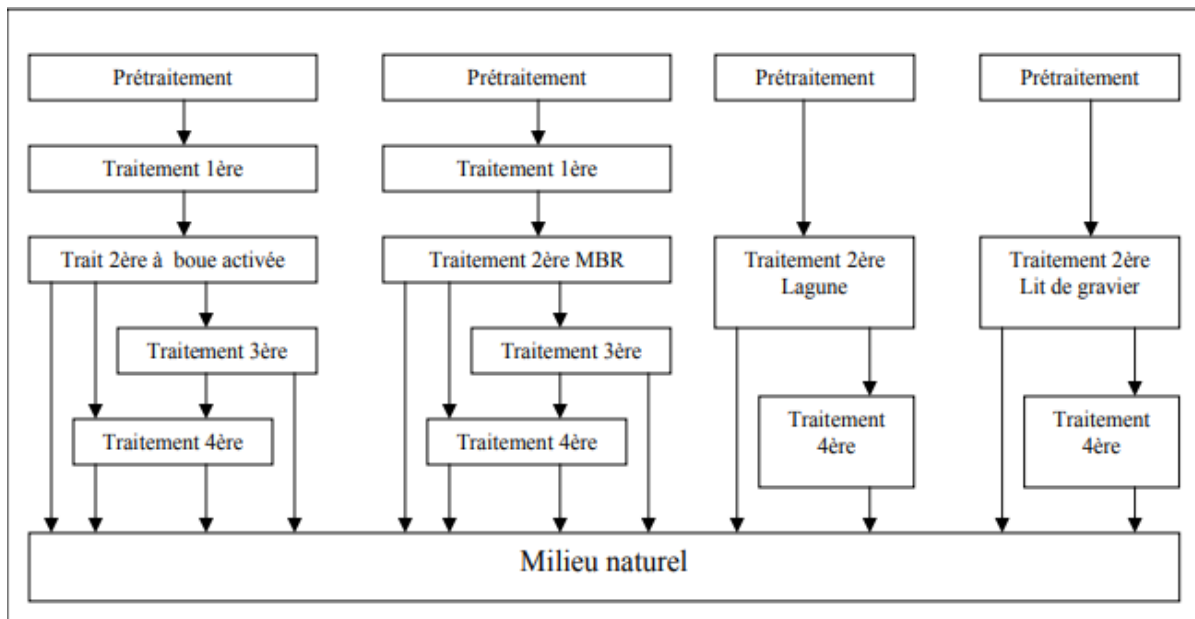


Figure 3 : Différentes filières de traitement des eaux usées (Vandermeersch, 2006)

L'épuration consiste en une série de traitements :

### 1) Prétraitement

Les dispositifs de prétraitement est présents dans toutes les stations d'épuration domestiques, quels que soient les procédés mis en œuvre en aval. Ils ont pour but d'éliminer les éléments solides les plus grossiers susceptibles de gêner les traitements ultérieurs ou d'endommager les équipements.

Ils se composent de trois étapes, présentes ou non selon les besoins, à savoir :

- **le dégrillage** : L'élimination des déchets les plus volumineux (Plastiques, tissus, cadavres des animaux...)
- **le dessablage** : L'élimination des sables
- **le dégraissage – déshuilage** : L'élimination des graisses et des corps gras.

Le dégrillage consiste à faire passer les eaux usées au travers d'une grille dont les barreaux, plus ou moins espacés, retiennent les éléments les plus grossiers. Après nettoyage des grilles, les déchets sont évacués avec les ordures ménagères.

Par après, les eaux usées passent par le dessablage. Ce dessablage est constitué d'un bassin où la réduction de vitesse d'écoulement permet la décantation des sables, ces derniers seront récupérés par pompage.

La dernière étape du prétraitement est le déshuilage-dégraissage. Il se base également sur la réduction de vitesse d'écoulement des eaux afin de faire flotter les graisses. Cette flottation est



accélérée par l'injection de microbulles d'air par le fond. Les graisses sont ensuite raclées en surface. Cette technique permet d'éliminer 80 à 90% des graisses et matières flottantes (soit 30 à 40 % des graisses totales).

Les eaux usées après prétraitement ne contiennent plus qu'une charge polluante dissoute et des matières en suspension.

## **2) Traitement primaire : Décantation**

Le traitement primaire consiste à la décantation des matières en suspension (MES) dans un bassin de sédimentation. En éliminant une fraction de ces solides en suspension, il permet d'alléger les traitements biologiques ultérieurs. L'efficacité du traitement dépend du temps de séjour des eaux dans le bassin et de la vitesse de chute des matières en suspension. La décantation des MES entraîne également avec elle des micropolluants et micro-organismes. Les eaux usées rejoignent le traitement secondaire par débordement tandis que les boues ainsi formées sont extraites. Elles seront par après mises en décharge ou revalorisées en agriculture selon leur composition.

Dans certains cas, afin d'améliorer le rendement de la sédimentation, un traitement physico-chimique est également réalisé. Il comporte classiquement deux phases :

- Une phase de coagulation/ floculation : la coagulation est le processus physique pour lequel il y a une déstabilisation des particules colloïdales et formation de micro micelles, d'additifs coagulants. Elle est suivie d'une étape de floculation, qui provoque le Rassemblement des micro-micelles sous forme des floes à l'aide des polymères.

- Une phase de clarification : dans cette phase, les particules ainsi formées, ou "floes", sont séparées de l'eau par décantation. Ces traitements permettent d'enlever jusqu'à 90 % des matières en suspension. La pollution dissoute n'est, par contre, que très partiellement traitée.

## **3) Traitement secondaire**

Le traitement secondaire peut être réalisé selon deux voies :

### **Par voie biologique :**

#### **-Traitement des composés organiques :**

Le traitement biologique le plus simple consiste à éliminer les composés organiques tels que sucres, graisses et protéines. Ceux-ci sont nocifs pour l'environnement puisque leur dégradation implique la consommation de dioxygène dissous dans l'eau nécessaire à la survie des animaux aquatiques. Les bactéries responsables de la dégradation des composés organiques sont hétérotrophes. Pour accélérer la dégradation des composés organiques, il faut apporter artificiellement de l'oxygène dans les eaux usées.

#### **-Nitrification :**

Il s'agit de l'oxydation de l'ammoniaque en nitrite, puis en nitrate par des bactéries nitrifiantes<sup>7</sup>. L'ammoniaque est un poison pour la faune piscicole. Les bactéries nitrifiantes sont autotrophes. Elles croissent donc beaucoup plus lentement que les hétérotrophes. Une station d'épuration doit d'abord éliminer les composés organiques avant de pouvoir nitrifier.

#### **-Dénitrification**

Une troisième étape facultative consiste à dénitrifier (ou dénitrater) les nitrates résultants de la nitrification. Cette transformation peut se faire en pompant une partie de l'eau chargée de nitrates de

la fin de traitement biologique et la mélanger à l'eau d'entrée, en tête de traitement. La dénitrification se passe dans un réacteur anoxique, en présence de composés organiques et de nitrates.

### **Par voie physico-chimique : Décantation secondaire (Clarification)**

À partir de ce dernier élément, l'eau clarifiée est rejetée (sauf traitement tertiaire éventuel) et les boues décantées sont renvoyées en plus grande partie vers le bassin d'aération, la partie excédentaire étant dirigée vers un circuit ou un stockage spécifique.

Trois types de traitement sont possibles :

- traitement physique : des filtres, de boues activées ou membranes retirent le phosphore de l'eau ;
- traitement chimique : des sels forment des précipités insolubles récupérables (au fond du bassin) ; des composés chimiques à base de calcium ou de fer peuvent être utilisés. Cette méthode reste assez coûteuse et peut accroître le volume de boue à traiter et la consommation d'oxygène ;
- traitement biologique à boues activées.

#### **4) Traitement tertiaire conventionnel**

Le traitement tertiaire n'est pas toujours réalisé. Il est destiné à améliorer les performances des traitements des matières en suspension, du phosphore (P), de l'azote (N) ou encore des pathogènes. Ce traitement est utilisé dans le cas, par exemple, de milieux récepteurs particulièrement sensibles.

### **Traitement de l'azote et du phosphore:**

Certains types de traitements tertiaires ciblent l'élimination plus poussée de l'azote ou du phosphore. La pollution azotée se trouve sous deux formes de : **a) azote organique (N)**, provenant surtout des déjections animales et humaines et des rejets d'industries et agro-alimentaires. et **b) azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )**, qui provient de rejets industriels (chimie en particulier) ou bien de la transformation par des processus biochimiques naturels de l'azote organique des eaux usées domestiques.

Concernant l'élimination du phosphore (la dé-phosphatation), elle se fait soit par procédé chimique, soit par procédé biologique. La **dé-phosphatation chimique**: est réalisée au moyen de réactifs : sels de fer et d'aluminium, et qui donnent naissance à des précipités ou complexes insolubles séparés de l'eau par des techniques de séparation de phase solide-liquide. **La dé-phosphatation biologique**: repose sur le transfert du phosphore de la phase liquide (eaux usées à épurer) vers la phase solide (boues) par stockage intracellulaire; la boue s'enrichit progressivement en phosphore jusqu'à des teneurs très importantes. Il est alors très aisé d'assurer l'élimination du phosphore par simple soutirage des boues en excès.

### **Traitement bactériologique:**

Permet de réduire le nombre de bactéries, donc de germes pathogènes présents dans l'eau traitée. Il peut être demandée dans le cadre d'un schéma d'aménagement et de gestion des eaux et/ou pour protéger des eaux de baignade (en eau douce ou en eau de mer). Ce traitement peut être réalisé en traitement tertiaire par des rayonnements UV, ou par voie physico-chimique (chloration ou par l'ozonation).

## **-Traitement par rayonnement UV**

Il existe une certaine variété de systèmes sur le marché. Le principe traditionnel de désinfection par rayonnement UV consiste à soumettre l'eau à traiter à une source de rayonnements UV en la faisant transiter à travers un canal contenant une série de lampes submergées. Depuis quelques années, l'on trouve aussi, surtout pour les petites stations de traitement des eaux usées, un système basé sur des réacteurs mono-lampe, qui offre des avantages au niveau de la maintenance et des coûts d'utilisation.

## **-Traitement par voie physico-chimique**

Le traitement tertiaire inclut un ou plusieurs des processus suivants:

✓ Désinfection par le chlore ou l'ozone (pour éliminer les germes pathogènes), sachant que le désinfectant le plus puissant est l'ozone, parce qu'il est capable de désactiver les organismes protozoaires ; qui peuvent causer un grand nombre d'épidémie.

✓ Neutralisation des métaux en solution dans l'eau : en faisant varier le pH de l'eau dans certaines plages, on obtient une décantation de ces polluants.

Le traitement des eaux usées réduit significativement la quantité d'eaux polluées rejetées dans la nature, limitant ainsi leur impact sur l'environnement et la santé publique, mais les méthodes pratiquées jusqu'à présent notamment pour le traitement bactériologique utilisant le traitement par des procédés physico-chimiques ; faire usage des produits chlorés, L'ozonation, nano-filtration et les lampes ultraviolettes qui sont des technologies couteuse ou techniquement complexe .

Le traitement des eaux usées réduit significativement la quantité d'eaux polluées rejetées dans la nature, limitant ainsi leur impact sur l'environnement et la santé publique. Ce procédé permet également de préserver les ressources naturelles, puisque ces effluents liquides sont purifiés et réutiliser.

## **5) Traitement tertiaire écologique**

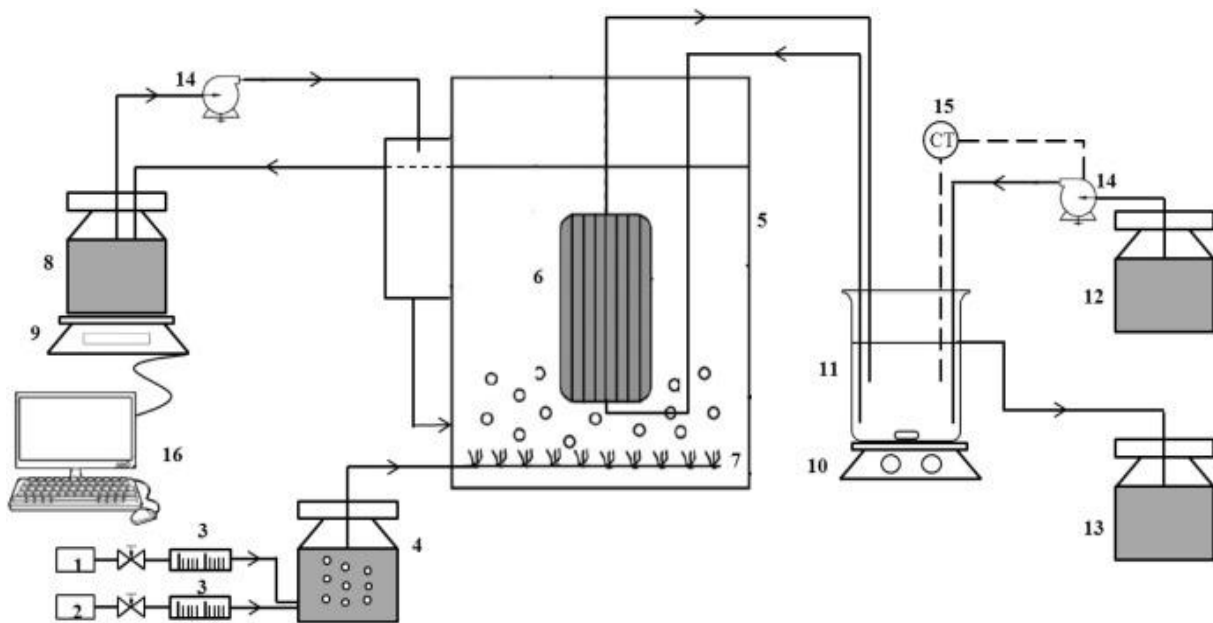
L'utilisation des méthodes physico-chimiques considéré couteuse et provoque des inconvénients sur l'environnement. Pour cela, il est nécessaire de développer des techniques de traitement accessible et économique avec des performances améliorées par rapport aux méthodes de l'art antérieur, de façon à traiter les diverses bactéries contenues dans l'eau.

Parmi ces méthodes on peut citer :

### **5-1) Traitement à l'aide d'un Photo-Bioréacteur à Membrane Osmotique (OMPBR) :**

La technologie de bioréacteur à membrane (BRM) est une technologie qui résulte de la combinaison d'un procédé de boues activées et d'une filtration sur membrane, et ceux-ci ont des utilisations commerciales dans le traitement des eaux usées municipales et industrielles ( Huang et Lee, 2015 ). Les BRM conventionnels ont été basés sur des techniques de séparation par membrane à pression, telles que la microfiltration (MF) ou l'ultrafiltration (UF). Au cours de la dernière décennie, cependant, la filtration basée sur l'osmose directe (OF) a également été étudiée comme une alternative économique et durable à la filtration conventionnelle ( Huang et Lee, 2015)

Récemment, les BRM ont trouvé que l'utilisation de micro-algues autotrophes (Choi, 2015; Marbelia et al, 2014) est avantageuse, notamment par *chlorelle vulgaris*, pour de nombreuses raisons (Beuckels et al. 2015; Fernandez et al, 2012) parmi Les quelles ; taux de croissance élevés, les taux d'absorption élevée de N et P, la production de biomasse de micro-algues et la réduction des gaz à effet de serre. C'est une application efficace dans l'élimination des aliments pathogènes des eaux usées pendant le traitement tertiaires.



**Figure 4 : Principe du fonctionnement d'un photo-bioréacteur à membrane osmotique à osmose directe (Praveen et al, 2016)**

**OMPBR :** 1) air comprimé ; 2) CO<sub>2</sub> comprimé ; 3) débitmètre ; 4) réservoir d'humidification ; 5) réservoir MBR ; 6) un module à membrane ; 7) diffuseur d'air ; 8) réservoir d'alimentation ; 9) échelle de pesée ; 10) plaque d'agitation ; 11) DS ; 12) stock concentré de DS ; 13) effluent ; 14) pompe péristaltique ; 15) conductimètre , et ; 16) enregistreur de donnée.

Traitement par OMBPR présente des avantages et des inconvénients parmi eux :

**Avantages:**

- Faible encombrement
- Rétention élevée de la biomasse
- faibles coûts énergétiques et d'un encrassement réduit de la membrane
- Flexibilité du procédé et qualité accrue des effluents

**Inconvénients :**

- l'encrassement biologique
- la polarisation de la concentration
- l'accumulation de sel.

## 5-2) Traitement à l'aide d'une unité pilote (Flottation à l'aire dissous et Filtration) au sein de la STEP

Parmi les méthodes écologiques utilisées dans le traitement tertiaire, traitement à l'aide d'un pilote (station) contient divers dispositifs à l'usine de traitement des eaux usées comme l'un de Milevsko (STEP) en Bohême du Sud, en République tchèque pour évaluer le potentiel de réutilisation des eaux usées (L'irrigation, l'arrosage des espaces verts...).

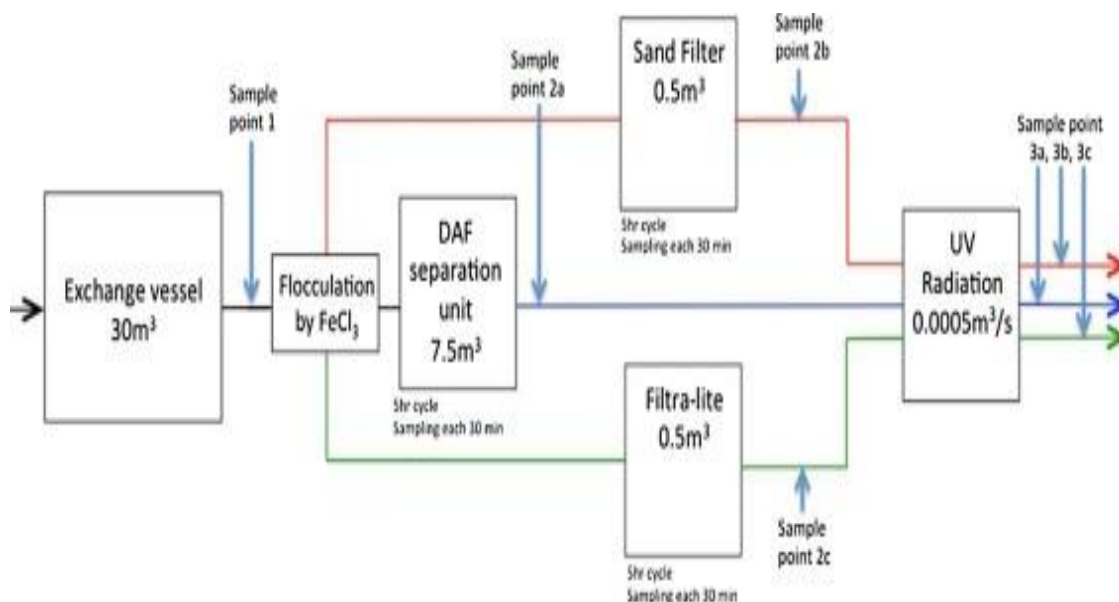


Figure 5 : Unité pilote de traitement tertiaire (Praveen et al, 2016)

Chaque dispositif a un rôle spécifique à faire :

**Coagulation-flottation**, Pour ce stade, 100 mg / L de solution aqueuse à 40% de sulfate ferrique (PIX-113) ont été dosés en tant que coagulant. Une homogénéisation rapide a été réalisée dans la première zone de mélange tandis que la zone de mélange suivante a favorisé la formation de floc avec un gradient de mélange lent. La zone de dosage et de mélange des coagulants de l'unité de flottation a été utilisée comme prétraitement commun pour tous les dispositifs. La plus grande partie du mélange ( $7,5 \text{ m}^3$ ) est restée dans la zone de coagulation pour une séparation supplémentaire par unité DAF; cependant,  $0,5 \text{ m}^3$  ont été détournés pour alimenter chacune des unités de filtration expérimentales.

**Le filtre à sable** est une technologie simple à mettre en œuvre et peu coûteuse. Les eaux usées à traiter sont amenées à la surface du lit où elles percolent à travers le milieu poreux. Généralement, un lit de gravier est disposé sous un lit de sable afin de drainer les eaux traitées (Figure 7).

Certains auteurs utilisent en complément ou en remplacement du sable ou, d'autres matériaux tels que l'écorce de noix de coco ou du charbon actif. Ils considèrent qu'utiliser cette technologie seule n'apporte qu'une filtration grossière et ne permet qu'un traitement limité (David, 2014)

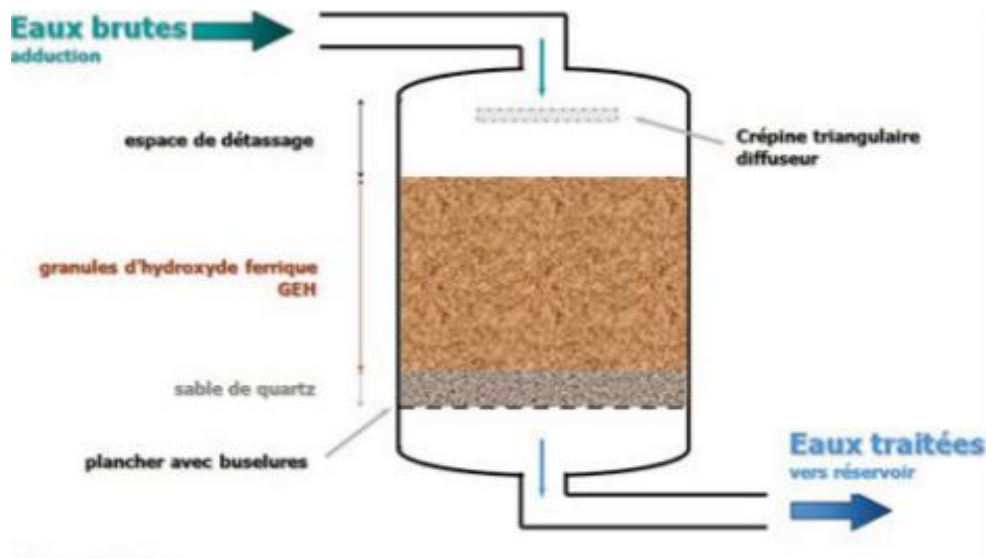


Figure 6: Lit de sable utilisé pour traiter les eaux usées

**Le Filtra-lite filtration** est un procédé de traitement de l'eau qui utilise un matériau granulaire tel que l'argile expansée Filtra-lite, l'antracite et d'autres types de milieux de filtration granulaires pour éliminer les impuretés. Les filtres granulaires sont les plus efficaces pour éliminer les particules en suspension comme l'argile, le fer et les floccs d'aluminium ainsi que les matières biologiques telles que les bactéries, les algues, les protozoaires et autres micro-organismes pathogènes.

L'efficacité de la filtration granulaire dépend du type de média de filtration utilisé. Il existe aujourd'hui sur le marché un large éventail de types de supports de filtration granulaires qui comprennent l'argile expansée Filtra-lite, le sable quartzeux, le sable siliceux, le charbon antracite, le grenat, la magnétite et autres. Le grenat et l'antracite sont les types les plus couramment utilisés. La taille, la forme et la porosité interne du média filtrant affectent l'efficacité de l'élimination des solides et de l'activité de filtration biologique se produisant dans le lit de média.

**Principaux avantages :** la filtration est une technologie mature, et de faible prix par rapport aux technologies plus récentes comme la membrane.

Ces divers traitements étaient les résultats de différentes recherches scientifiques qui consistent à améliorer la qualité des eaux, la préservation de ressources en eau et le développement des nouveaux procédés simples et économiques d'épuration et de réutilisation des eaux usées.

### III. TRAITEMENT DES EAUX USEES PAR PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. L'être humain utilise des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales (Rakholiya et al. 2013, Saltan et al. 2003).

Dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour se soigner. Les PAM ont eu une infinie diversité d'emplois, à signaler le domaine thérapeutique, alimentaire, cosmétique, industriel, etc.

Situé à l'angle Nord-ouest du continent Africain entre 21° et 36° de latitude de Nord et entre le 1<sup>er</sup> et le 17<sup>ème</sup> degré de longitude Ouest, le Maroc jouit d'une position privilégiée avec une façade maritime de 3446 Km de long s'ouvrant sur la méditerranée et l'océan atlantique. Cette position géographique particulière confère au Maroc une gamme exceptionnelle de bioclimat très varié allant de l'humide et de subhumide au saharien et désertique en passant par l'aride, le semi-aride et le climat de haute montagne dans le Riff, le moyen et le haut atlas où les altitudes dépassent respectivement 2500, 3000 et 4000 m (Fabricant et al.2001).

Tous ces facteurs accordent au Maroc une large bande de végétation très variée notamment les PAM dont plusieurs dizaines d'espèces existant à l'état spontané (Armoise, Romarin, Menthe Pouliot, Thym, Origan, etc.) ou en culture (Rosier, Verveine, Jasmin, Lavande, Menthe Verte, etc.) (Cragg et al.1997)

## **1) Dérivées des plantes aromatiques et médicinales**

Les extractions de différentes plantes font sous différentes formes dont les plus importantes sont: les tisanes, la gélule de la plante, les teintures mères, les macérâtes glycinés, les suspensions intégrales de plantes fraîches (hydrata) et l'huile essentielle, qui nous intéresse.

### **1-1) Huile essentiel :**

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (Wegrzyn et al. 2005). Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry et al. 2007). Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles (Nogaret-Ehrhart et al. 2008).

On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction, Selon la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

### **-Technique de vapeur d'eau :**

La plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaibles par la vapeur d'eau; parce que leur point d'ébullition est relativement bas et a partir de leur caractère hydrophobe ; Nous pouvons utiliser Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation.

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- Au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau.
- Au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

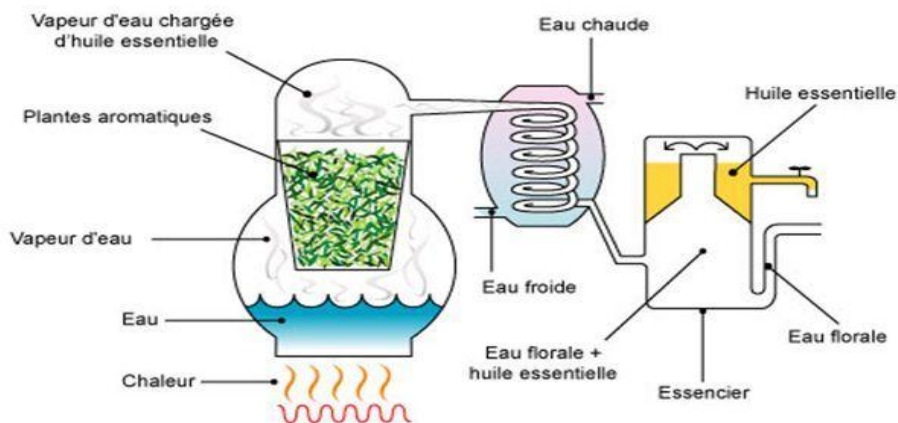


Figure 7 : distillation à la vapeur d'eau (CANALBLOG, 2014)

### -Technique de l'hydro-distillation :

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat).

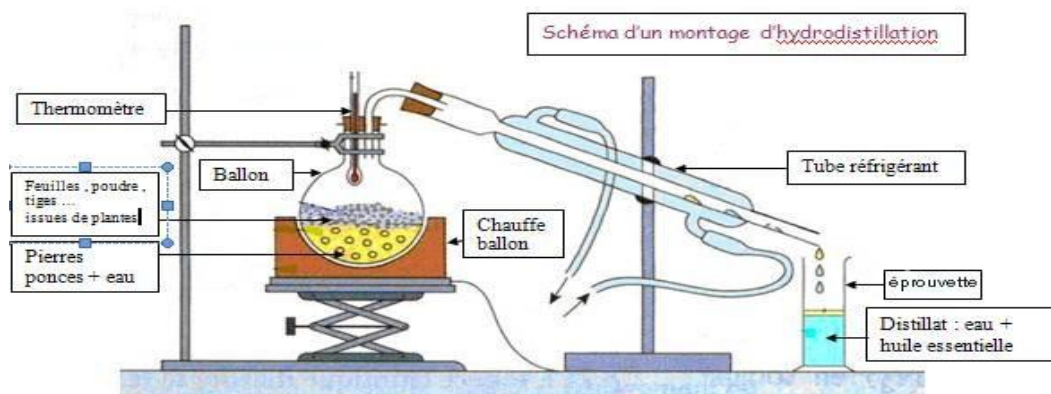


Figure 8: Montage d'hydro-distillation (SANA, 2016)

### -Technique de l'hydro-diffusion:

Elle a été développée par la firme Suisse Schmidt qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La méthode permet d'extraire des produits avec de composition sensiblement identique à celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet aussi un gain de temps et d'énergie, et



évite un grand nombre d'artéfacts liés à une température excessive. En fait, ce procédé correspond à la percolation en phase vapeur.

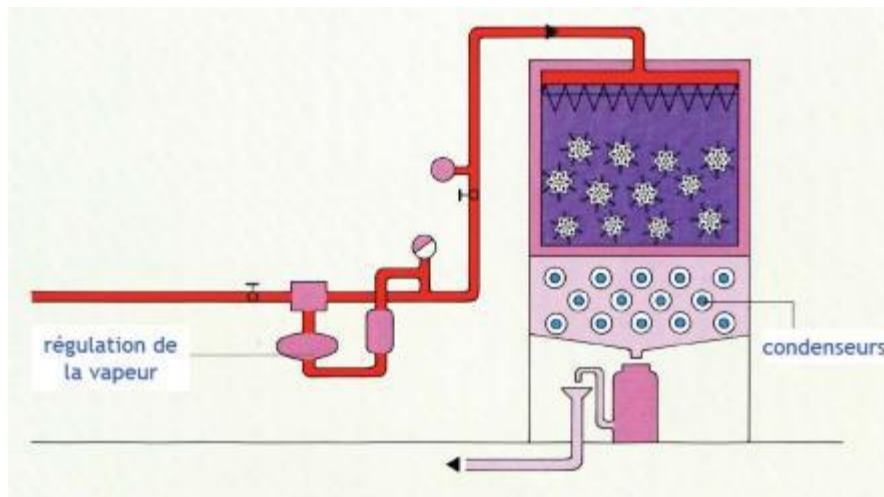


Figure 9 : Montage d'extraction par hydro-diffusion (Bencheikh, 2017)

#### -Technique de distillation Solaire :

C'est une technologie thermo-solaire pour l'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales (PAM) qui constitue une alternative idéale aux combustibles fossiles classiques.

Le CNEREE a développé dans la région de Marrakech-Safi un dispositif décentralisé, « la parabole solaire Scheffler Reflector », pour la distillation des PAM en utilisant l'énergie solaire afin d'extraire essences, huiles essentielles et eaux aromatisées. Le système de distillation solaire comprend deux réflecteurs primaires et secondaire, un alambic, un condenseur et un vase florentin. Le réflecteur Scheffler est équipé avec un système électronique alimenté par un panneau photovoltaïque pour le suivi quotidien et par des mécanismes mécaniques pour le réglage saisonniers. SSD est représenté sur (Figure 10).



Figure 10: Système de distillation solaire (Zidan, 2014)

Il existe cependant deux unités pour produire les huiles essentielles, soit :

- ✓ Système solaire
- ✓ Unité de distillation

Le procédé SSD consiste à chauffer de l'eau directement par le rayonnement solaire dans une enceinte. La vapeur produite qui entraîne huiles essentielle, se condense sur condenseur plus froid et légèrement incliné, est recueillie sous forme de condensât dans des gouttières. Le principe est simple, fiable et ne nécessite aucun entretien.

### 1-2) Huile infusée :

Les macérâtes huileux, également appelés macérations huileuses ou huiles infusées sont simples à préparer, ils s'obtiennent en faisant infuser des plantes ou des parties de végétaux dans une huile végétale fine pour en extraire les principes actifs liposolubles. Une huile est choisie comme base plutôt qu'une autre pour ses propriétés et l'usage prévu du macérât (pour massage, pour peaux grasses, desséchées...), vous pouvez également opter pour un mélange d'huiles. Préférez-les de qualité, biologiques, vierges, de première pression à froid.

Les huiles ainsi préparées sont utilisées lorsque l'extraction des huiles essentielles peut ne pas être économique, l'exemple de l'huile de rose qui nécessite 60000 roses pour faire 30g d'huile essentielle d'où un prix extrêmement élevé (Bremness et al., 1998).

L'huile infusée est moins irritante et possède les mêmes propriétés thérapeutiques. D'autres huiles, bien qu'elles soient commercialisées mais ne se trouvent pas toujours. Mieux encore les huiles infusées se préparent facilement malgré leur faible pouvoir par rapport aux huiles essentielles (Ody et al, 1995).



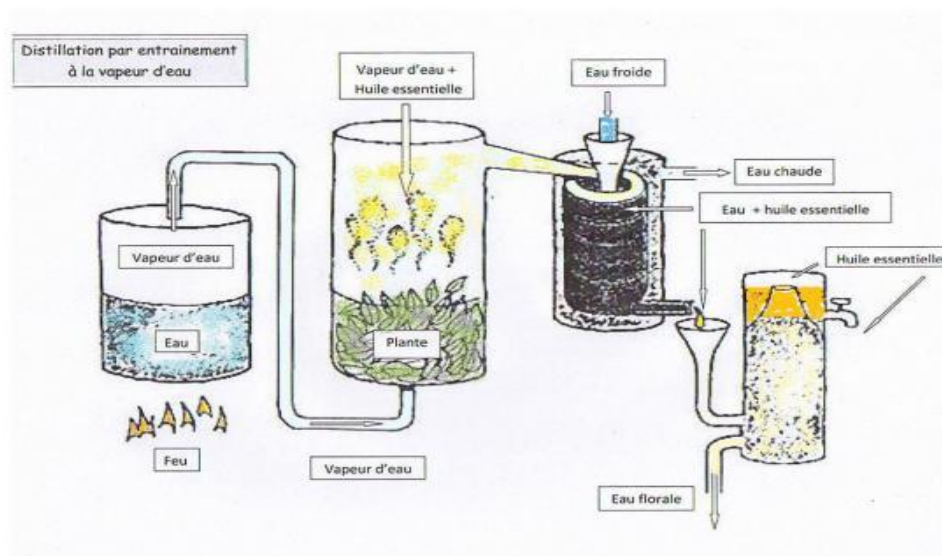
**Figure 4: Huile infusé du romarin (Arshiya, 2017)**

### 1-3) Hydrolat :

A l'issue de la distillation à la vapeur d'eau de source des différentes parties de plantes aromatiques (plantes qui sécrètent des molécules aromatiques), on obtient de l'huile essentielle

dense en principes actifs (non hydrosolubles) au-dessus dans le vase florentin, et la vapeur d'eau redevenue liquide après refroidissement se concentre en bas (hydrolat).

Cette vapeur d'eau redevenue liquide est chargée de composés aromatiques de l'huile essentielle environ 2 à 3 %, et d'autres principes actifs hydrosolubles que l'on ne retrouve pas dans l'huile essentielle, ce qui lui confère des propriétés propres. C'est donc l'eau utilisée pour la distillation de plantes ou fleurs aromatiques qui se séparent de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic que l'on appelle hydrolat ou eau florale. Il est important de noter que chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, et que l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante.



**Figure12: Méthode d'extraction d'hydrolat**

Les plantes et ces diverses dérivées deviennent aujourd'hui essentiels puisque leur grande répartition et leur effet antiprolifératif, antioxydant et antibactérienne au premier lieu, aux plusieurs traitements parmi eux les traitements des eaux polluées contenant des germes massives au niveau de l'environnement et la santé humaine

## 2) L'effet bactériologique des dérivées des plantes aromatiques et médicinales :

Le Maroc, de part sa situation géographique, constitue un climat et un cadre favorable à la culture d'une flore riche et variée. Sur les 7000 espèces et sous-espèces existantes, on retrouve environ 537 espèces endémiques du pays et 1625 rares ou menacées. Le Maroc occupe ainsi la première place parmi les pays du Sud de la Méditerranée pour sa richesse en plantes endémiques, cette catégorie englobe une large gamme de plantes dont les plus importantes sont le thym, le romarin, lavande, ail, cannelle,...qui trouve une forte utilisation de ses dérivées dans le domaine environnementale à cause de son effet antibactérienne, et qu'on peut aussi l'utilisé dans le traitement hydriques pour inhiber les bactéries existant dans l'eau. Le tableau ci-dessous présent l'activité antibactérienne des PAM contre certains types de bactéries pathogènes.

**Tableau 1: Effet inhibiteur des huiles essentielles des PAM contre certains types des germes pathogènes**

Huiles essentielles des PAM	Bactéries pathogènes inhibées
Romarin	<i>E.coli, P.aeruginosa et Proteus</i>
Thym	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Basilic	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Grain de céleri	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Citronnelle	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Clou de girofle	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Coriandre	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Ail	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Marjolaine	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Sauge	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Estragon	<i>E.coli, S.aureus et Proteus</i>
Cannelle	<i>E.coli, S.aureus</i>
Lavande	<i>E.coli, S.aureus et P.aeruginosa</i>
Laurier	<i>E.coli, S.aureus et P.aeruginosa</i>

Les propriétés médicinales des dérivées des plantes surtout les huiles essentielles sont nombreuses: antispasmodiques, antiseptiques, antiprolifératives, anti-oxydantes et antibactériennes. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus (Leila 2015) leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

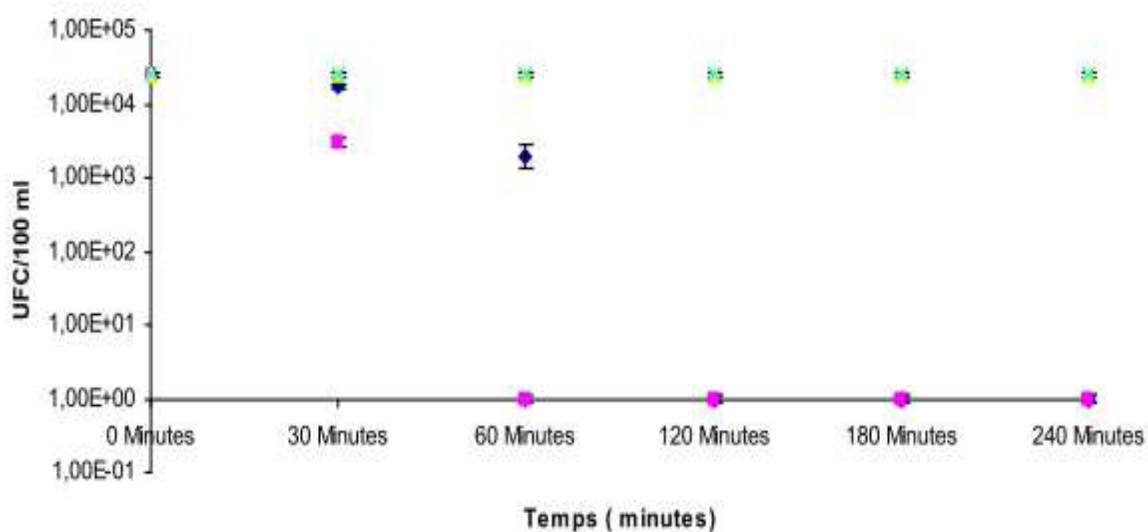
- **Effet bactéricide** (bactéricide) : exerçant une activité létale
- **Effet bactériostatique** (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (Lambert et al, 2001 ; Walsh et al, 2003) surtout les phénols et les monoterpénols qu'ils ont des effets bactéricides sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Desjobert et al, 1997) et autres qui existent aussi dans l'eau usée, cela mené à faire plusieurs recherches pour exploiter convenablement ces dérivées au traitement des eaux usées.

### -Exemple de traitement d'eau usée par les huiles essentielles de quelques PAM :

(Sunda Makuba, 2012) a montré que la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les huiles essentielles de *Citrus bergamia*, *Citrus limonum* et *Citrus reticulata* provoque une inhibition complète des coliformes fécaux présents dans l'eau après une heure d'ensoleillement pour l'huile de *Citrus bergamia*.

Pour les huiles essentielles de *Citrus limonum* et *Citrus reticulata*, il a remarqué une inhibition complète des coliformes fécaux après 2 heures d'ensoleillement. En ce qui concerne l'eau polluée traitée avec les huiles essentielles et gardée à l'obscurité, aucune inhibition n'a été notée. L'activité photo-sensibilisatrice trouvée dans ces huiles pourrait être due à la présence des molécules photo-activables présentes dans ces huiles, notamment le méthoxy-5 psoralène. Etant donné que l'huile essentielle de *Citrus bergamia* a montré une bonne activité, une étude approfondie de celle-ci s'avère indispensable, notamment en ce qui concerne sa composition chimique et son activité vis-à-vis des bactéries Gram positif (Gram+) et le comportement des microorganismes après la désinfection.



**Figure 13 : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps suite au traitement avec 1ml d'huile de citrus limonum/litre (Sunda Makuba, 2012)**

Dans ce cadre, et pour valoriser le rôle des PAM, ce travail va faits saillants aux propriétés antimicrobiennes du Romarin sur les Coliformes Totaux, Fécaux et les Staphylocoques contenu dans les eaux usées.

**CHAPITRE 2 :**  
**MATERIELS ET METHODES**



## I. Matériel végétal

Le présent travail porte sur les l'huile essentielle du romarin, Les feuilles de plantes spontanées de romarin ont été récoltées en 2017 dans la ville de Taourirt (altitude 394m) située dans la partie nord du Maroc (région orientale); l'humidité des feuilles après séchage à l'air était de 4,72%.

### 1) Classification scientifique du romarin

La classification scientifique du romarin est ainsi :



**Royaume :** *Plantas*

**Embranchement :** *Spermatophytes*

**Sous-embranchement :** *Angiospermes*

**Classe :** *Dicotylédones*

**Sous classe :** *Gamopétales*

**Ordre :** *Lamiales*

**Famille :** *Lamiacea*

**Genre :** *Romarinu*

**Espèce :** *Romarinus Officinalis*

**Nom commun :** *Romarin*

**Nom en anglais :** *Rosemary*

### 1-2) Description

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante de la famille des Lamiacées. C'est un arbrisseau de 50 à 150 cm de hauteur à feuilles persistantes. Ces dernières sont coriaces, sans pétiole, sessiles, beaucoup plus longues que larges. Elles sont de couleur vertes sombre sur le dessus et blanchâtre sur le dessous. Les bords sont légèrement enroulés. Les fleurs sont de couleur bleu pâle à violet, et dégagent une odeur aromatique stimulante, riches en pollen, appréciées par les abeilles, l'une des premières herbes utilisées médicalement. On fait une seule récolte par an: avant la floraison pour l'herboristerie, en pleine floraison pour l'huile essentielle.

### 1-3) Répartition Géographique au Maroc :

Cette plante est très connue, le romarin est originaire du bassin méditerranéen, il apprécie les climats chauds et tolère modérément la sécheresse. Au Maroc, elle est rencontrée dans le Haut et le Moyen- Atlas, l'Oriental et le Rif. (Mouhssine, 2012). Les peuplements les plus importants sont rencontrés dans les régions de Taourirt, Jerada et Bouarfa (Filière des plantes aromatiques et médicinales Note de Synthèse, 2005), il est fréquent à partir de jbel Ayachi et Tataouine. Par ailleurs, il est particulièrement abondant dans la région de Midelt et dans la forêt de Debdou, et rare dans la partie occidentale.

Ainsi, on note son absence dans les peuplements de pin d'Alep du Maroc atlantique. On le rencontre également dans le Rif central et centre occidental (El Amrani, 1999). Au total, la superficie potentielle de zones de collecte du romarin dépasse 800 000 ha (Mounir et al, 2015).

La croissance du romarin s'effectue en été, du début juillet à la fin août, pendant la sécheresse estivale.

La figure 14 présente une estimation de l'évolution de la production et de la superficie du romarin entre 2008 et 2012. Elle montre d'importantes variations en termes de production ainsi qu'une potentielle déconnexion entre la superficie de production et les quantités produites. Cette variabilité est essentiellement liée aux phénomènes cycliques de sécheresse que connaît le Maroc.

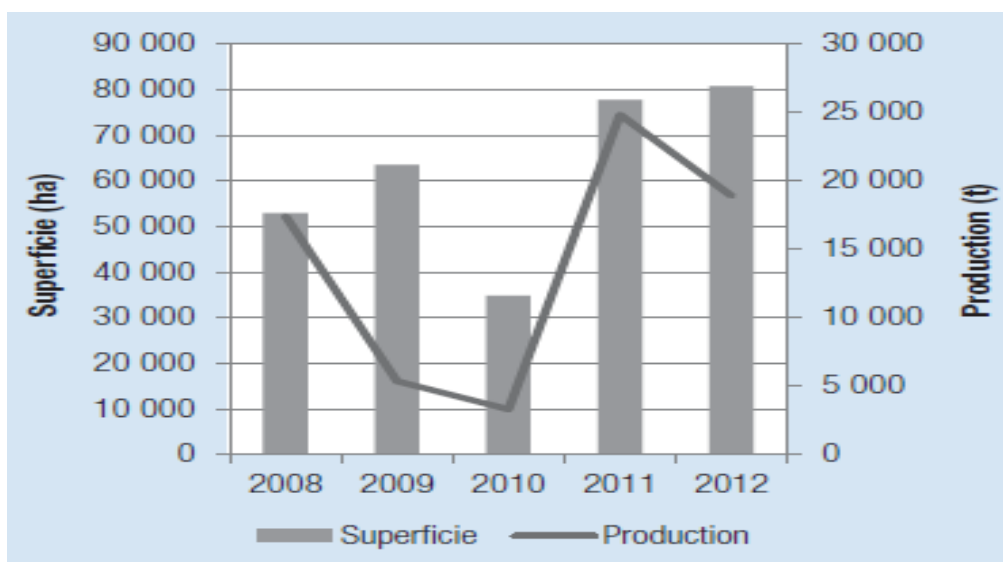


Figure 5: Evolution de la superficie et la production du romarin exprimé en ha et en tonne de matière végétale (2008-2012) au Maroc ( Mounir et al, 2015)

### 1-2) Composition chimique

L'analyse par CPG et CPG/SM d'HE du romarin a révélé des compositions chimiques très différentes pour cette plante, Le  $\alpha$ -pinène (15,90%) est le composé majoritaire au niveau de cette dérivée.

Les extraits éthanoïques du romarin possèdent un fort pouvoir antioxydant par rapport à celui des HE. La teneur élevée en composés phénoliques serait à l'origine de cette capacité réductrice importante.



**Tableau 2: Composantes de l'huile essentielle du romarin**

n°	Compounds <sup>a</sup>	CSD (%)	SSD (%)	R.I <sup>b</sup>	R.I <sup>c</sup>
<b>Monoterpenes</b>					
1	1,8-cineol	38.20	38.12	902	1001
2	$\alpha$ -Pinene	15.91	15.90	926	1023
3	Camphene	4.13	4.13	942	1103
4	$\beta$ -Pinene	1.05	1.05	974	1109
5	$\beta$ -Myrcene	1.18	1.18	988	1165
6	$\alpha$ -Terpinene	0.30	0.30	1020	1083
7	Limonene	2.83	2.83	1030	1206
8	$\gamma$ -Terpinene	0.10	0.10	1103	1285
9	Para-Cymene	0.10	2.34	1025	1250
10	Terpinolene	0.08	0.08	1120	1304
<b>Oxygenated Monoterpenes</b>					
11	Linalool	0.93	0.93	1125	1538
12	Camphor	15.01	15.03	1158	1514
13	Borneol	2.38	2.39	1176	1679
14	Verbenone	0.00	0.00	1207	1696
15	Eucalyptol	44.46	44.45	1029	1210
16	$\alpha$ -Terpineol	3.09	3.10	1203	1677
<b>Other oxygenated compounds</b>					
17	Bornyl acetate	0.38	0.38	1263	1579
18	Methyl eugenol	0.01	0.02	1397	2020
<b>Sesquiterpenes</b>					
19	Caryophyllene+terpinen	2.76	2.76		
<b>Extraction time (min)</b>		120	190		
<b>Yield (%)</b>		0.85±0.03	0.82±0.06		
<b>total Oxygenated compounds</b>		66.27	66.29		
<b>Total non-oxygenated compound</b>		28.43	30.66		
<b>Total</b>		94.70	96.95		

### 1-5) Domaine d'utilisation

Les herbes de romarin ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle et les cosmétiques. Ils sont également utilisés comme agents aromatisants dans les aliments. L'HE de Romarin est également importante pour ses utilisations médicinales et ses puissantes propriétés antibactériennes, cytotoxiques, antimutagènes, anti-oxydantes, antiphlogistiques et chimio-préventives.

## 2) Extraction d'huiles essentielle

L'huile essentielle du romarin a été extraite par la technique de distillation-solaire. Le rendement obtenu pour 100 g de matière végétale fraîche est de 1,6 ml.

## 3) Bactéries a traitées

Concernent les bactéries, on va travailler sur les micro-organismes les plus abondant dans l'eau usée qui sont :

### 3-1) Coliformes Totaux

Les coliformes sont des bactéries de la famille des *Entérobacteriaceaes*. Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, oxydase négative, anaérobies facultatives, capables de se développer en présence de sels biliaries et de fermenter le glucose en produisant de l'acide et du gaz. Les coliformes totaux sont incubés à la température de 37°C.

Le groupe des coliformes comprend en général quatre type de germes *E. coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter* et *Enterobacter*. Les coliformes totaux sont présents à la fois dans des milieux d'origine fécale et non fécale.

### 3-2) Coliformes Fécaux

Ils ont les mêmes propriétés que les coliformes totaux, mais leur température d'incubation est de 44°C. Ils ont comme habitat naturel l'intestin des mammifères. Ils sont considérés comme des indicateurs de contamination fécale.

Le dénombrement préalable des coliformes se fait par la même technique en milieu solide (VRBL) mais à une température d'incubation de 44°C.

### 3-3) Entérocoques intestinaux (Streptocoques):

Bactéries Gram positif, sphériques ou ovoïdes, formant des chainettes, non sporulées, catalase négative, possédant l'antigène D, cultivant en anaérobiose à 44°C, et à pH 9.6, et capables d'hydrolyser l'esculine en présence de bile. Ils se répartissent en deux genres streptocoques et entérocoques.

L'apport des entérocoques par rapport aux coliformes consiste en leur plus grande résistance dans les eaux naturelles. Leur présence sera donc le signe d'une contamination fécale d'une eau plus ancienne.

## 4) Méthode d'échantillonnage des eaux

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes

L'eau polluée provenait de l'entrée et fosse septique (Traitement secondaire) de la station de traitement situer à l'annexe de la faculté des sciences juridiques, économiques et sociales, Université Cadi Ayyad - Marrakech.



**Puits de l'entrée**



**Bouteille d'eau usée**



**Glacière pour conserver la T**

### **Pour l'eau de l'entrée**



**Fausse septique**

**Bouteille d'eau**

**Glacier**

### **Pour l'eau de Fosse septique**

L'eau prélevé contient les caractéristiques suivantes :

**Tableau 3: Caractéristiques chimiques, physiques et bactériologiques d'eau prélevée**

	pH	T (°C)	DCO (mg O <sub>2</sub> /l)	Conductivité (µs/cm)	OD (%)	MES (mg/l)	NH <sub>4</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/l)	PT (mg/l)	Bactério (UFC/100 ml)
Entrée	7,3	20,6	0,07	1058	0,4	980	0,195	0,370	0,444	0,336	2.13 E+08
FS	7,9	21	0,193	652	0,4	9	0,134	0,147	0,229	0,164	2.3 E+05

**5) Tests de l'activité antibactérienne:**

Ces procédés ont été réalisés suivant plusieurs références: (Rodier et al. 2009, Nairouz, 2005) et modifiées si nécessaire.

**5-1) Méthode de Dénombrement des colonies après ensemencement sur une gélose nutritif**

Cette méthode consiste à répartir avec un étaleur stérile des faibles volumes d'échantillon sur la surface d'une gélose en boîte de pétri, les bactéries maintenues dispersées dans la surface d'un milieu solide donne naissance dans des conditions favorables à des colonies isolées les uns des autres qui, de ce fait peuvent être directement comptées.

**➤ Milieu de culture:**

Les bactéries étudiées ont été dénombrées sur des milieux d'isolement sélectifs et différentiels.

Les streptocoques sont cultivés sur BEA. Tandis que Les Coliformes Totaux et Fécaux sur Tergitol 7 TTC.

**Milieu « Bile Esculine Agar » (Milieu BEA) :**

Dans un litre d'eau distillé dissoudre en portant à l'ébullition.

Tryptone.....	17 g
Peptone.....	3 g
Extrait de levure.....	5 g
Bile déshydratée de bœuf .....	10 g
NaCl.....	5 g
Citrate de sodium.....	1 g
Esculine.....	1 g
Citrate de fer ammoniacal .....	0,5 g
Azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ).....	0,25 g
Gélose.....	15 g

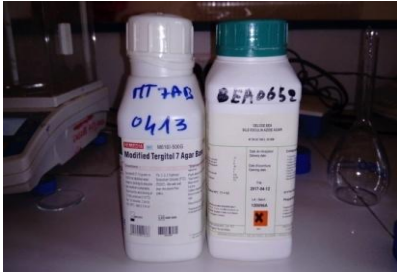
Ajuster le pH de telle façon qu'après stérilisation il soit à 7,1± 0,1 à 25 °C. Stériliser pendant 15 minutes à 121 ± 1 °C à l'Autoclave. Pour l'emploi, couler ce milieu après fusion et refroidissement à 50-60 °C, dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à raison de 20 ml par boîte.

**Milieu lactosé au Tergitol et TTC :**

Dans 1 litre d'eau distillé, dissoudre par chauffage :

Extrait de viande.....	5 g
Peptone.....	10 g
Extrait de levure .....	6 g
Lactose.....	20 g
Bleu de bromothymol.....	0,05 g
Agar.....	20 g

Ajuster le pH à 7,2. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 120 °C. Après, Dissoudre 1,5 ml de chlorure de 2, 3,5- triphényltétrazolium (TTC) dans un litre de gélose préparé. (RODIER, 2009).



Ajout de 500 ml de l'eau distillé pour 23,35g de poudre de préparation



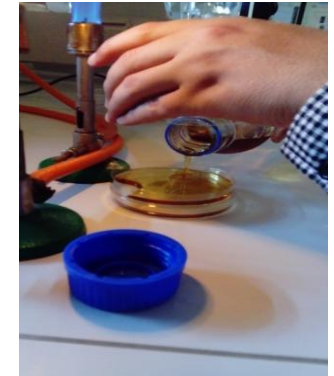
Chauffage du mélange à l'aide du bec bunsen



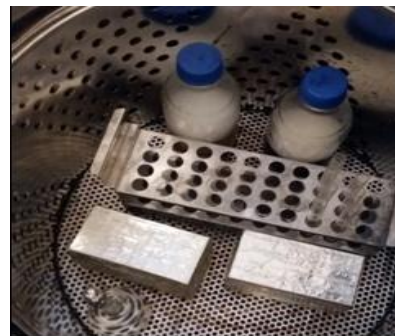
## Les étapes de préparation des milieux de culture



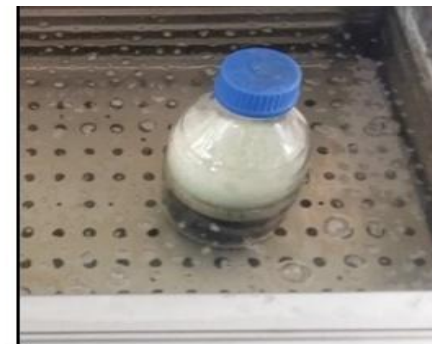
laisser refroidir le gélose



Couler la gélose dans les boîtes de Pétri



Stérilisation à 121° pendant 15 minutes



Porter à ébullition



## ➤ Dilutions

La dilution est faite en deux étapes :

- Dilution d'huile essentielle par éthanol d'une part et par l'eau distillé d'une autre part. l'ajout de 20 ml d'éthanol ou de l'eau distillé à 0,2 g d'huile essentielle du romarin. puis on descend successivement de concentration 7,5 g/L ; 1,5g/l ; 0,5g/l ; 0,25g/l et 0,1g/l par l'ajout d'eaux usée.



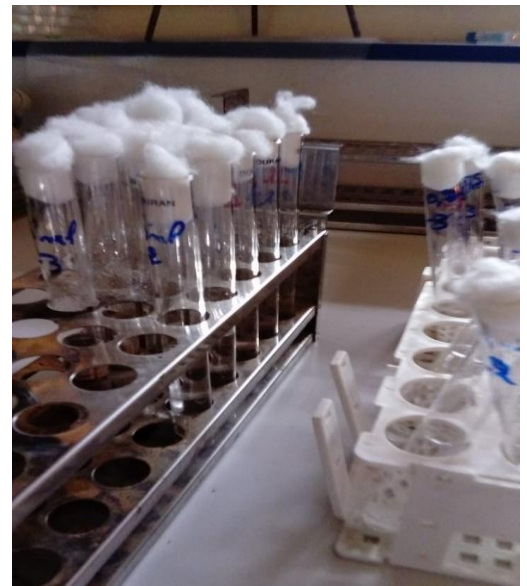
Dilution des  
huiles  
essentielles



- Dilution de mélange (huile essentielle et eaux usées) par l'eau physiologique ; dans chaque tube de 9ml d'EP on ajoute 1ml de mélange et on fait des dilutions de  $10^{-1}$  ;  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$



Dilution de mélange



## ➤ Ensemencement

Les boîtes de gélose doivent être préparées (coulées, solidifiées, refroidies, convenablement séchées) avant le début des manipulations. Agiter très soigneusement l'échantillon à analyser.

Prélever une prise d'essai de 0,1 ml avec une pipette graduée et la disposer à la surface du milieu à l'aide d'un étaleur stérile.

Répartir uniformément la goutte sur toute la surface de la boîte. Ensemencer de cette façon pour chaque température d'incubation une boîte, ou de préférence plusieurs, pour obtenir plus grande précision dans le résultat.

➤ **Incubation :**

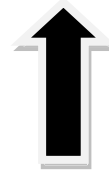
Incuber les boîtes pendant 18 à 24h à 37°C pour les CT et streptocoques, et à 44°C pour les CF.



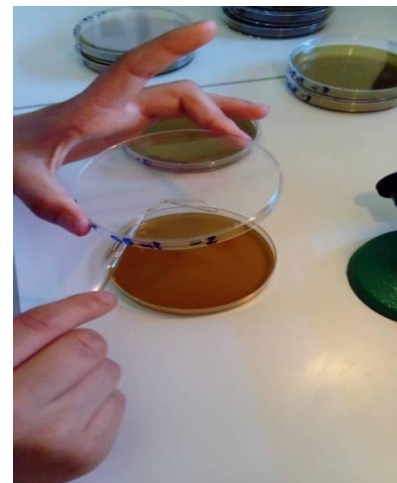
Marquage du boîtes de pétri



Incubation (CT et Streptocoques à 37°C  
Et CF à 44°C)



Prélèvement de 0.1 ml de mélange



Etallement sur milieu gélosé  
Par étaleur

➤ **Lecture :**

La lecture des boîtes permet de reconnaître la présence de coliformes par les caractéristiques suivantes :



- **Coliformes :**

- Coloration jaune, orange des colonies, résultant de l'absence de réduction du TTC par les coliformes ; en général, les *Escherichia coli* provoquent

Une coloration nettement orangée ; les *Klebsiella* une coloration jaune paille ;

- Halo jaune, dans le milieu lui-même, sous la membrane, autour des colonies précédentes, correspondant à une fermentation du lactose par ces colonies.

La flore bactérienne associée est généralement beaucoup moins abondante dans la boîte incubée à 44 °C.

- **Streptocoques :**

- Des colonies noires montrent l'hydrolyse de l'esculine révélée par les ions de fer III (une confusion est possible avec le sulfure d'hydrogène mais les bactéries cultivant sur ce milieu sont habituellement H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).



Récupérée les boîtes d'étuve après l'incubation  
De 37 °C pour CT et Streptocoques et 44°C pour CF

Comptage des colonies

➤ **Expression de résultat :**

Les résultats du dénombrement des bactéries étudiées sont exprimés en nombre de germes par 100 ml (UFC X/100 ml).

Le calcul d'UFC se fait ainsi :

$$\text{UFC} = \text{N} / (\text{V} * \text{F})$$

(Avec : V = volume de dilution ; N = nombres de colonies ; F = facteur de dilution)

**CHAPITRE 3 :**  
**RÉSULTATS ET DISCUSSIONS**

## I. Traitement d'eau de l'entrée de la station :

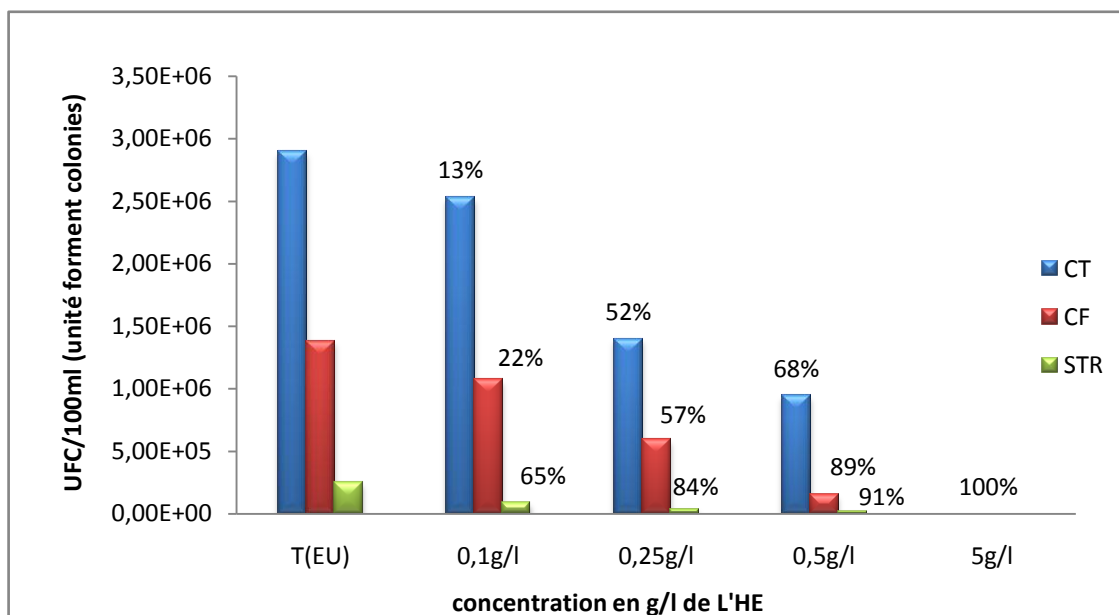
### 1- Traitement des eaux usées par l'huile essentielle de romarin :

Pour tester l'activité antibactérienne de l'HE du romarin le travail va être effectué sur les eaux usées d'entrée à la station de traitement de l'annexe de la faculté du droit à Marrakech qui sont très chargées en germes bactériologiques, ceci va montrer l'efficacité de traitement de cette HE .

Pour rendre HE miscible dans l'eau usée il est nécessaire d'utiliser un solvant tel que l'éthanol (Nairouz, 2015). Et donc nous avons dilué l'HE par l'éthanol. Cette opération permet une bonne efficacité d'HE à sa composition en grande majorité par la fraction volatile.

#### - Traitement des eaux usées à l'aide d'HE dilué par l'éthanol :

Les expériences ont été menées pour des concentrations en HE de 0,1 ; 0,25 ; 0,5 et 5g/l diluées par l'éthanol comme solvant pour les trois germes choisis CT : Coliformes totaux, CF : Coliformes fécaux et STR : Streptocoques (Annexe 6).



**Figure 15: Evolution des concentrations bactériennes en fonction de différentes concentrations d'HE du romarin et de l'Éthanol**

T(EU): Témoin Eau usée ; CT: Coliformes totaux ; CF: Coliformes Fécaux ; STR: Streptocoques

Les résultats représentent l'évolution des bactéries au cours du traitement par l'huile essentielle. Une diminution progressive de la quantité des CF a été observée. Le rendement passe d'environ 22% (pour la concentration 0.1g/l) à presque 100% (pour la concentration 5g/l). De même pour les CT et Streptocoques qui sont disparues complètement à la concentration de 5g/l. (Figure 16). Cela serait lié à l'effet antibactérien des huiles essentielles. Cependant selon la littérature (Nairouz, 2015) l'éthanol aurait aussi un effet létal sur les bactéries étudiées.

Le tableau ci-dessous résume les tests réalisés pour l'effet de l'éthanol et montre que celui-ci a un pouvoir antibactérien puissant sur les bactéries, Pour vérifier les effets de l'huile essentielle d'autres solvants pourraient être utilisés

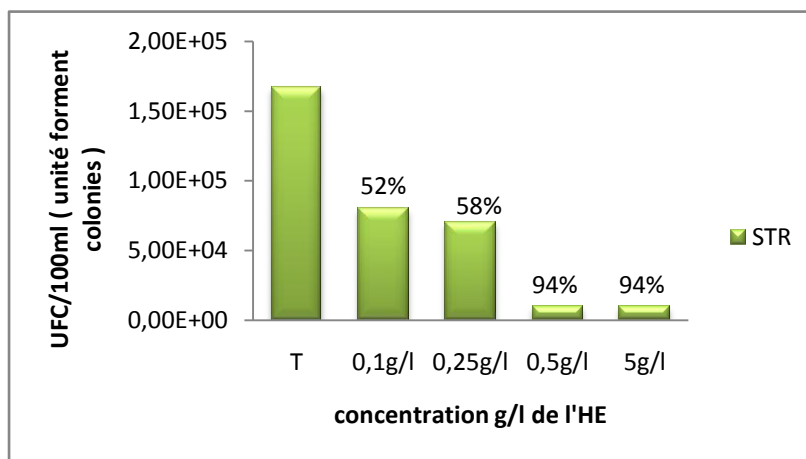
**Tableau 4: Evaluation de l'activité antibactérienne d'éthanol sur la qualité de l'eau usée**

		Bactéries		
Facteur de dilution		STR	CT	CF
Ethanol	-1	0	0	0
	-2	0	0	0
	-3	0	0	0

Dans ce but, seule l'eau distillée a été testée.

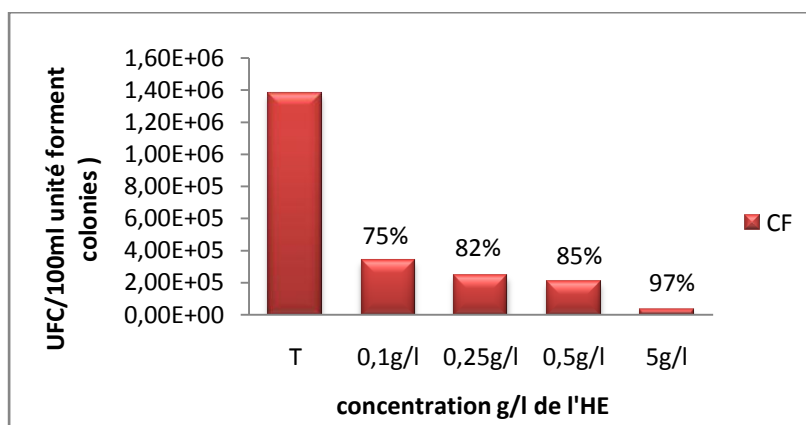
**- Traitement des eaux usées à l'aide d'un mélange d'HE et l'eau distillée**

Les testes ont été réalisés pour des concentrations en HE de 0,1 ; 0,25 ; 0,5 et 5g/l diluée par l'eau distillée pour les trois germes choisis CT : Coliformes totaux, CF : Coliformes fécaux et STR : Streptocoques (Annexe 7).



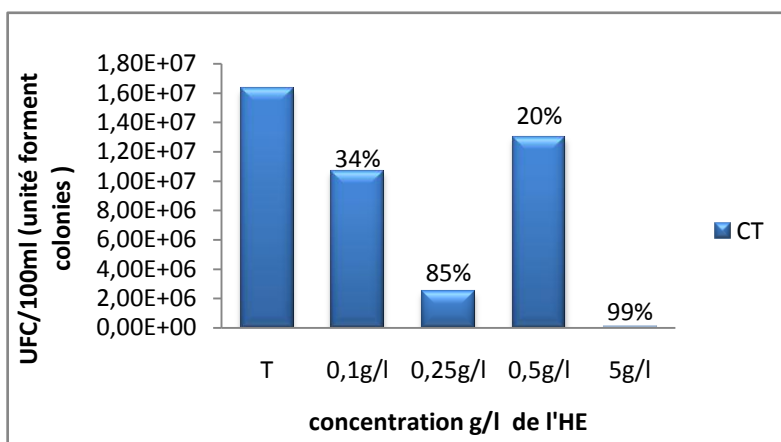
**Figure 16 : Evolution des streptocoques en fonction de différentes concentrations dans l'eau distillé**

La figure 17 indique clairement l'effet inhibiteur significatif d'HE du Romarin sur Streptocoques étudiées, le rendement est bien corrélé avec une augmentation de la concentration de l'huile essentielle. L'évolution est marquée par l'élimination d'environ 52% à la concentration de 0,1 g/l et environ 94% à 5g/l



**Figure 17 : Evolution des CF en fonction de diverses concentrations dans l'eau distillé**

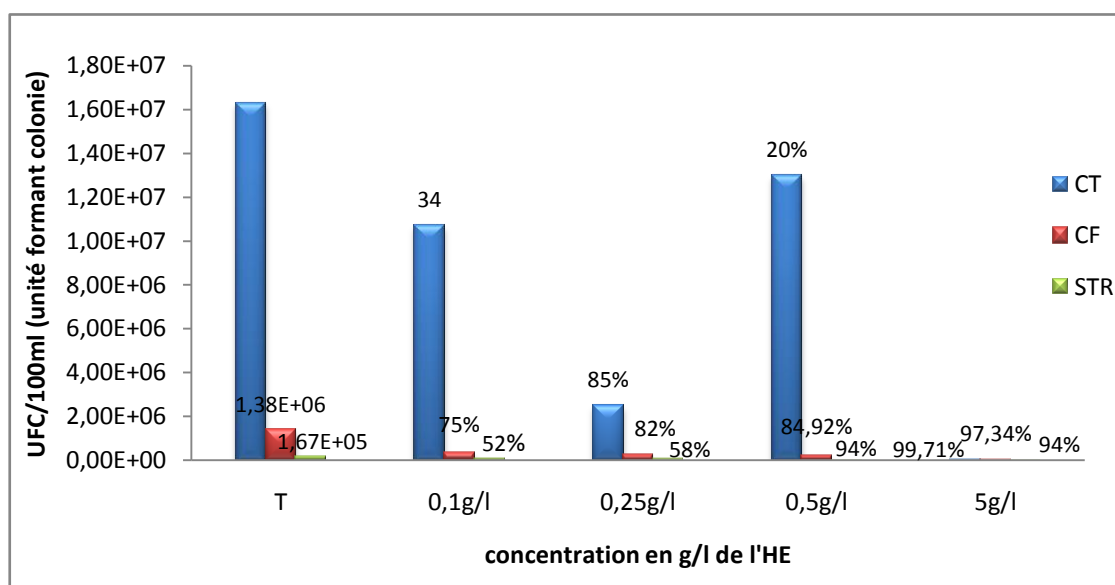
Les résultats d'inhibition sur les CF (Figure 18), sont significatifs par rapport STR. En effet, 75% des germes sont inhibées à 0.1g/l, 84% des germes sont inhibées à 0.5g/l et 97% à 5g/l.



**Figure 18 : Evolution des CT en fonction de diverses concentrations de mélange HE et eau distillé**

Concernant les CT on constate qu'il y'a une élimination remarquable de la quantité des bactéries dans l'échantillon étudié. Le rendement a atteint 85% pour la concentration 0.25g/l. A remarquer que pour la concentration 0.5g/l le rendement est moins important

Ceci aurait été expliqué par une prise d'essai d'eau usée très chargée par rapport aux autres concentrations.



**Figure 19 : Comparaison de l'évolution des germes présents dans l'eau en fonction de concentration d'HE**

La synthèse des résultats de l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de romarin sur les trois types des germes testés a montré une activité antibactérienne plus élevée contre les bactéries Gram-positives (Streptocoques) que contre les bactéries Gram-négatives (CF et CT), cet effet d'inhibition d'HE pourrait être liée Selon (TAYEB-CHERIF et al, 2016) à l'activité antibactérienne des mono-terpènes ceci qu'est expliquée par la présence des groupes d'hydroxyles phénoliques capables de former des liaisons hydrogènes avec les emplacements actifs des

enzymes de la cellule ciblée. Mais jusqu'à ces concentrations il n'y a pas une élimination totale des bactéries. L'utilisation des concentrations plus grandes est donc nécessaire pour trouver la concentration minimale d'inhibition (CMI).

### 3) Détermination de la Concentration Minimale d'Inhibition (CMI) (Annexe 8)

La Concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique (Archambaud,2009)

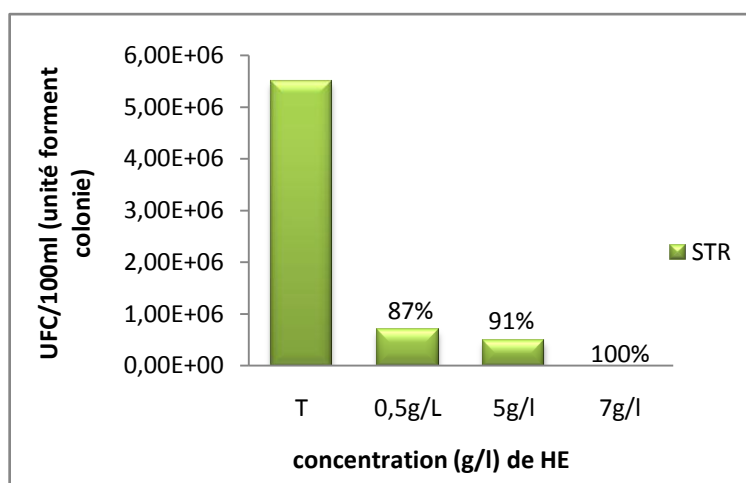


Figure 20 : Concentration minimale d'inhibition pour les streptocoques

Selon la figure 21 l'élimination totale des streptocoques à la concentration 7g/l qui serait considérer la CMI pour cette bactérie

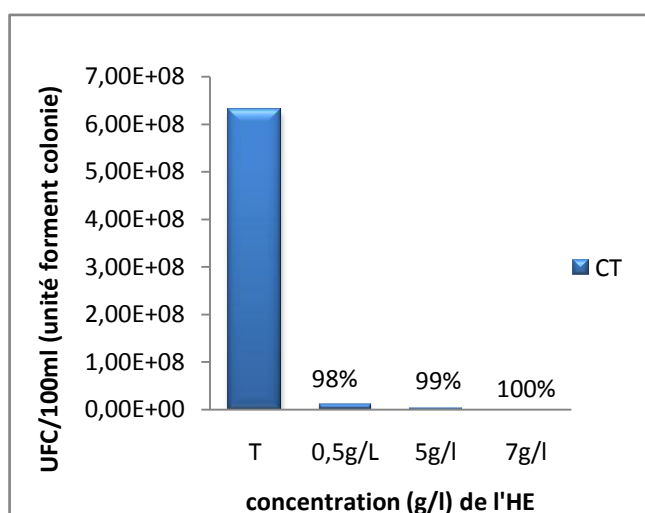


Figure 21 : Concentration minimale d'inhibition pour les CT

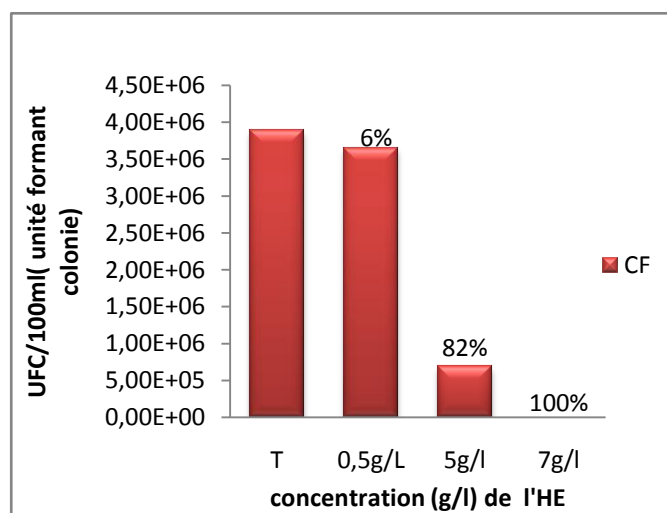


Figure 22 : Concentration minimale d'inhibition pour les CF

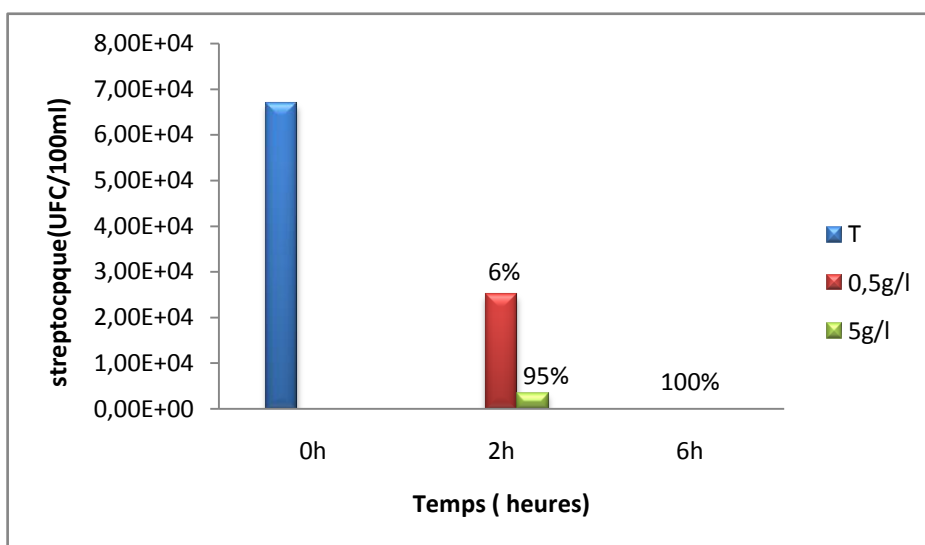
On observe pour les deux types de coliformes, un rendement total de 100% à 7g/l.

→ La concentration minimale d'inhibition des germes contenus dans l'eau usée d'entrée de la station est de 7g/l. Qui présente seulement 0,6% en volume.

D'après les résultats, l'huile essentielle a un effet antibactérien sur les germes contenus dans les eaux usées très chargées de l'entrée. Cela indique qu'il a un effet puissant aussi sur les eaux de fausse septique qui sont moins chargées issue de traitement secondaire.

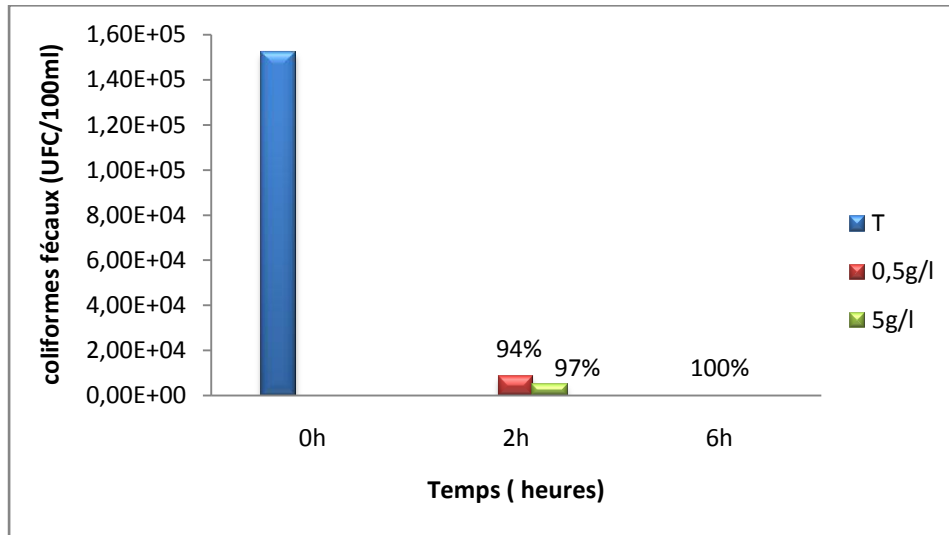
## II. Traitement des eaux usées prélevées de la fosse septique de la station du traitement:

Afin de tester l'effet du temps du contact de l'HE avec l'eau usée on a réalisé des tests pour 2h et 6h comme temps de contact. Les résultats de cette étude sont illustrés dans les figures 20,21 et 22. (Annexe 9)



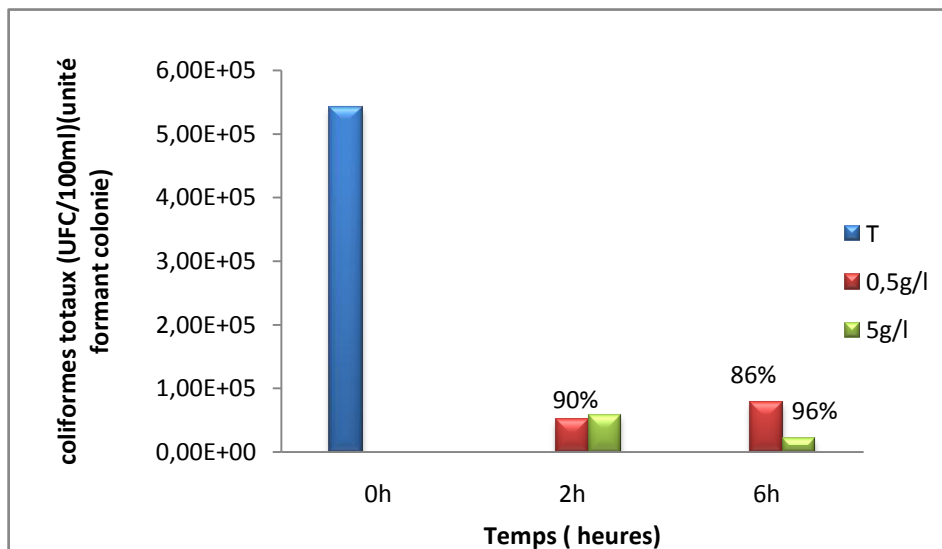
**Figure 23 : Evolution de quantité des streptocoques au cours du temps pour les concentrations 0,5g/l et 5g/l**

La figure 24 indique une augmentation de l'effet d'inhibition d'HE de romarin sur les streptocoques avec le temps de contact pour atteindre une inhibition totale après 6h.



**Figure 24 : Evolution de quantité de CF au cours du temps pour les concentrations 0,5g/l et 5g/l d'HE**

La même tendance est observé pour les CF, le rendement augmente le plus en plus avec le temps.



**Figure 25 : Evolution des CT cinétiquement pour les concentrations 0,5g/l et 5g/l d'HE**

Une inhibition des coliformes totaux a été constatée après deux heures de traitement de l'eau avec HE du romarin par la concentration de 5g/l estimée de 89 % pour arriver à 96% à 6 h. En ce qui concerne l'eau traitée par la concentration 0,5g/l, nous avons noté un abattement important après 2h d'incubation de 89% suivie d'une diminution à 86% après 6h d'incubation. Ceci serait être expliqué par l'exploitation totale d'HE à les premières deux heures, qui donne une chance à les bactéries non inhibées de se multiplier.

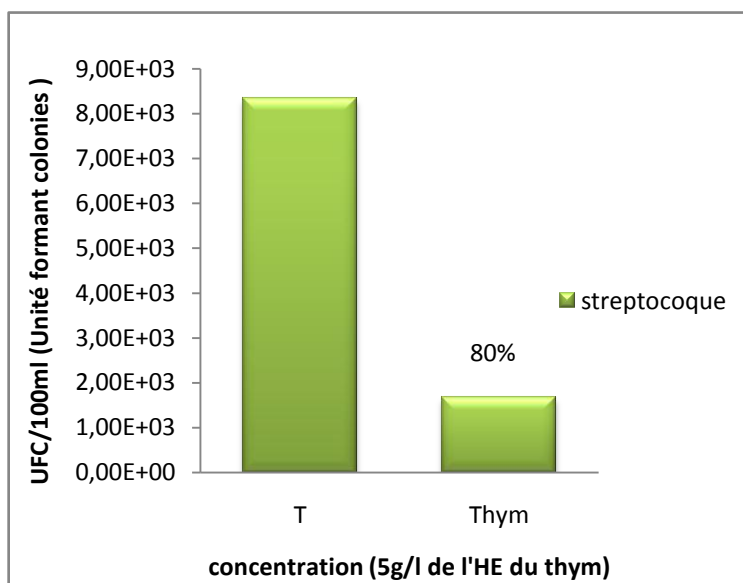
→ Au regard des résultats obtenus dans ce travail, l'HE du romarin révèle une très bonne activité dans la désinfection de l'eau au cours du temps (Inhibition totale des CF et des streptocoques après 6h d'incubation) à la concentration de 5g/l. Cela montre que le temps de contact avec l'HE joue un rôle importante dans l'inhibition, plus le contact entre l'HE et les germes est long plus le taux abattement des bactéries est fort.



L'HE du romarin a approuvé une meilleure performance à la désaffection des eaux usées et le rendre conforme au nom de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour les eaux d'irrigation (annexe 9), mais pour confirmer cette efficacité il faut le comparer avec autres plantes notamment le Thym, qui est connu par sa forte activité bactéricide et bactériostatique ; selon (Ben El Hadj Ali et al, 2015) l'HE du thym présente une source peu coûteuse de substances antibactériennes naturelles destinées à être utilisées dans des systèmes pathogènes pour empêcher la croissance de bactéries.

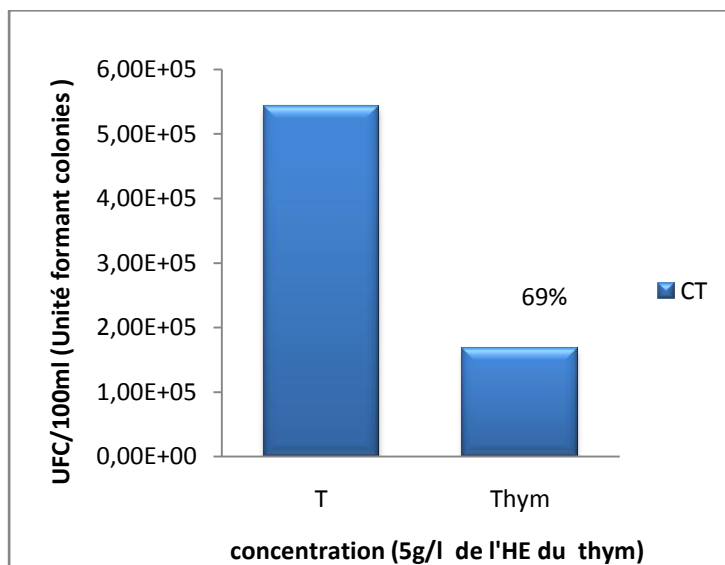
### III. Test de désinfection d'eau usée par le thym (annexe 10)

Les résultats des tests de désinfection de l'eau de fosse septique par le thym afin de le comparer avec le romarin, qui sont repris dans les figures 23, 24, et 25.



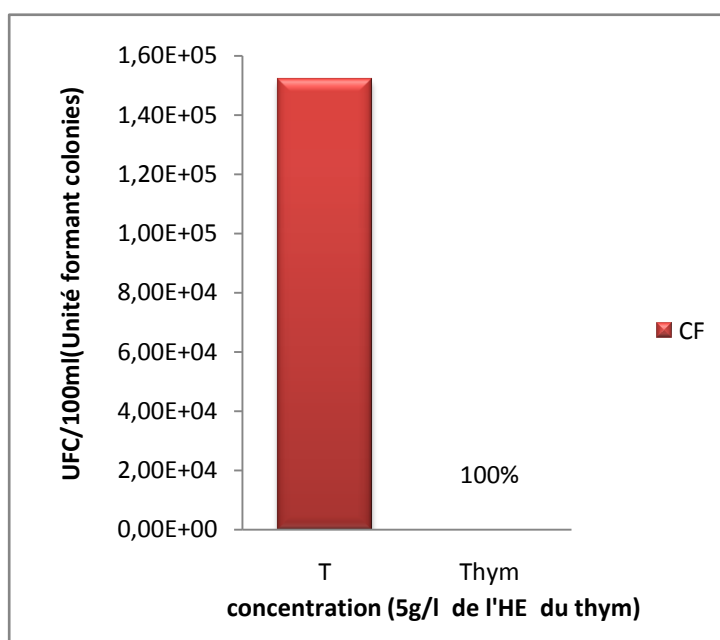
**Figure 26 : Evolution des streptocoques en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym**

La figure 26 indique clairement l'effet inhibiteur significatif d'HE du Thym sur Streptocoques étudiées. L'évolution est marquée par l'élimination d'environ 80% à la concentration de 5g/l.



**Figure 27 : Evolution des CT en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym**

Concernant les CT il y'a une élimination remarquable de la quantité des bactéries dans l'échantillon étudié. Le rendement a atteint 69% pour la concentration 5g/l.



**Figure 28 : Evolution des CF en fonction de la concentration de 5g/l de l'HE du thym**

Une élimination totale des CF à concentration de 5g/l de l'HE du thym

La synthèse des résultats de l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de thym sur les trois types des germes testés a montré une activité antibactérienne plus élevée contre les CF et les streptocoques.

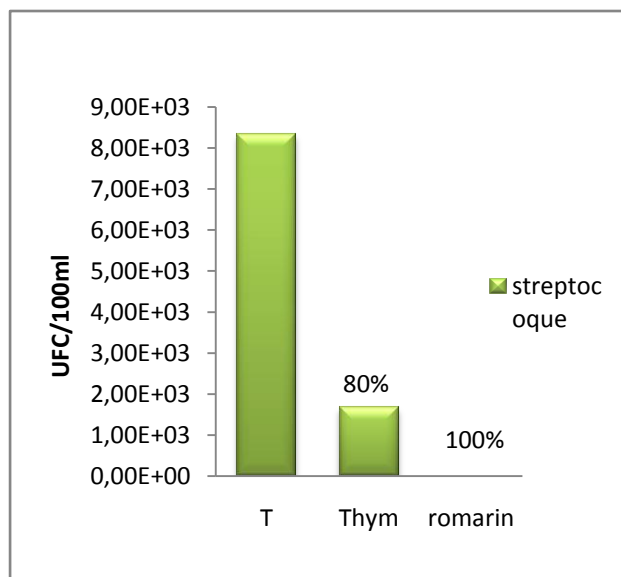


Figure 29

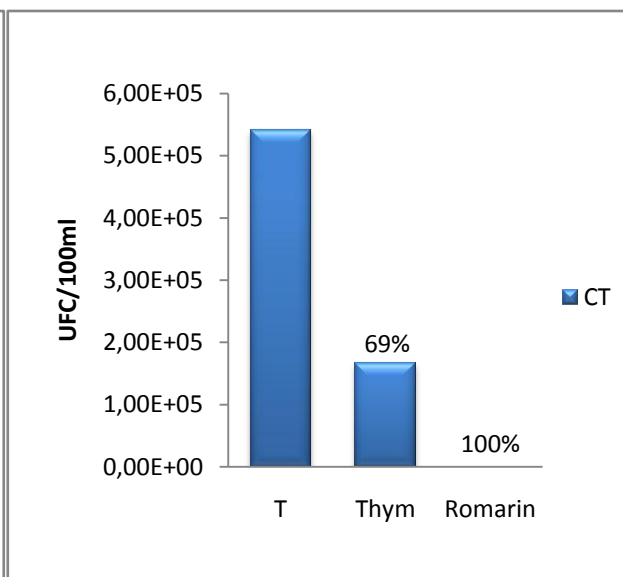


Figure 30

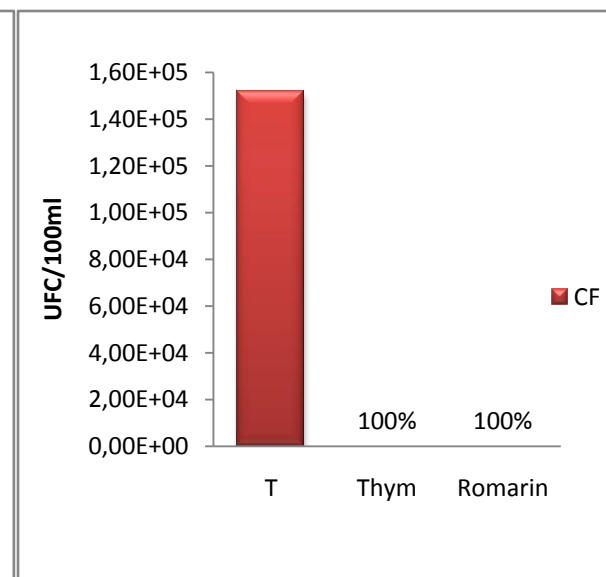


Figure 31

Figure 29, 30 et 31: Evolution d'inhibition des streptocoques, CT et Cf en fonction de thym et romarin

La désinfection de l'eau par l'HE du romarin a montré une très bonne activité antibactérienne d'un rendement de 100% contre tous les bactéries étudiées. D'une autre part le thym présente un effet marquant mais moins important que ce du romarin en Particulier pour les streptocoques et les coliformes totaux (80% pour les streptocoques et 69% pour les CT).

Ceci serait expliqué par la différence de composition chimique entre les deux huiles essentielles et la finité spécifique d'inhibition pour chaque bactérie; le romarin contient 38% de 1,8-cinéol qui est un composé éthanoïque qui agit sur la paroi bactérienne des germes et provoque une augmentation de la perméabilité, puis la perte des constituants cellulaire. Ce qui conduit à l'acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants sa structure, provoquant la destruction du matériels génétique et al mort de la bactérie (TAYEB-CHERIF et al, 2016) alors que la quantité de ce composé se trouve à une quantité très faible au niveau du thym (de <0,01 à 0,02%) (Ben El Hadj Ali et al, 2015).

Les huiles essentielles du thym et du romarin montrent une efficacité antibactérienne satisfaisante au cours du traitement des eaux usées. Mais pour confirmer cette efficacité il faut les comparer avec les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation.

**Tableau 5 : Comparaison des résultats obtenus avec les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation du France**

	Résultat de l'eau de l'entrée traitée par l'HE et l'ED (5g/l)	Résultat de la CMI (7g/l)	Résultat de l'eau de fosse septique (suivie au cours du temps 6h)	Comparaison du thym et romarin		Normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation
				Romarin	Thym	
<b>STR</b>	$10^4$	0	0	0	$1,67 \cdot 10^3$	100
<b>CT</b>	$4,68 \cdot 10^5$	0	$2,14 \cdot 10^4$	0	$1,67 \cdot 10^5$	10000
<b>CF</b>	$3,67 \cdot 10^4$	0	0	0	0	1000

## CONCLUSION

Les expériences préliminaires réalisées aux laboratoires ont montré la faisabilité d'utilisation de l'huile essentielle des plantes aromatiques médicinales pour la désinfection bactériologique des eaux usées. En effet les travaux menés sur les huiles essentielles de Romarin et le Thym ont permis d'aboutir aux résultats suivants :

- l'étude de l'effet inhibiteur des huiles essentielles de Romarin sur les bactéries présent dans les eaux usées de la station de traitement de l'annexe du faculté du droit de Marrakech a montré une inhibition de 94% pour les streptocoques, 97% pour les CF et 99% pour les CT, à la concentration de 5g/L de l'huile essentielle qui représente ...% en volume, alors que une inhibition est total pour les trois bactéries à une concentration de 7g/l qui représente la CMI : Concentration Minimale d'Inhibition.

.- L'HE du Romarin révèle une très bonne activité de la désinfection bactériennes des eaux usées en fonction du temps de séjours en effet une inhibition est totale des CF et des streptocoques après 6h d'incubation à la concentration de 5g/l.

- L'HE du thym présente aussi un effet inhibiteur sur les bactéries persistantes dans les eaux usées pour une concentration de 5g/l avec un effet moins important que ce du Romarin notamment pour les streptocoques et les coliformes totaux (80% pour les streptocoques et 69% pour les CT).

Ces travaux de recherche peuvent être considérés comme un premier travail exploratoire qui ouvre la voie vers des nouvelles applications de l'huile essentielle des plantes aromatiques pour de désinfection de l'eau, ces huiles essentielles étant disponibles au Maroc et avec un prix abordable, peuvent être utilisées dans la désinfection de l'eau comme traitement écologique, naturelle et durable.

## **PERSPECTIVES**

A partir des apports de ce travail, il conviendrait donc d'étudier la faisabilité opérationnelle pour rendre ce traitement à la fois performant et acceptable d'un point de vue économique. Mais au paravent, des études complémentaires seront nécessaires :

- Les résultats de ce travail devront être complétés par de nombreux tests de reproductibilité. L'efficacité des huiles essentielles devra être confirmée par des répétitions d'opérations de désinfection de l'eau avec le même produit, celui-ci étant récupéré et régénéré entre chaque utilisation.
- D'autres dérivées des plantes peuvent être exploitées au traitement d'eaux usées (hydrolat, huile diffusion, plantes entier...)
- D'autres familles de plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires auraient pu être utilisées dans ce travail.
- L'étude de la faisabilité opérationnelle à l'échelle pratique sur le terrain et notamment l'aspect technique et économique à savoir la possibilité d'installer des dispositifs spécialisés de désinfection de l'eau polluée par les huiles essentielles dans les STEP.
- L'étude du montage financier en matière de cout d'investissement, du fonctionnement et de l'entretien.

## **REFERENCES**

- Ait younes O et Azouzi M., (2012) - Valorisation de boues de la station d'épuration de la vie de Marrakech, Mémoire de fin d'étude LST EE, Université Cadi ayyad - Marrakech 75 p..
- Archambaud M., (2009) – méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques *in vitro.*, laboratiore bactériologique – Hygiène., CHU Rangueil Toulouse., 29p..
- Arshiya S., (2010) – rosemary essentiel: uses, oil benefits and precautions, MAG SUSTAINABLE BABY STE
- Aziz F and Farissi M., (2014) - Reuse of treated wastewater in agriculture : solving water deficit problems in arid areas (REVIEW), Annals of West, University of Timișoara., vol XVII (2), .95-110 pp..
- Baumont S., C amard,A ., Lefranc,A . Et Francon.I., (2004) - Réutilisation des eaux usées : risques Sanitaires et faisabilité en Ile-de-France. Rapport ORS, ENSAT – France, 220 p..
- Belletti N., Lanciotti R., Patrignani F.and Gardini F. (2008)- Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. J FoodSciences, V.73, 331-338 pp..
- Benabid A., (2000) - Flore et écosystème du Maroc : évaluation et préservation de la biodiversité, Livre Edit. Ibis Press, 359 p..
- Bencheikh S., (2017) – étude de l'activité des huiles essentielles de la plante *teucrium polium ssp aurasianum l'abiatae*.Thèse doctorat GPE, université kasdi merbah à Ouargala- Algérie, 121p.
- Ben El Hadj Ali I., Chaouachi M., Bahri R., Chaieb I., Boussaid M., et Skhiri H., (2015) - Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss, J. Elsevier, V.77, 631-639 pp..
- Bliefert C et Perraud R., (2001) - Chimie de l'Environnement : air, eau, sols, déchets. Livre, Traduction et adaptation française : De Boeck Université s. a. Paris, France et Bruxelles, Belgique. (Originally published in the German language by Wiley-VCH Verlag GmbH., (1997) 2<sup>ème</sup> édition). Bremness L., (1998) - Les plantes aromatiques et Médicinales. Bordas Editions. 478 p..
- Cragg G. M., Newman D. J. and Snader K. M., (1997) - Natural products in drug discovery and development, J. Natural products, V.60, 52-60 pp.
- CANALBLOG., (2014) – Méthode de production et fabrication des huiles essentielles, magazine électronique.
- Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F.,(1997) - Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse. J. Analisis, V. 25(6).13-16 pp..
- EL Amrani A., (1999) - Les Huiles Essentielles des Romarins du Maroc (*Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus eriocalix*): Rendements, Chimie, Chimio taxonomie, Facteurs influençant le rendement

et la composition chimique des huiles essentielles, Thèse de doctorat, Faculté des sciences Ben M'sik –Casablanca, 156p..

Fabricant D. S. and Farnsworth N. R., (2001) - The value of plants used in traditional medicine for drug discovery, *J. Environmental Health Perspectives*, V.109, 69–75pp..

Lambert R. J. W and Skandamis P. N., (2001) - A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, *J. Appl Microbiol*, V. 91(3), 453-462pp..

Lardry J.M and Haberkorn V., (2007) - L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, V.7, 14-17pp..

Meierhofer R., and Wegelin M., (2002) - Solar Water Disinfection: A guide for the application of Sodis. SANDEC and EAWAG Report 06/02, 56p..

Mounir F., Lamrani Alaoui M. et Benabid A., (2015) - Etude relative à l'élaboration du plan d'action pour la conservation la gestion durable et la valorisation des plantes aromatiques et médicinales spontanées du Maroc., *J. Phytothérapie*, V.15, 114-122pp..

Nogaret-Ehrhart A-S., (2008) - La phytothérapie : se soigner par les plantes. Livre Ed. Eyrolles pratique - Paris, 192pp..

Ody P., (1995) - Les Planes Médicinales, Encyclopédie pratique. Livre, Edi Sélection du Reader's Diget. 192p..

Praveen P., Heng J.Y.P.and Loh K.C., (2016) - Traitement tertiaire des eaux usées dans un photobioréacteur à membranes utilisant des micro-algues: Comparaison de l'osmose directe et de la microfiltration. *Bioresource Technology*, V. 222, 448-457pp..

RADEEMA., (2011) - Marrakech Incinération. Document d'étude préliminaire, p. 27.

Rakholiya K.D., Mital J.K., Sumitra V.C., (2013)- Medicinal Plants as Alternative Sources of Therapeutics against Multidrug-Resistant Pathogenic Microorganisms Based on Their Antimicrobial Potential and Synergistic Properties, *J. Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and their Components*, 165–179pp..

Ramade F., (2000)- Dictionnaire encyclopédique des pollutions, Livre Ed. Edisciencein temational -Paris, 690p..

Safaei-Ghomi J., and Ahd A.A., (2010)- Antimicrobial and antifungal properties of the essential oilAnd methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*, *Pharmacogn Mag*, 172-175 pp..

Saltan Çitoglu G. and Altanlar N., (2003) - Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine, Thèse doctorat, Fac, Pharm, Université ankara- Turkey, 159-163pp..

SANA, (2016) – fabrication de l'huile de menthe : hydro-distillation, *Overblog Mag*.

Schmidt A., (1981) – Hydro-diffusion SA, brevet suis.

Sunda M.T., (2012) – Contribution à la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits des plantes, Thèse Doctorat, Université de liège- Burkina Faso, 161p..



Tayb-cherif Y et Menacer I., (2016) – L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Romarinus officinalis* et d'*Origanum vulgare* sur la bactérie *E.coli*, Mém de Master GM, Fac des sciences de la nature et de la vie. Université frères Mentouri à Constantine 1- Algérie, 34p..

Vandermeersch S., (2006) - Etude comparative d'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des microorganismes pathogènes, Mémoire de fin d'étude, IGEAT Université libre de Bruxelles, 81p..

Walsh S.E., and Maillard J.Y., (2003) - Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and negative bacteria, *J.Appl Microbiol*, V. 94(2), 240-247pp..

Wegrzyn R., et Lamendinh k., (2005) - Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Chir. Dent. France*, Academic press, 62-66pp.

Zidan k., (2014) - Extraction des huiles essentielles des PAM par distillation solaire, Mémoire de Master Faculté des sciences semlalia, Université cadi ayyad- Marrakech, 65p.

## ANNEXES

**Tableau 6 : Résultats des eaux polluées d'Entrée après traitement par HE+Ethanol**

	dilution	BEA		TERGITOL				N (BEA) UFC/100ml	N (CF 44°) UFC/100ml	N (CT 37°) UFC/100ml
		Streptocoques		CF 44°		CT 37°				
<b>5g/l</b>	-1	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-2	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
<b>0,5g/l</b>	-1	2	2	76	89	28	35	2,00E+04	8,25E+05	3,15E+05
	-2	1	0	26	33	1	2	5,00E+04	2,95E+06	1,50E+05
	-3	0	0	5	3	0	0	0,00E+00	4,00E+06	0,00E+00
<b>0,25g/l</b>	-1	10	10	41	46	33	24	1,00E+05	4,35E+05	2,85E+06
	-2	1	2	30	73	6	4	1,50E+05	5,15E+06	5,00E+05
	-3	1	0	2	2	0	2	5,00E+05	2,00E+06	1,00E+05
<b>0,1g/l</b>	-1	7	7	216	206	45	55	7,00E+04	2,11E+06	5,00E+06
	-2	0	1	22	34	4	0	5,00E+04	2,80E+06	2,00E+05
	-3	0	0	1	3	3	2	0,00E+00	2,00E+06	2,50E+05
<b>T(ET)</b>	-1	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-2	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

**Tableau 7 : Résultats de traitement d'eau d'Entrée par HE+ED**

	dilution	Streptocoques		CT 37°		CF 44°		N(BEA) (UFC/100ml)	N (CT37°) (UFC/100ml)	N (CF44°) (UFC/100ml)
<b>5g/l</b>	-1	3	3	13	18	7	5	3,00E+04	1,55E+05	6,00E+04
	-2	0	0	3	2	0	1	0,00E+00	2,50E+05	5,00E+04
	-3	0	0	1	1	0	0	0,00E+00	1,00E+06	0,00E+00
<b>0,5g/l</b>	-1	4	2	106	90	2	3	3,00E+04	9,80E+05	2,50E+04
	-2	0	0	29	39	0	2	0,00E+00	3,40E+07	1,00E+05
	-3	0	0	4	4	1	0	0,00E+00	4,00E+06	5,00E+05
<b>0,25g/l</b>	-1	8	4	45	60	10	6	6,00E+04	5,25E+05	8,00E+04
	-2	2	1	31	28	2	1	1,50E+05	2,95E+06	1,50E+05
	-3	0	0	3	5	1	0	0,00E+00	4,00E+06	5,00E+05
<b>0,1g/l</b>	-1	9	9	63	120	8	16	9,00E+04	9,15E+05	1,20E+05
	-2	2	1	40	194	3	5	1,50E+05	1,17E+07	4,00E+05
	-3	0	0	6	33	1	0	0,00E+00	1,95E+07	5,00E+05
<b>T(EU)</b>	-1	13	19	IC	IC	40	60	1,60E+05	#DIV/0!	5,00E+05
	-2	1	1	48	IC	12	11	0,00E+00	4,80E+06	1,15E+06
	-3	0	0	2	0	3	2	0,00E+00	1,00E+06	2,50E+06

**Tableau 8 : Résultats se traitement d'eau usée de fosse septique en fonction de temps**

Temps	Concentration	Dilution	BEA		Tegitol				UFC(BEA)/100ml	UFC(CT)/100ml	UFC(CF)/100ml
					CT		CF				
2h	5	-1	2	0	7	8	1	2	1,00E+04	7,50E+04	1,50E+04
		-2	0	0	0	2	0	0	0,00E+00	1,00E+05	0,00E+00
		-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	0,5	-1	3	2	7	14	0	5	2,50E+04	1,05E+05	2,50E+04
		-2	1	0	0	1	0	0	5,00E+04	5,00E+04	0,00E+00
		-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	T	-1	5	7	33	40	5	6	6,00E+04	3,65E+05	5,50E+04
		-2	2	0	2	5	0	0	1,00E+05	3,50E+05	0,00E+00
		-3	0	0	2	1	0	0	0,00E+00	1,50E+06	0,00E+00
4H	5	-1	0	0	11	12	0	4	0,00E+00	1,15E+05	2,00E+06
		-2	0	0	0	2	0	0	0,00E+00	1,00E+05	0,00E+00
		-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	0,5	-1	0	0	21	16	1	0	0,00E+00	1,85E+05	5,00E+03
		-2	0	0	6	28	0	0	0,00E+00	1,70E+05	0,00E+00
		-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	T	-1	2	6	21	30	3	2	4,00E+04	2,55E+05	2,50E+04
		-2	1	0	3	6	1	0	5,00E+04	4,50E+05	5,00E+04
	6H	5	-1	0	0	6	7	0	0	0,00E+00	6,50E+04
-2			0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
-3			0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
0,5		-1	0	0	19	28	0	0	0,00E+00	2,35E+05	0,00E+00
		-2	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
		-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
T		-1	0	0	16	18	2	0	0,00E+00	1,70E+05	1,00E+04
		-2	0	0	4	5	0	0	0,00E+00	4,50E+05	0,00E+00

**Tableau 9 : Résultats de traitement de l'eau de fosse septique par le thym et romarin**

	Dilution	BEA		Tegitol				UFC (BEA)/100ml	UFC (CT)/100ml	UFC(CF)/100ml
				CT		CF				
ROMARIN	-1	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-2	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
	-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
THYM	-1	1	0	15	5	0	0	5,00E+03	1,00E+05	0,00E+00
	-2	0	0	5	3	0	0	0,00E+00	4,00E+05	0,00E+00
	-3	0	0	0	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
T	-1	1	4	35	60	15	6	2,50E+04	4,75E+05	1,05E+05
	-2	0	0	3	10	3	4	0,00E+00	6,50E+05	3,50E+05
	-3	0	0	0	1	0	0	0,00E+00	5,00E+05	0,00E+00

**Tableau 10 : Recommandation de OMS concernant les concentrations en pathogènes dans les eaux d'irrigation**

Bactéries	Valeurs Recommandées (UFC/100ML)
Streptocoques	100
Coliformes totaux	10.000
Coliformes fécaux	2.000

**Tableau 11 : Composition chimique de l'huile essentielle de 3 types du thym**

Composants	IK	Tz	Ta	Tb
$\alpha$ -Thujène	921	0,8	0.84	0.57
$\alpha$ -Pinène	928	0,4	0.75	0.51
Camphène	943		1.08	0.69
Sabinène	971		0.17	0.15
1-Octène-3-ol	978	0,1	0.72	-
$\beta$ -Pinène	980	0,3	0.23	-
$\beta$ -Myrcène	986	T	0.26	1.14
Myrcène	991	2,1	-	-
$\delta$ -2-Carène;	1001	-	0.14	-
$\alpha$ -Phellandrène	1005	0,3	-	-
$\delta$ -3-Carène	1012	T	1.07	0.91
$\alpha$ -Terpinène	1019	2,8	15.13	13.19
p-Cymène	1026	12,1	0.57	0.44
Limonène	1031	0,5	-	-
1,8-Cinéole	1033	T	-	-
E- $\beta$ -Ocymène	1052	0,1	11.72	10.43
$\gamma$ -Terpinène	1062	29,7	0.80	1.04
Oxyde de cis-linalol	1074	0,3	-	-
Terpinolène	1088	0,1	-	-
Linalol	1093	1,5	6.13	4.54
Camphre	1140	-	0.25	-
Bornéol	1165	0,1	5.76	4.67
Terpin-4-ol	1177	0,3	0.59	0.59
$\alpha$ -Terpinéol	1189	0,1	0.18	-
trans-Carvéol	1202	0,2	-	-
Carvéol	1223	-	1.75	-
Thymoquinone	1250	-	1.73	-
Géranial	1269	-	0.91	-
Acétate de Bornyl	1287	T	-	-
Thymol	1290	37,5	37.78	55.90
Carvacrol	1298	6,5	8.17	2.71
E-Caryophyllène	1418	3,2	1.38	1.35
Aromadendrène	1439	0,2	-	-
$\alpha$ -Humulène	1454	0,2	-	-
$\delta$ -Cardinène	1524	T	-	-
Oxyde de caryophyllène	1581	0,2	0.54	0,62
		<b>99,45 %</b>	<b>99,3 %</b>	<b>98.1 %</b>

IK : Indice de Kovalts ; Tz : *T. zygis* ; Ta : *T. algeriensis* ; Tb : *T. bleicherianus*