



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 33258 B1** (51) Cl. internationale : **B09C 1/00; B09C 1/10**
- (43) Date de publication : **02.05.2012**

(21) N° Dépôt : **34330**

(22) Date de Dépôt : **04.11.2011**

(30) Données de Priorité : **12.05.2009 EP 09305421.1**

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/EP2010/056449 11.05.2010**

(71) Demandeur(s) :

- **CENTRE NATIONAL DE L'ENERGIE, DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES NUCLEAIRES (CNESTEN), Avenue des FAR Hay Ryad B.P. 1382 R.P Rabat (MA)**
- **INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DÉVELOPPEMENT (IRD), Immeuble le Sextant 44 Bd Dunkerque CS90009 F-13002 Marseille 2 (FR)**
- **UNIVERSITÉ MOHAMMED V - AGDAL - MAROC (FACULTÉ DES SCIENCES DE RABAT), Avenue des Nations- Unies Agdal B.P. 554 Rabat-Chellah (MA)**
- **UNIVERSITÉ ABDELMALEK ESSAÂDI (FACULTÉ DES SCIENCES DE TÉTOUAN), Rue Moulay El Hassan 1 B.P. 211 Martil (MA)**

(72) Inventeur(s) : **LAPLAZE, Laurent ; DOUMAS, Patrick ; SMOUNI, Abdelaziz ; BRHADA, Fatiha ; ATER, Mohamed**

(74) Mandataire : **CABINET CHARDY**

(54) Titre : **UTILISATION DE CISTUS LIBANOTIS POUR NETTOYER DES SOLS CONTENANT DES MÉTAUX LOURDS**

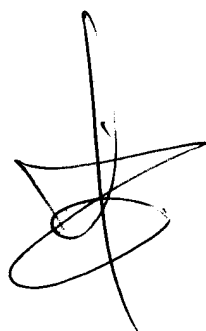
(57) Abrégé : **LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE L'UTILISATION DE CISTUS LIBANOTIS POUR UNE PHYTOREMÉDIATION DE PLOMB ET DÉCRIT DES PROCÉDÉS DE PHYTOREMÉDIATION DE MILIEUX CONTAMINÉS TELS QUE DES SOLS CONTAMINÉS PAR DU PLOMB.**

Utilisation de *Cistus libanotis* pour la décontamination de sols contenant des métaux lourds

Abrégé

5 La présente invention concerne l'utilisation de *Cistus libanotis* pour la phytoremédiation du plomb et concerne des procédés de phytoremédiation de milieux contaminés tels que des sols contaminés par du plomb.

(N. 34330)



BEZIENE AL DEANER FACULTÉ
EXPLICATA UNIVERSITATEA E CAROLINA
RABAT, CA. A. 2012

02 MAI 2012

Utilisation de *Cistus libanotis* pour la décontamination de sols contenant des métaux lourds

Demandes associées

La présente demande revendique la priorité sur la demande de brevet européen n° EP 09 305 421.1 déposée le 12 mai 2009. La demande de brevet européen est
5 présentement incorporée en référence dans son intégralité.

Contexte de l'invention

Bien que cela ne soit pas un nouveau phénomène, la pollution a augmenté en termes d'amplitude au cours du temps et est devenue un réel problème en raison de
10 ses effets sur l'environnement et des risques potentiels pour la santé humaine.

La pollution par des ions métalliques toxiques est peut-être un des problèmes environnementaux les plus difficiles, étant donné que, contrairement aux composés organiques, qui peuvent être dégradés dans le sol, les métaux sont pratiquement non transformables. Les sources de métaux dans l'environnement proviennent à la fois de
15 processus géochimiques naturels et d'activités humaines (telles que l'industrie de la fonderie de métaux, les résidus d'exploitation de minerais métallifères, la combustion de combustibles fossiles, l'utilisation agricole de pesticides, d'engrais et de boues d'épuration). Les métaux lourds, tels que le cadmium, le chrome, le cuivre, le plomb, l'arsenic, le mercure, le nickel et le zinc, ont atteint des niveaux toxiques dans l'air, la
20 terre et l'eau dans de nombreuses régions du monde. De plus, le vent et/ou la pluie peuvent parfois disperser les contaminants métalliques à des distances élevées de leurs points d'utilisation, de production ou d'élimination, ce qui augmente significativement la possibilité de mise en danger de la vie sauvage et des écosystèmes non affectés initialement. La contamination du sol par des métaux lourds est par conséquent un
25 problème mondial important. En particulier, le plomb est un des métaux lourds contaminants les plus nocifs. Le plomb est largement utilisé dans le domaine industriel et son extraction et son traitement produisent des résidus contenant des métaux lourds, qui ne sont généralement pas éliminés. Ces déchets ont augmenté la concentration de métaux toxiques dans l'environnement et sont responsables de
30 problèmes sanitaires et environnementaux.

Des stratégies d'épuration des sols qui ont été développées et sont actuellement utilisées mettent en œuvre des pratiques de génie civil telles que le recouvrement,

l'excavation, le lavage des sols, le traitement thermique, et le traitement chimique. Ces procédés sont généralement très coûteux et invasifs, détruisant la structure, la fertilité et la productivité des sols. Le développement d'autres technologies de remédiation économiquement viables est donc intéressant.

5 Ces dernières années, des procédés de phytoremédiation ont été développés. Ces procédés utilisent le fait que les plantes requièrent au moins 17 éléments pour compléter leurs cycles de vie, comprenant les métaux lourds cuivre (Cu), zinc (Zn), et nickel (Ni) ; et accumulent des métaux non essentiels, tel que le plomb (Pb), lorsque ceux-ci sont présents dans l'environnement. Par conséquent, la phytoremédiation met
10 en œuvre l'élimination de métaux lourds depuis l'environnement en cultivant une plante qui absorbe et accumule les métaux lourds présents dans le sol et ensuite en récoltant et en éliminant la plante.

Il existe au moins 400 plantes hyperaccumulatrices de métaux connues dans le monde ; cependant, seul un nombre limité de celles-ci sont hyperaccumulatrices de
15 plomb. Par exemple, les plantes suivantes sont connues pour leur utilisation dans la phytoextraction de plomb : *Brassica juncea*, *Brassica napus*, *Helianthus annuus*, *Thlaspi caerulescens* et *Fagopyrum esculentum*. Le brevet U.S. n° 5 364 451 décrit l'utilisation de plantes de la famille Brassicaceae dans un procédé pour éliminer des ions métalliques tels que le plomb et le chrome dans les sols. Tamura *et al.* (J. Plant
20 Res., 2005, 118: 355-359) ont décrit l'utilisation de *Fagopyrum esculentum* pour la phytoremédiation du plomb.

Cependant, certaines plantes hyperaccumulatrices de plomb, telles que *Thlaspi rotundifolium*, ont une faible biomasse et un taux de croissance lent, ce qui les rend
25 inadaptées pour la phytoremédiation. De plus, des plantes telles que Brassicaceae sont des plantes annuelles et présentent donc l'inconvénient de nécessiter des cycles répétés de plantation et de collecte de plantes entières afin de décontaminer totalement la même surface de terrain.

Par conséquent, il existe un besoin dans l'art d'un autre procédé amélioré pour la phytoremédiation spécifique du plomb.

30

Résumé de l'invention

Les inventeurs ont découvert que *Cistus libanotis*, une des espèces du genre (*Cistus*) de plantes à fleurs dans la famille des cistes de crête *Cistaceae*, a une capacité

élevée à accumuler spécifiquement le plomb. De plus, *Cistus libanotis* présente l'avantage important d'être pérenne.

Par conséquent, un objet de l'invention est l'utilisation de *Cistus libanotis* pour la phytoremédiation de plomb.

5 Dans un mode de réalisation, *Cistus libanotis* est utilisé pour la phytoextraction du plomb.

Dans un autre mode de réalisation, *Cistus libanotis* est utilisé pour la phytostabilisation du plomb.

Un autre mode de réalisation est un procédé de phytoremédiation comprenant
10 l'absorption d'un métal lourd contenu dans un milieu contaminé (par exemple un sol contaminé) en utilisant une plante hyperaccumulatrice de métaux pour nettoyer le milieu, où le métal lourd est le plomb et la plante hyperaccumulatrice de métaux est *Cistus libanotis*.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le milieu contaminé est un sol
15 contaminé et la teneur en plomb dans le sol contenant des métaux lourds est supérieure à 50 mg/kg.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la plante *Cistus libanotis* dans laquelle du plomb est accumulé est collectée et incinérée.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, les cendres obtenues par
20 incinération de ladite plante sont traitées par vitrification avec un arc à plasma.

La présente invention concerne en outre un procédé de phytoremédiation comprenant une étape de : culture d'une plante *Cistus libanotis* dans un milieu contaminé contenant une quantité excessive de plomb dans des conditions dans lesquelles la plante accumule du plomb, de telle manière que la teneur en plomb du
25 milieu soit diminuée. Dans certains modes de réalisation, le milieu contaminé est un sol contaminé et la teneur en plomb du sol contaminé est supérieure à 50 mg/kg.

Dans certains modes de réalisation, la plante *Cistus libanotis* est cultivée à partir d'une graine, qui, avant germination, a été incubée dans l'eau à 100 °C pendant 1 heure avec agitation occasionnelle. Ce traitement à température élevée augmente
30 significativement la germination.

Dans certains modes de réalisation, le procédé de phytoremédiation comprend en outre une étape d'ajout d'un agent chélateur biodégradable au milieu contaminé dans lequel la plante *Cistus libanotis* est cultivée. L'agent chélateur biodégradable peut être choisi dans le groupe constitué du diacétate de méthylglycine (MGDA), de l'acide éthylènesuccinique (EDTS), du diacétate d'acide L-glutamique (GLDA), du diacétate d'acide L-aspartique (ASDA), un sel quelconque de ceux-ci, et un mélange quelconque de ceux-ci.

Dans certains modes de réalisation, le procédé de phytoremédiation comprend en outre une étape de collecte de la plante *Cistus libanotis* qui a accumulé du plomb. De préférence, au moment de la collecte, la plante *Cistus libanotis* a accumulé une concentration de plomb d'au moins 1000 mg/kg.

Dans certains modes de réalisation, le procédé de phytoremédiation comprend en outre les étapes consistant à : incinérer la plante *Cistus libanotis* récoltée de manière à obtenir des cendres contenant du plomb ; et traiter les cendres obtenues. Par exemple, les cendres obtenues peuvent être traitées par vitrification avec un arc à plasma afin de rendre le plomb inerte.

Ces objets, avantages et caractéristiques et d'autres de la présente invention apparaîtront plus clairement à l'homme du métier à la lecture de la description détaillée faite ci-après des modes de réalisation préférés.

20 **Brève description du dessin**

La **figure 1** est un graphique représentant l'effet de la température sur la germination de *Cistus libanotis*. Avant la germination, les graines sont incubées dans de l'eau pendant 1 heure à différentes températures (25 °C, 50 °C ou 100 °C), comme décrit dans l'exemple 3. Les données sont des moyennes \pm écart type ($n > 100$ pour chaque traitement). Cet essai est répété plusieurs fois et donne des résultats similaires.

Description détaillée de certains modes de réalisation préférés

Comme mentionné ci-dessus, la présente invention concerne des systèmes et des stratégies améliorés pour la phytoremédiation de sols. Plus spécifiquement, l'invention concerne l'utilisation de *Cistus libanotis* pour la phytoremédiation du plomb.

Cistus libanotis

Cistus (*Cistaceae*) est un des genres les plus caractéristiques de la flore méditerranéenne. L'adaptation du genre aux environnements méditerranéens est évident à partir de caractéristiques écologiques telles que la germination des graines dépendantes des incendies (Roy et Sonié, *J. Appl. Ecol.*, 1992, 29: 647-655 ; Trabaud et Renard, *Israel J. Plant Sci.*, 1999, 47: 1-9), la pollinisation dépendante des insectes (Talavera *et al.*, *Plant Syst. Evol.*, 1993, 186: 123-134), la reproduction dépendante des fleurs (Herrera, *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 1987, 74: 69-78) et la phénologie dépendante du printemps (Herrera, *Vegetatio*, 1986, 68, 91-98). Par conséquent, *Cistus libanotis* est bien adaptée aux climats secs.

Cistus libanotis présente plusieurs avantages : c'est une plante pérenne, qui, par conséquent, ne requiert pas d'être plantée chaque année. De plus, *Cistus libanotis* croît rapidement, même lorsqu'elle est cultivée dans un sol non productif. De plus, un grand avantage de l'utilisation de *Cistus libanotis* dans des processus de phytoremédiation est qu'elle a peu de chance d'entrer dans la chaîne alimentaire étant donné que la plante n'est généralement pas ingérée par les animaux.

Phytoremédiation

Dans le présent contexte, le terme « phytoremédiation » désigne le traitement de problèmes environnementaux par l'utilisation de plantes. La phytoremédiation consiste à décontaminer les sols contaminés, l'eau ou l'air avec des plantes capables de contenir, dégrader ou éliminer des métaux, des pesticides, des solvants, des explosifs, du pétrole brut et ses dérivés, et différents autres contaminants, des milieux qui les contiennent.

Différents procédés de phytoremédiation sont connus dans l'art : phytoextraction, phytostabilisation, phytotransformation, phytostabilisation, phytovolatilisation et rhizofiltration.

La phytoextraction désigne un processus dans lequel la plante absorbe des contaminants par l'intermédiaire du système racinaire et stocke ces contaminants dans la biomasse des racines et/ou transporte ceux-ci dans les tiges et/ou feuilles. La phytostabilisation désigne un processus dans lequel la plante est utilisée pour séquestrer des contaminants de sorte que les polluants deviennent moins disponibles et que l'exposition du bétail, de la nature et des humains soit réduite. La

phytotransformation désigne un processus dans lequel le contaminant est modifié par le métabolisme de la plante ce qui rend le polluant moins ou non toxique. La phytostimulation désigne un processus dans lequel l'activité microbienne du sol est stimulée pour la dégradation de contaminants. La phytovolatilisation désigne un processus dans lequel les substances toxiques sont éliminées du sol ou de l'eau et libérées dans l'air. La rhizofiltration désigne un processus dans lequel l'eau est filtrée à travers une masse de racines afin d'éliminer les substances toxiques.

Le succès de la phytoremédiation, en général, dépend de plusieurs facteurs. Premièrement, la plante doit produire une biomasse suffisante tout en accumulant des concentrations élevées de métaux. Deuxièmement, les plantes accumulant des métaux doivent être compatibles avec des pratiques agricoles qui permettent la plantation et la récolte du tissu riche en métal.

Par conséquent, il apparaît que *Cistus libanotis* présente la capacité potentielle à être utilisée en phytoremédiation, en particulier dans des procédures de phytostabilisation et est capable de réduire les risques de mobilité de métal et de diminuer la dégradation environnementale consécutive. L'utilisation de *Cistus libanotis* dans le nettoyage de sols contenant des métaux lourds présente par conséquent un avantage économique et environnemental conséquent.

Utilisation de *Cistus libanotis* dans la phytoremédiation

Un objet de l'invention est l'utilisation de *Cistus libanotis* pour la phytoremédiation du plomb.

Dans un mode de réalisation de l'invention, *Cistus libanotis* est utilisée pour la phytoextraction de plomb.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, *Cistus libanotis* est utilisée pour la phytostabilisation du plomb. Ce mode de réalisation est d'un grand intérêt étant donné qu'il inhibe la volatilisation des particules de plomb et réduit la dissémination du plomb par le vent et l'eau de manière à prévenir l'exposition des animaux et des humains au plomb.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, *Cistus libanotis* est utilisée pour la rhizofiltration du plomb.

Procédés de Phytoremédiation utilisant *Cistus libanotis*

L'invention concerne en outre un procédé pour éliminer le plomb de sols contaminés en utilisant *Cistus libanotis*.

Dans le présent contexte, le terme « sols contaminés » désigne un sol dans lequel du plomb est présent au-delà d'une valeur standard environnementale prescrite par une réglementation ou par une législation et dépassant une valeur considérée comme ayant un effet négatif sur la santé humaine. Par conséquent, dans certains modes de réalisation, le terme sols contaminés par le plomb désigne des sols comprenant plus de 50 mg/kg de plomb. La concentration de plomb dans un échantillon de sol peut être déterminée par un procédé adapté quelconque. Généralement, la concentration de plomb est déterminée par des techniques physico-chimiques telles que la spectrométrie de masse.

Des sols contaminés auxquels l'invention peut être appliquées comprennent un sol quelconque dans lequel une plante peut être cultivée tel que des terrains industriels, des terrains agricoles, des terrains résidentiels, et des sols naturels tels que des montagnes, des forêts et similaire, mais également un milieu quelconque dans lequel une plante peut être cultivée par un traitement adapté tel que du lisier, des boues et similaire.

En particulier, un autre objet de l'invention est un procédé de phytoremédiation comprenant l'absorption d'un métal lourd contenu dans un sol contaminé en utilisant une plante hyperaccumulatrice de métaux pour nettoyer le sol, où le métal lourd est le plomb et la plante hyperaccumulatrice de métaux est *Cistus libanotis*.

Dans certains modes de réalisation, un procédé de phytoremédiation de l'invention comprend une étape de : culture d'une plante *Cistus libanotis* dans un milieu contaminé contenant une quantité excessive de plomb dans des conditions dans lesquelles la plante accumule du plomb, de telle manière que la teneur en plomb du milieu soit diminuée. Le milieu contaminé peut être un sol contaminé (comme décrit ci-dessus), de l'eau contaminée, et un milieu quelconque dans lequel une plante peut être cultivée. Dans certains modes de réalisation préférés, le milieu contaminé est un sol contaminé.

Dans la pratique de la présente invention, la plante *Cistus libanotis* peut être semée directement dans le sol contaminé ou, en variante, elle peut être semée et

germée à un autre emplacement et ensuite plantée, sous forme de plantule, dans le sol contaminé.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, le procédé de phytoremédiation comprend en outre une étape de : récolte de la plante *Cistus libanotis* qui a accumulé du plomb. Par exemple, la plante *Cistus libanotis* peut être récoltée tous les 3 à 5 ans.

La concentration d'arrière-plan de plomb dans *Cistus libanotis* est d'environ 10 mg/kg. Généralement, au moment de la récolte, la concentration de plomb accumulé dans la plante *Cistus libanotis* est supérieure à la concentration d'arrière-plan. De préférence, au moment de la récolte, la concentration de plomb accumulé dans la plante *Cistus libanotis* est au moins la concentration d'hyperaccumulation de plomb. Une plante est dite être hyperaccumulatrice si elle peut concentrer un polluant à un pourcentage minimal qui varie en fonction du polluant concerné. Dans le cas du plomb, la concentration d'hyperaccumulation est de 1000 mg/kg de poids sec. Par conséquent, dans des modes de réalisation préférés, au moment de la récolte, la concentration de plomb accumulé dans la plante *Cistus libanotis* est d'au moins 1000 mg/kg.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, le procédé de phytoremédiation comprend en outre une étape de : traitement de la plante *Cistus libanotis* récoltée. L'étape de traitement de *Cistus libanotis* peut comprendre : l'incinération de la plante *Cistus libanotis* récoltée pour obtenir des cendres contenant du plomb, et l'exécution d'un post-traitement des cendres. Le post-traitement de ces cendres peut être effectué par vitrification avec un arc à plasma, comme décrit dans le brevet U.S. n° 6 532 768, qui décrit un procédé conçu pour rendre inerte par vitrification un type quelconque de déchet ou résidu solide contenant, par exemple des métaux lourds, tels que le plomb, qui doivent être détruits, transformés ou piégés pour recyclage ou stockage. Par conséquent, dans certains modes de réalisation préférés, le post-traitement des cendres contenant du plomb est effectué pour détruire, transformer ou piéger le plomb contenu dans les cendres de manière à permettre le stockage ou le recyclage du plomb.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, le procédé de phytoremédiation comprend en outre une étape consistant à : ajouter un agent

chélateur biodégradable au milieu contaminé (par exemple, un sol contaminé) pendant l'étape de culture de la plante *Cistus libanotis*. L'agent chélateur biodégradable est généralement ajouté afin d'améliorer l'absorption de plomb par *Cistus libanotis*.

Des exemples d'un tel agent chélateur biodégradable comprennent, mais ne sont pas limités à, le diacétate de méthylglycine (MGDA), l'acide éthylènesuccinique (EDTS), le diacétate d'acide L-glutamique (GLDA), le diacétate d'acide L-aspartique (ASDA), un sel adapté quelconque de celui-ci, et un mélange quelconque de ceux-ci. Par contre, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) n'est pas un agent chélateur adapté pour utilisation dans la pratique de la présente invention. En effet, étant donné que l'EDTA, qui est connu pour avoir une capacité élevée de dissolution du plomb, est non dégradable, il resterait dans un sol et pourrait causer une contamination environnementale secondaire.

La quantité d'agent chélateur biodégradable à ajouter au sol contaminé peut être différente suivant la concentration de métaux lourds dans le sol, la nature du sol, les types d'agent chélateur biodégradable utilisés, la capacité de l'agent chélateur biodégradable à dissoudre les métaux lourds dans un sol, et le type de procédé d'ajout utilisé ainsi que la temporisation de l'ajout d'agent chélateur biodégradable. L'homme du métier saura comment déterminer la quantité adaptée à ajouter sur la base des facteurs ci-dessus. En général, la quantité d'agent chélateur biodégradable variera de 0,01 à 100 mmoles/kg.

L'agent chélateur biodégradable peut être ajouté au sol contaminé (ou plus généralement au milieu contaminé) par un procédé adapté quelconque connu dans l'art. Dans certains modes de réalisation, l'agent chélateur biodégradable peut être ajouté par un procédé de pulvérisation ou d'épandage de granules, de poudre ou d'une solution aqueuse de l'agent chélateur directement sur le sol. Cependant, dans certains modes de réalisation, par exemple lorsque la concentration de la solution aqueuse d'agent chélateur biodégradable est élevée, la solution aqueuse peut être ajoutée au sol contaminé par un procédé qui évite le contact direct de l'agent chélateur avec la plante *Cistus libanotis*.

L'agent chélateur biodégradable peut être ajouté au sol contaminé avant que la plante *Cistus libanotis* soit introduite dans le sol contaminé (c'est-à-dire, avant qu'elle soit semée ou plantée) et/ou il peut être ajouté à un temps prédéterminé après

l'introduction de la plante *Cistus libanotis*. Dans certains modes de réalisation, la quantité d'agent chélateur biodégradable ajoutée peut être choisie de sorte que l'agent chélateur soit présent dans un sol uniquement pendant une durée prédéterminée avant que la plante *Cistus libanotis* soit récoltée.

5

Exemples

Les exemples suivants décrivent certains modes préférés de réalisation et de mise en pratique de la présente invention. Cependant, il doit être entendu que les exemples sont présentés à des fins d'illustration uniquement et ne sont pas destinés à limiter la portée de l'invention. De plus, sauf si la description dans un exemple est présentée au passé, le texte, comme le reste de la spécification, n'est pas destiné à suggérer que des essais ont été effectivement conduits ou que des données ont été effectivement obtenues.

Exemple 1 : mesures sur site

Afin d'identifier des plantes tolérantes au plomb, les présents inventeurs ont étudié des espèces de plante cultivées sur deux sites miniers (Touissit et Boubker) et un site industriel (usine de fonderie, Oued El Heimer) situés au Maroc et il était connu que ceux-ci étaient contaminés par du plomb et un site témoin dans une zone proche. La zone choisie pour cette étude est située dans l'est du Maroc, près d'Oujda.

Vingt-cinq (25) échantillons de sol et 67 échantillons de plante ont été collectés sur ces sites. Quinze (15) échantillons d'eau ont également été collectés sur les différents sites. Les échantillons de plante ont été lavés avec de l'eau distillée pour éliminer toute contamination de surface. Les échantillons de sol correspondent aux 15 cm supérieurs du sol. Les échantillons de plante et de sol ont été séchés à l'étuve à 70 °C pendant 48 heures avant analyse. Les métaux lourds totaux ont été extraits par digestion avec de l'acide nitrique-acide perchlorique. Les teneurs en métaux ont été mesurées par plasma à couplage inductif-spectrométrie d'absorption atomique (ICP-AES).

L'analyse des échantillons de sol (dont les résultats sont présentés dans le tableau 1) montre que les sols soumis à essai contiennent une concentration élevée de plomb en particulier la station 2 (Oued El Heimer). Des plantes comprenant *Cistus libanotis* croissant dans ces conditions sont tolérantes au plomb. De plus, les présents

inventeurs ont découvert que les plantes *Cistus libanotis* accumulent le plomb dans leurs tissus aériens (tableau II) à des concentrations au-dessus du seuil définissant des plantes hyperaccumulatrices de plomb (> 1000 mg/kg). La concentration maximale de Pb est observée dans des plantes cultivées dans des sols contenant les taux les plus élevés de Pb disponible ce qui montre que la concentration de plomb est affectée par le sol. Cependant, il a été observé que même les plantes poussant dans un sol contenant peu de Pb (station 2) sont capables d'accumuler du plomb à une concentration élevée.

10 **Tableau I.** Concentration de métaux lourds dans les échantillons de sol (mg.kg⁻¹). Le seuil de contamination pour Pb est de 50 mg.kg⁻¹.

Échantillon	Al	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Témoin	26388,6	≤ 0,36	≤ 0,03	6,49	20,61	24,00	9,18
Oued El Heimer							
Station 2	8505,27	6,62	8,93	9,77	0,48	724,97	95,92
Station 4	1487,31	10,33	0,52	0,36	≤ 0,1	26,38	527,52

15 **Tableau II.** Concentration de métaux lourds dans des plantes *Cistus libanotis* de Oued El Heimer (mg.kg⁻¹)

Échantillon	Al	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Plante 1 (station 2)	540,88	11,39	9,65	13,51	0,78	1820,80	89,01
Plante 2 (Station 4)	371,93	7,94	6,91	12,38	0,97	923,03	1297,06

Exemple 2 : mesures additionnelles

20 Afin de confirmer les résultats obtenus sur site, l'accumulation de plomb a également été analysée dans des conditions contrôlées (c'est-à-dire, au laboratoire plutôt que sur site). Des graines de *Cistus libanotis* ont été germées et cultivées *in vitro* dans des boîtes de Pétri contenant du milieu ½ Murashigue et Skoog dans une chambre de culture (25 °C (±3 °C), 16 heures de lumière) pendant 3 semaines. Les semis ont ensuite été transférés dans des cuves hydroponiques contenant du milieu

25

liquide Broughton et Dillworth (BD, pH 6,6) et cultivés pendant 2 semaines supplémentaires. Ensuite, ils ont été transférés dans du milieu liquide BD contenant du nitrate de plomb 1 mM et sans phosphate (afin d'éviter la précipitation de plomb).

La teneur en métal a ensuite été analysée à différents temps (4 plantes/temps) après transfert dans un milieu contenant du plomb. Des échantillons de plante ont été séchés à l'étuve à 70 °C pendant 48 heures avant analyse. Les métaux lourds totaux ont été extraits par digestion avec de l'acide nitrique-acide perchlorique. Les teneurs en métaux ont été mesurées, comme décrit dans l'exemple 1, par ICP-AES.

Les plantes *Cistus libanotis* sont en mesure de croître sur du milieu BD contenant 1 mM de nitrate de plomb. L'analyse des échantillons de plante (voir les résultats présentés dans le tableau 3) montre que les plantes cultivées sur du milieu contenant du plomb accumulent rapidement du plomb dans leurs parties aériennes. L'accumulation de plomb est supérieure au seuil définissant des plantes hyperaccumulatrices de plomb (> 1000 mg/kg) ce qui confirme le statut hyperccumulateur de cette plante.

Tableau III. Concentration de plomb (mg.kg⁻¹) dans des plantes *Cistus libanotis* cultivées sur du milieu BD contenant du plomb. Les valeurs sont les moyennes de 4 plantes par temps.

Temps après transfert dans du milieu contenant Pb (jours)	Pb dans les parties aériennes (mg.kg ⁻¹)
0	0
6	1577,98
14	14810,42

Exemple 3 : Protocole pour la germination efficace de *Cistus libanotis*

Afin de déterminer les meilleures conditions pour une germination efficace de *Cistus libanotis*, des graines ont été dans un premier temps incubées dans de l'eau à 25 °C, 50 °C ou 100 °C pendant 1 heure avec agitation occasionnelle. Les graines ont pu ensuite germer directement sur le sol ou *in vitro*. Pour la germination *in vitro*, les graines ont été stérilisées en utilisant de l'eau de Javel à 50 % (v/v) dans de l'eau pendant 10 minutes, rincées 3 fois dans de l'eau stérile et ensuite transférées dans des boîtes de Pétri contenant du milieu ½ Murashigue et Skoog à 25 °C (±3 °C) dans des

conditions de jour long (16 heures de jour, 8 heures de nuit). Comme il peut être observé sur la figure 1, il a été observé que le traitement à 100 °C augmente fortement le taux de germination.

Autres modes de réalisation

- 5 D'autres modes de réalisation de l'invention apparaîtront à l'homme du métier à la lecture de la spécification ou par la pratique de l'invention présentement décrite. Il es entendu que la spécification et les exemples doivent être considérés comme étant exemplaires uniquement, la portée réelle de l'invention étant indiquée par les revendications ci-après.

10

Revendications

1. Utilisation de *Cistus libanotis* pour la phytoremédiation du plomb.
2. Utilisation de *Cistus libanotis* selon la revendication 1, pour la phytoextraction du plomb.
3. Utilisation de *Cistus libanotis* selon la revendication 1, pour la phytostabilisation du plomb.
4. Procédé de phytoremédiation comprenant une étape consistant à :
cultiver une plante *Cistus libanotis* dans un milieu contaminé contenant une quantité excessive de plomb dans des conditions dans lesquelles la plante accumule du plomb, de telle manière que la teneur en plomb du milieu soit diminuée.
5. Procédé de phytoremédiation selon la revendication 4, dans lequel la plante *Cistus libanotis* est cultivée à partir d'une graine et dans lequel, avant germination, la graine est incubée dans de l'eau à 100 °C pendant 1 heure avec agitation occasionnelle.
6. Procédé selon la revendication 4 ou la revendication 5, dans lequel le milieu contaminé est un sol contaminé et la teneur en plomb du sol contaminé est supérieure à 50 mg/kg.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 6 comprenant en outre une étape consistant à :
ajouter un agent chélateur biodégradable au milieu contaminé dans lequel la plante *Cistus libanotis* est cultivée.
8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel l'agent chélateur biodégradable est choisi dans le groupe constitué des diacétate de méthylglycine (MGDA), acide éthylènesuccinique (EDTS), diacétate d'acide L-glutamique (GLDA), diacétate d'acide L-aspartique (ASDA), un sel quelconque de ceux-ci, et un mélange quelconque de ceux-ci.
9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 8 comprenant en outre une étape consistant à :

récolter la plante *Cistus libanotis* qui a accumulé du plomb.

10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 9, dans lequel, au moment de la récolte, la plante *Cistus libanotis* a accumulé une concentration de plomb d'au moins 1000 mg/kg.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 10 comprenant en outre les étapes consistant à :
 - incinérer la plante *Cistus libanotis* récoltée pour obtenir des cendres contenant du plomb ; et
 - traiter les cendres obtenues.
12. Procédé selon la revendication 11, dans lequel les cendres obtenues sont traitées par vitrification avec un arc à plasma de telle manière que le plomb soit rendu inerte.

- INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT (IRD)
- UNIVERSITE MOHAMMED V - FACULTE DES SCIENCES DE RABAT
- UNIVERSITE ABDELMALEK ESSAADI (FACULTE DES SCIENCE DE TETUAN)
- CENTRE NATIONAL DE L'ENERGIE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES NUCLEAIRES (CNESTEN)

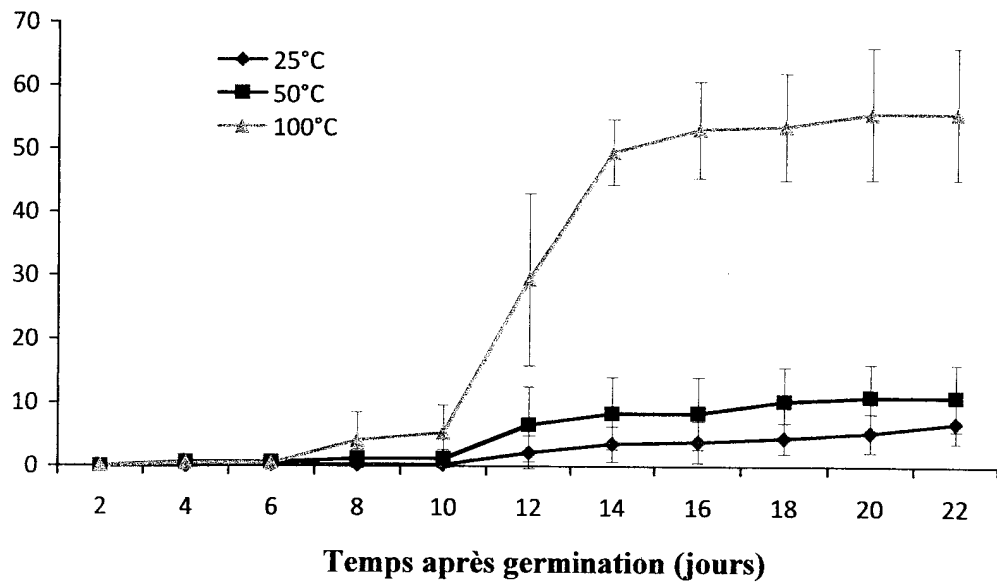


Figure 1

Environnement nucléaire à l'Université