AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY I
Ecole Nationale Supérieure des Technologies et des Industries du Bois

N° attribué par la bibliothèque
I...I...I...I...I...I...I...I...I...I...I

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY I
Discipline : Technologies industrielles - Sciences du bois
présentée et soutenue publiquement par
Marie-France Thévenon
le 5 février 1999

Titre :

Développement de formulations de produits de préservation du bois de faible toxicité et à longue durée d'action

Application aux associations acide borique-tanins condensés
et aux associations acide borique-protéines

Membres du jury

Rapporteurs

B. de Jeso	Professeur à l'Université de Bordeaux I
M. Stevens	Professeur à l'Université de Gand

Examinateurs

J-P. Haluk	Directeur de Recherches au LERMAB, Université de Nancy I
A. Pizzi	Professeur à l'Université de Nancy I
B. de Grandry	Agence pour la Défense de l'Environnement et la Maîtrise de l'Energie
F. Junk	Société Imprélorraine
M. Vernois	Centre Technique du Bois et de l'Ameublement
M. Metche	Professeur Emerite à l'ENSAIA, INPL

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Let it be…

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Remerciements

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur Haluk, Directeur de recherches au Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur le Matériau Bois, de l'Université de Nancy I. Je tiens à lui adresser mes plus vifs remerciements et ma reconnaissance pour sa disponibilité et pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail.

Je remercie vivement Monsieur Pizzi, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure des Technologies et des Industries du Bois d'Epinal, pour avoir co-dirigé cette étude, pour ses conseils avisés et ses encouragements.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur Stevens, Professeur à l'Université de Gand, ainsi qu'à Monsieur de Jeso, Professeur à l'Université de Bordeaux I, de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail et d'en être rapporteurs.

Toute ma gratitude va également à Monsieur Junk, ancien Président Directeur Général de la Société Imprélorraine, et à Monsieur de Grandry, de l'Agence pour la Défense de l'Environnement et la Maîtrise de l'Energie, pour avoir accepté de faire partie de ce jury, ainsi que pour la confiance qu'il ont accordé à ce projet.

Je remercie beaucoup Monsieur Metche, Professeur Emerite de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires de Nancy, tout comme Monsieur Vernois, du Centre Technique du Bois et de l'Ameublement, d'être examinateurs dans ce jury.

Merci à tout les personnes de l'ENSAIA, du LERMAB, de l'ENSTIB, du Critt Bois d'Epinal et du CIRAD Forêt pour leur aide précieuse. And many thanks to Albin Beacker and his termites.

Le plus grand merci à Josianne & Lucien, pour leur éducation non conformiste, leur philosophie, leur humour, et leur soutien inconditionnel... Comment remercier mon arrière grand père Raymond? Merci au gang du Montelard et comparses, à la famille Stenger et à la famille Tagay (vive le Kurdistan libre!).

Merci aux duos célèbres : Crapounet & Johnny Merguez, Marie Noëlle & son roule-pratique, Pascal & son élevage de crêpes en Bretagne littoral nord, Katharine & her faith in social anthropology, Géraldine & les fous rires dans les bars, Laurent S. & ses moisissures, Delphine & Steven, Agnès & le catch, Pascale & sa bibliothèque, Laurent C. & ses blagues, Andrew & Malcolm, Tatave & sa machine à laver, Paul & his Scottish Clan, Pierre & le labo GLM, Stewart & his whisky, Bernadette & ses livres, Line & Manu, Céline & Eric, Franck & sa thèse virtuelle, Claire & Benoît, Françoise & Isidore, Hervé & ses réacteurs, Philippe & sa cave voutée, Mme Castel & son autoclave, et tous les autres avec qui mes rapports furent aussi divers qu'enrichissants...

Abréviations

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

BAE : boric acid equivalent
BCA : acide bicinchoninique
BCCA : bore-chrome-cuivre-arsenic
CCA : chrome-cuivre-arsenic
CCB : chrome-cuivre-bore
CCF : chrome-cuivre-fluor
CCP : chrome-cuivre-phosphore
DBO-5 : demande biologique en oxygène pour 5 jours
DDAC : chlorure de didécylméthylammonium
DOT : disodium octaborate tétrahydrate
DP : degré de polymérisation
LCA : Life Cycle Assessment
MUF : mélamine-urée-formol
NaPCP : pentachlorophénate de sodium
PCP : pentachlorophénol
PEC : pigment emulsified creosote
pHi : pH isoélectrique
TMB : triméthyle borate

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Sommaire

Introduction	4
Revue bibliographique	6
I Le bois : un écomatériau à préserver	7
II Bore et protection du bois	32
III Nouveaux systèmes de préservation du bois à base de bore	51
III A Tanins	53
III B Protéines	58
Objectif du travail	75
Matériels et Méthodes	76
Résultats et Discussion	98
Chapitre I Formulations à base d'associations entre acide borique et tanins condensés	99
Chapitre II Etude des associations entre acide borique et protéines	107
Chapitre III Efficacité du borate d'ovalbumine en préservation du bois	151
Conclusion	171
Bibliographie	177
Liste des publications	204
Table des matières	205

Introduction

Le bois, ressource naturelle renouvelable, a toujours été très largement utilisé par l'homme. Au Néolithique, des groupes d'humains s'installent aux abords des sylves et en commencent l'exploitation. Dès lors, la forêt va subir une pression irréversible qui s'accentuera avec le temps. A l'âge du Bronze, puis du Fer, en plus d'être utilisé pour le chauffage, la réalisation d'abris, d'outils et d'ustensiles, le bois devient le combustible nécessaire de la métallurgie naissante (Larrère & Nougarède, 1993). La forêt s'impose comme un magasin naturel dans lequel l'homme puise sans vergogne. L'Antiquité et les grandes invasions établissent définitivement le bois en tant que produit stratégique (source d'outils, d'armes, de navires de commerce et de guerre,...). Au Moyen Age, le bois devient le matériau par excellence. Au fil de l'histoire, les instances gouvernantes se montreront toujours soucieuses de la production de bois, ce qui les amènera à poser les bases de la sylviculture et de la gestion raisonnée des forêts. Même si l'ère industrielle du siècle dernier a fait profondément infléchir la vocation de la forêt, le bois reste toujours un matériau de premier plan.

Le bois est disponible dans un grand choix de textures, couleurs, densités, compositions chimiques, propriétés mécaniques, ce qui est à l'origine de ses très nombreuses utilisations. Ses qualités d'ingéniérie en font un matériau de construction remarquable. Il constitue une source majeure et peu coûteuse de cellulose et une source d'extractibles pour les industries chimiques et pharmaceutiques. De plus, le bois reste une source d'énergie non négligeable. D'après Skog & Rosen (1997), les pressions environnementales, le besoin à long terme de trouver des sources d'énergie renouvelables et le prix des combustibles fossiles feront largement augmenter la consommation de bois à des fins énergétiques et chimiques dans les décennies à venir. Outre ses caractéristiques technologiques, chimiques, esthétiques, le bois fait partie intégrante de notre culture et fut le promoteur du savoir avec le développement du papier. La célébration de ce matériau noble a pris les formes les plus diverses au cours des temps : de la sculpture à la poésie, jusqu'aux Beatles chantant "Isn't it good, Norwegian wood" (The Beatles, 1965).

Cependant, le bois reste un matériau dégradable, ce qui limite ses utilisations à très long terme. Les agents de dégradation comprennent les agents abiotiques, dont les agents climatiques (photodégradation), thermiques (combustion plus ou moins complète), chimiques, mécaniques et les agents biotiques (Banks, 1990). Les bio-agents de dégradation provoquent les dégâts les plus considérables sur le bois en service (Zabel & Morrell, 1992).

La méthode la plus classique de protection du bois contre les dégradations biologiques est le traitement par des produits chimiques, lesquels s'avèrent efficaces, mais bien trop souvent nocifs pour les écosystèmes. Le secteur de la préservation du bois souffre de cette image, et, afin de promouvoir l'emploi du matériau bois dans les situations les plus diversifiées possibles, il est nécessaire d'envisager le développement de formulations efficaces et faiblement toxiques pour l'environnement.

Revue bibliographique

I Le bois : un écomatériau à préserver

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

1. Le bois : compartiment trophique et habitat

A l'échelle macroscopique, une grume de bois est constituée en son centre de la moëlle, entourée d'un cylindre de bois de coeur (duramen) à la périphérie duquel se trouve un cylindre d'aubier recouvert d'écorce (figure 1). Le duramen se distingue de l'aubier par sa couleur souvent plus marquée. La moëlle centrale, parenchymateuse, claire et lacuneuse, est une partie infime de la grume.

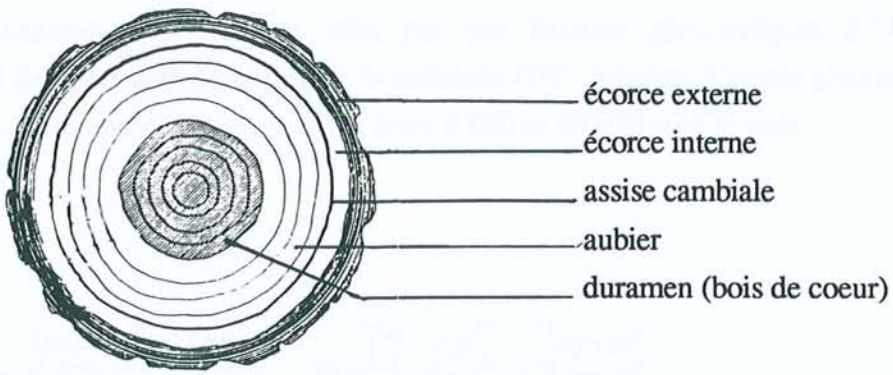


Figure 1. Coupe transversale d'un tronc d'arbre (d'après Smook, 1989).

Le bois assure les fonctions de soutien, de conduction et de stockage. Selon les végétaux et leur place dans la systématique, les éléments constitutifs du bois assurent une ou plusieurs des fonctions définies ci-avant. Ainsi, les résineux (Gymnospermes) possèdent 2 types de cellules : (1) les trachéides longitudinales à paroi épaisse assurent conduction et soutien, (2) les cellules du parenchyme à paroi fine forment les rayons (tangentiels aux cernes d'accroissement) responsables de la conduction radiale et de l'accumulation de réserves (amidon, graisses,...). Les feuillus (Angiospermes) montrent une spécialisation cellulaire plus marquée, corrélée à leur stade d'évolution plus avancé (Boullard, 1988). Les cellules du bois communiquent par des ponctuations (diverses et plus ou moins particulières selon les essences), zones demeurées minces de la paroi squelettique.

Lorsqu'un arbre est abattu, son aubier est constitué de cellules vivantes transportant la sève brute et assumant les fonctions de mise en réserve. Le bois de coeur est un tissu mort, comprenant les cellules précédemment constitutives de l'aubier désormais duraminisées. Outre une lignification plus importante, ces cellules sont caractérisées par des variétés de métabolites

secondaires (extraits) souvent tenus responsables de la résistance aux organismes lignivores (Boullard, 1988).

Ainsi, pour un organisme colonisateur, le bois peut être considéré comme une série d'espaces limités, orientés, mais communiquants, entourés de sources trophiques potentielles.

2. Composition chimique du bois

Les trois composants majoritaires du bois sont la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Ces substances sont toujours présentes en quantité abondante : la cellulose représente 40% à 55% de la masse totale des parois cellulaires, les hémicelluloses 25% à 40% et la lignine 18% à 33% (Eaton & Hale, 1993). Toutes sont des molécules de poids moléculaire élevé.

La cellulose est le principal composant structural des parois. Il s'agit d'un polymère linéaire d'unités D-anhydroglucopyranose liées par des liaisons glycosidiques β (1->4) (figure 2). Le degré de polymérisation (DP) de la cellulose (DP : nombre d'unités glucose par molécule de cellulose) est compris, en moyenne, entre 8.000 et 10.000 pour le bois .

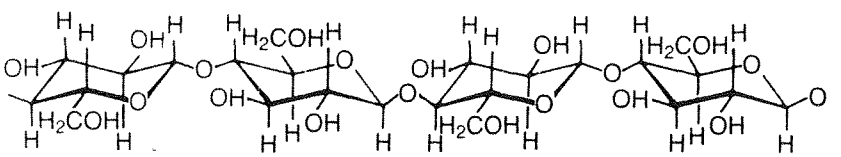


Figure 2. Structure chimique d'une fraction de cellulose (d'après Eaton & Hale, 1993).

Les hémicelluloses (ou polyoses) sont des polysaccharides non cellulosiques. Ce sont des homo ou hétéropolymères de diverses unités hexoses et pentoses. Les monosaccharides les plus courants sont : glucose, xylose, galactose, mannose, arabinose, rhamnose et fucose. Les chaînes d'hémicelluloses sont courtes (DP rarement supérieur à 200) avec parfois des chaînes latérales branchées (figure 3). Les feuillus contiennent plus d'hémicelluloses que les résineux et leurs compositions diffèrent : le xylose est le monosaccharide le plus représenté chez les feuillus, le mannose chez les résineux (Eaton & Hale, 1993). A noter la présence de substances pectiques, polyols elles aussi, mais représentant seulement 1% des parois ligneuses. Ce sont des polysaccharides en mélange à dominante d'acides polygalacturoniques, concentrés au niveau de la lamelle moyenne.

La lignine est un des polymères naturels les plus complexes du point de vue de sa structure et de son hétérogénéité. Il s'agit d'un système aromatique et phénolique composé

d'unités phénylpropane, à l'origine d'un complexe tridimensionnel totalement amorphe. Les alcools phénoliques p-coumarylique, coniférylique et sinapylique sont les précurseurs des unités de toutes les lignines (figure 4). La lignine se comporte comme un matériau incrustant au niveau de la cellulose et des hémicelluloses (Zabel & Morrell, 1992).

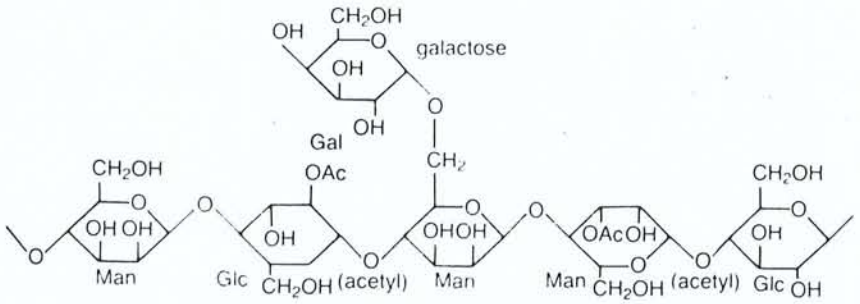
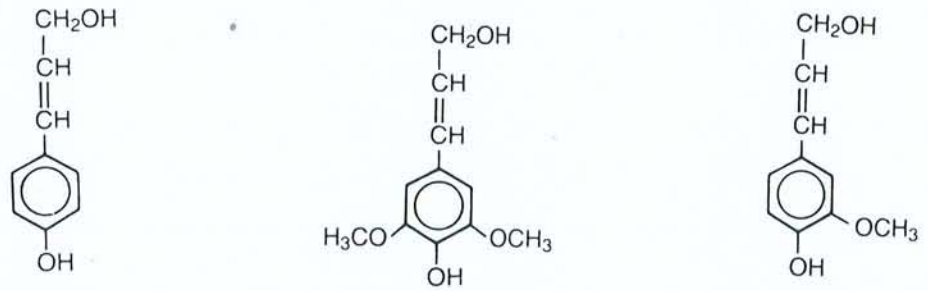


Figure 3. Structure chimique d'une fraction d'une molécule d'O-acétyl-galactoglucomannane de résineux (d'après Eaton & Hale, 1993).



(a) (b) (c)

Figure 4. Structure chimique des monomères phényl-propane constitutifs de la lignine (d'après Eaton & Hale, 1993). (a) alcool p-coumarylique, (b) alcool sinapylique, (c) alcool coniférylique.

A ces composants majoritaires du bois, il faut ajouter les substances de faible poids moléculaire : extraits et substances minérales. Le terme "extraits" recouvre un grand nombre de constituants, ceux-ci pouvant être extraits du bois par des solvants polaires ou non (eau, acétone, éther de pétrole,...). Ces métabolites secondaires sont minoritaires (de 1% à 5% du bois jusqu'à 10% à 40% dans certains cas extrêmes) et sont souvent spécifiques des essences qui les contiennent. Parmi les extraits les plus courants, on trouve : les terpènes, les tanins hydrolysables et condensés, les lignanes, les stilbènes et les acides aliphatiques. La présence importante d'extraits dans le duramen semble impliquer une durabilité naturelle du bois (Zabel & Morrell, 1992). Les substances minérales (cendres) ne représentent qu'une infime partie du

bois, excédant rarement 1% dans les zones tempérées. Les éléments les plus représentés sont le calcium, le potassium et le magnésium. Dans les bois tropicaux, la quantité de silice peut être considérable, élevant alors le pourcentage de cendres.

Il faut ajouter un certain nombre de substances de réserves issues de l'activité photosynthétique (amidon en particulier) ne faisant pas partie intégrante des parois cellulaires du bois, mais pouvant se révéler attractives pour des organismes colonisateurs du bois.

Les composés chimiques du bois ne sont pas indépendants les uns des autres, mais s'organisent de manière plus ou moins complexe au niveau des parois cellulaires (figure 5). Comme tous les végétaux, le bois est constitué de cellules distinctes séparées par une lamelle moyenne. Cette dernière, essentiellement pectique, se charge fortement en lignine lors de la différenciation tissulaire. La lignification commence toujours par cette couche inter-cellulaire. La paroi primaire est principalement cellulosique et hémicellulosique, un peu de lignine s'y dépose aussi lors de la différenciation. La paroi secondaire, prépondérante, présente une structure en couches bien distinctes (S1, S2, S3). Ces couches sont composées d'une très forte proportion de cellulose, de lignine et d'un peu d'hémicelluloses. Au cours de la formation et de la lignification de la paroi secondaire, des ponctuations se différencient. Ce sont des zones d'interruption de cette paroi, permettant le passage des fluides (la lamelle moyenne et la paroi primaire, de structure dispersée, étant perméables) (Boullard, 1988).

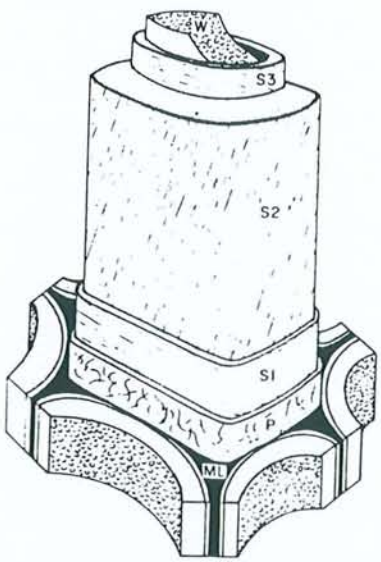


Figure 5. Organisation schématique de la paroi cellulaire (d'après Smook, 1989). ML : lamelle moyenne ; P : paroi primaire ; S1, S2, S3 : couches constitutives de la paroi secondaire ; W : couche verruqueuse parfois observée.

3. Le bois en service

Lorsque le bois est mis en service, il est susceptible d'être modifié ou dégradé par des agents biotiques et/ou abiotiques, alors que les utilisateurs souhaitent qu'il persiste le plus longtemps possible. Les dégâts les plus importants sont généralement causés par les agents biotiques. En fonction de la situation du bois en service, les risques biologiques principaux sont évalués et le bois est assigné dans une classe de risques définie (tableau 1). Ce type de classification est un outil d'aide à la décision dans le domaine de la préservation du bois. Ce système a ses limites et il est souvent utile d'examiner les risques de manière plus fine (Willeitner, 1995). Ainsi, il est recommandé de considérer :

- les conditions locales de mise en service telles que la géographie, la topologie, l'indice climatique ou indice Scheffer (Scheffer, 1971) ;
- l'exposition (nord, sud,...), l'orientation (pièces de bois horizontales ou verticales) et l'emplacement spécifique de l'ouvrage (ouvrage à l'ombre d'un autre bâtiment par exemple) ;
- le temps de mise en service souhaité.

En évaluant correctement les risques, l'utilisateur fera le choix d'une essence durable ou non et/ou d'un traitement préventif approprié. Bien que pour certains usages, il ne soit pas facile de trancher entre deux classes de risques, ces regroupements s'avèrent utiles quant aux exigences demandées aux produits de préservation.

Tableau 1. Classification Européenne des classes de risques du bois en service (d'après la norme EN 335-1, 1992).

Classe de risques	Situation du bois en service	Humidité du bois	Organismes caractéristiques*
1	Bois toujours sec, sous abri. (ex : meuble d'intérieur)	H < 18%	Insectes
2	Bois sec, au dessus du sol, couvert, dont la surface est humidifiée temporairement. (ex : charpente, ossatures en périodes de chantier)	H > 18% occasionnellement	Insectes Basidiomycètes en surface
3	Bois sans contact avec le sol, non couvert, soumis à des alternances de sécheresse et d'humidité. (ex : menuiseries extérieures)	H > 20% souvent	Basidiomycètes
4	Bois au contact du sol, non couvert, ou, bois en contact avec l'eau douce. (ex : poteau)	H > 20% dans tout ou une partie de son volume	Basidiomycètes Pourritures molles
5	Bois au contact de l'eau salée. (ex : jetée)	H > 20%	Térébrants marins

* Remarque : les termites sont à prendre en compte dans les régions infestées, indépendamment de la classe de risques.

L'humidité du bois en service est un facteur conditionnant sa colonisation par divers groupements d'organismes et influençant donc sa dégradation. Alors que les insectes peuvent sans difficulté coloniser un bois sec, une humidité de 20% est généralement nécessaire au développement de champignons. Il existe une humidité critique propre à chaque type d'organisme. Par ailleurs, peu d'organismes sont capables de coloniser le bois lorsqu'il est saturé en eau. Quand l'humidité du bois est supérieure au point de saturation des fibres, l'eau remplace alors l'air dans le lumen des cellules et l'oxygène devient le facteur limitant pour les organismes aérobies (Kazemi et al., 1998). Maintenir l'humidité du bois au dessus du point de saturation des fibres (arrosage permanent des grumes fraîchement abattues ou stockage dans l'eau) est considéré comme un moyen préventif de la colonisation du matériau. Certaines bactéries anaérobies sont toutefois capables de coloniser un bois saturé en eau. Leurs activités sont souvent recherchées lors de la flottaison d'essences réfractaires à l'imprégnation. En effet, ces bactéries dégradent le torus des ponctuations aspirées par le biais d'activités pectinolytiques et rendent ainsi le bois plus perméable aux fluides (Efransjah, 1988).

Tout comme l'humidité et l'oxygène, la température et le pH sont des facteurs limitants non liés aux propriétés intrinsèques du bois. Ils affectent le métabolisme général des organismes. La colonisation du bois se faisant de l'extérieur vers l'intérieur, le pH du milieu et la température restent des facteurs de sélection importants lors des premières phases de colonisation, en conditionnant notamment les réactions exo-enzymatiques générées par les micro-organismes (Eaton & Hale, 1993). Chaque type d'organisme présente une température et un pH optimum avec des plages de tolérance plus ou moins larges, selon la phase du cycle de vie de l'organisme considéré.

Des facteurs inhérents au matériau bois conditionnent aussi le développement des organismes colonisateurs : la composition chimique du bois, la nature et la quantité des extraits, le pH et les substances nutritives disponibles.

4. Organismes caractéristiques destructeurs du bois

Nous ne considérerons que les grands types d'organismes destructeurs du bois mis en service, à savoir : les bactéries, les champignons, les insectes et les térébrants marins. Notre intérêt ne va pas à l'établissement d'une liste exhaustive de tous ces organismes, mais à une compréhension générale de leur biologie, de leur mode de colonisation et de destruction du bois.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

4.1. Bactéries

Les bactéries dégradent le bois de manière limitée dans la très grande majorité des cas. Les bactéries anaérobies se trouvent souvent dans les bois saturés en eau. C'est le cas pour la partie enterrée des bois en contact avec le sol. Les bactéries sont en général les premiers organismes colonisateurs du bois. L'invasion initiale se fait par les rayons du parenchyme où elles utilisent les réserves directement assimilables de la plante. Leur propagation dans le bois est tributaire des flux d'eau uniquement. Elles sont aussi capables de dégrader les tori des ponctuations aréolées aspirées grâce à des activités pectinolytiques, augmentant ainsi la perméabilité du bois (Singh et al., 1988a ; 1998b). Ce processus est plus rapide dans les bois flottés que dans les bois en contact avec le sol. Chez ces derniers, l'ouverture des ponctuations aspirées génère de meilleurs échanges gazeux dans le bois. Les conditions deviennent moins anaérobies et plus propices au développement des champignons.

Cellulomonas sp. et *Cellovibrio vulgaris* peuvent être à l'origine d'une dégradation des polysaccharides de la paroi cellulaire, après un temps extrêmement long de colonisation en conditions anaérobies (Levy & Dickinson, 1981). Cette dégradation, très lente comparée à celle des champignons, commence par le lumen de la cellule. Après une lyse limitée de la paroi S3, les bactéries creusent de véritables tunnels dans la paroi S2 d'où leur nom de "tunnelling bacteria" (Kim & Singh, 1998). De plus, dans quelques cas particuliers, des bactéries filamenteuses, dont *Streptomyces sp.*, peuvent dégrader le bois de manière importante, entraînant des pertes de masse et de propriétés mécaniques significatives (Molnar, 1997).

Dans le bois en contact avec le sol, certaines bactéries présentent des activités nitrogénases et sont fixatrices d'azote atmosphérique (Levy & Dickinson, 1981). La teneur en azote (0,03% à 0,1% habituellement) augmente alors graduellement de l'extérieur (surface exposée) vers l'intérieur du bois. De facteur limitant, l'azote devient alors un facteur "attractif" pour les organismes lignivores.

4.2. Moisissures

Les moisissures (Phycomycètes, Ascomycètes, Champignons Imparfaits) sont des colonisateurs du bois dans les tous premiers stades de destruction. Leurs sources trophiques sont les polysaccharides et les sucres simples, stockés dans les cellules du parenchyme ou apportés à tout autre endroit de l'arbre par les mouvements de sève. Les moisissures se développent en surface mais colonisent aussi le bois en entrant soit par des cellules coupées, soit par les ponctuations précédemment dégradées par les bactéries (Levy & Dickinson, 1981). Les moisissures ne dégradent pas les parois cellulaires et n'entraînent pas de modifications profondes des propriétés mécaniques du bois. Elles génèrent des taches diversement colorées en surface, d'où une dépréciation esthétique certaine.

4.3. Champignons de discoloration

Ce groupe est caractérisé par des micro-organismes (Ascomycètes, Champignons Imparfaits) dont les vacuoles des hyphes mycéliennes sont pigmentées, causant ainsi des discolorations plus ou moins profondes au bois infecté. Le bleuissement est la principale discoloration. Les champignons du bleuissement colonisent le bois (résineux principalement) via les rayons du parenchyme où ils utilisent l'amidon et les sucres libres mis en réserve par la plante (Eaton & Hale, 1993). Il est possible d'observer les hyphes de ces champignons dans les trachéides, passant d'une trachéide à l'autre par les ponctuations. Dans certains cas, les hyphes sont capables de transpercer la paroi cellulaire par le biais de fines constrictions ou "transpressoriums" (Levy & Dickinson, 1981). Ce passage semble être possible grâce à l'action combinée d'enzymes dégradant les polysaccharides de manière limitée, et, à la pression mécanique exercée par le transpressorium (Snow et al., 1998). Cette dégradation cellulaire est restreinte et n'affecte pratiquement pas les propriétés mécaniques du matériau.

4.4. Basidiomycètes

Les champignons Basidiomycètes incluent les pourritures cubiques brunes et les pourritures fibreuses blanches. Ce sont les organismes caractéristiques prépondérants de la classe de risques 3.

Les pourritures brunes telles que *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum* dégradent les polysaccharides des parois cellulaires. Ces organismes clivent la cellulose en glucose en excrétant des enzymes cellulolytiques (Molnar, 1997 ; Nishimura et al., 1998). La présence d'hémicelluloses et de lignine limite souvent l'accessibilité à la cellulose. A ces cellulases s'ajoutent des hémicellulases hydrolysant les hémicelluloses en sucres simples (glucose, mannose, xylose,...). Des systèmes oxydatifs non enzymatiques (H_2O_2 + Fe^{2+}) semblent participer aux dégradations des pourritures brunes (Eaton & Hale, 1993 ; Nishimura et al., 1998). Les hyphes mycéliennes se propagent dans le bois en utilisant les ouvertures naturelles que sont les ponctuations, ou, en traversant les parois cellulaires après leur lyse. Le bois dégradé devient brun et friable et des craquelures "en carré" apparaissent en surface lors du séchage. Les dégradations causent des pertes de masse et de résistance mécanique importantes, accompagnées d'un retrait longitudinal anormal et d'une déformation des parois cellulaires.

Les pourritures blanches se distinguent des précédentes par leur production de phénol-oxydases, dont des laccases, lignine peroxydases et manganèse peroxydases, permettant de dégrader la lignine (Eaton & Hale, 1993 ; Mester et al., 1998 ; Momohara, 1998). Du fait de leur complexité et de leur diversité, les mécanismes de dégradation de la lignine sont encore peu

compris. Eaton & Hale (1993) distinguent deux types de pourritures blanches : (1) celles dégradant plus ou moins simultanément lignine, hémicelluloses et cellulose comme *Coriolus versicolor* (pourriture blanche "simultanée"), (2) celles détruisant la lignine et les hémicelluloses préférentiellement dans les premiers stades de dégradation et ne s'attaquant à la cellulose qu'ultérieurement (pourriture blanche "préférentielle") comme *Phanerochaete chrysosporium.* Certaines souches de pourritures blanches "préférentielles" ont été sélectionnées afin d'être utilisées dans les étapes de blanchiment de la pâte à papier. Le bois dégradé par les pourritures fibreuses a un aspect blanchi et des lignes de craquelures sont nettement visibles après séchage. On observe aussi des pertes de masse et de résistance mécanique importantes, associées à un gonflement excessif.

4.5. Pourritures molles

Ce sont les organismes caractéristiques des situations où le bois est en contact avec le sol (classe de risques 4). On les trouve en grand nombre quand le développement des Basidiomycètes est retardé ou inhibé. Les pourritures molles (Ascomycètes, Deuteromycètes) sont plus tolérantes aux situations drastiques que les Basidiomycètes, dont elles sont les premiers compétiteurs. Elles peuvent se développer dans des conditions assez extrêmes : très forte humidité et faible aération du bois, conditions de pH et de températures élevées (Brazolin et al., 1998). Elles se révèlent parfois tolérantes à certains produits de préservation dont la créosote et les sels de chrome-cuivre-arsenic, et peuvent causer la rupture de pièces de bois traitées au niveau de la ligne de sol (Srinivanan et al., 1998).

Les pourritures molles dégradent les polysaccharides et se montrent assez peu spécialisées en termes nutritionnels. Elles sont souvent à l'origine d'une dégradation limitée de la lignine et sont considérées comme des organismes lignolytiques "inférieurs" en comparaison des pourritures blanches (Molnar, 1997). La lyse de la paroi cellulaire commence à partir du lumen où se trouvent les hyphes. Les hyphes se propagent alors selon la direction des fibrilles de cellulose de la couche S2, à l'intérieur de laquelle elles creusent des cavités caractéristiques.

4.6. Insectes

Les insectes de bois frais se trouvent sur les arbres en train de mourir ou sur les grumes fraîchement abattues. C'est le cas des individus des genres *Scolytides*, *Siricidae*, *Cerambycides*. Dans un bois sec et mis en oeuvre, ces insectes sont incapables de poursuivre leur expansion (Coutrot, 1997).

Les insectes de bois sec (humidité inférieure à 18%) préfèrent coloniser l'aubier plus riche en substances nutritives et plus pauvre en extraits. On distingue les insectes nidificateurs

des insectes xylophages au sens strict (Coutrot, 1997) : les insectes nidificateurs creusent le bois sans s'en nourrir, uniquement pour y déposer leur progéniture (cas des abeilles et des fourmis charpentières), tandis que les insectes xylophages creusent le bois afin de s'en nourrir à un ou à différents stades de leur développement. Le capricorne, les vrillettes, le lyctus et les termites sont parmi les plus importants en termes de dégâts occasionnés. Suivant son stade d'évolution et la phase de sa vie, l'insecte sera plus ou moins actif dans la destruction du bois. La phase larvaire, transition entre l'oeuf et la nymphe, est la phase la plus longue du cycle vital d'un insecte et souvent la plus préjudiciable pour le bois.

Alors que les micro-organismes agissent directement sur les composants individuels du bois par le biais d'enzymes, les insectes provoquent des dégats à l'échelle macroscopique en creusant des galeries de la taille de plusieurs cellules de bois. Cependant, les insectes sont très fréquemment associés aux champignons et aux bactéries : (1) ces micro-organismes possèdent des systèmes enzymatiques dégradant le bois et sont constitutifs de la flore intestinale de la grande majorité des insectes ; (2) le bois doit parfois être préalablement dégradé par les micro-organismes afin que les insectes puissent le coloniser (cas des fourmis charpentières), (3) les champignons lignivores peuvent servir de nourriture aux larves ou aux nymphes (cas de nombreuses espèces de termites) (Levy & Dickinson, 1981). Dans ces associations, les insectes jouent un rôle important dans la dissémination des micro-organismes (spores notamment).

4.7. Térébrants marins

On désigne par térébrants marins des mollusques ou crustacés capables de pratiquer une action de forage dans le bois (Coutrot, 1997). *Limnoria* et *Chelura* sont les genres les plus représentés pour les crustacés, alors que les tarets sont les mollusques destructeurs du bois les plus communs.

5. Successions écologiques

Les organismes caractéristiques que nous venons de considérer ne colonisent pas le bois dans les mêmes conditions et ne l'utilisent pas de la même manière en tant que source trophique. Les organismes colonisateurs favorisés sont ceux dont les spécificités sont le plus en adéquation avec les conditions du milieu pour un temps donné. Si on considère un ouvrage en bois mis en service comme un écosystème limité, il est intéressant d'en considérer les diverses successions écologiques. Il existe une compétition active et sévère entre ces organismes dont les niches écologiques sont souvent imbriquées.

La classe de risques 4 est la plus complète et intéressante en termes d'invasions et de successions microbiennes. L'établissement de l'infection par les micro-organismes dépend de :

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

(1) la source de l'infection (spores, hyphes mycéliennes,...), (2) du substrat (valeur nutritive, température, humidité), (3) de la présence de substances inhibitrices (extraits du duramen, produits de préservation) (Eaton & Hale, 1993). Leur survie et leur propagation dépendra de la teneur en eau du bois, de l'aération, de la température et des compétitions inter-spécifiques. Les diverses phases de la colonisation microbienne reflètent les changements physiques et chimiques au niveau du bois. Dans la classe de risques 4, la zone de contact bois/sol est particulièrement critique. Le bois étant fortement hygroscopique, la teneur en eau du sol génère un cône d'humidité dans le bois. Ce cône est variable et se trouve au dessous ou au dessus du sol selon l'humidité relative de ce dernier. Il s'agit d'un facteur majeur participant à la dégradation du bois en subvenant à l'activité des micro-organismes et en contribuant à la disponibilité des substances nutritives du sol (en particulier l'azote) (figure 6).

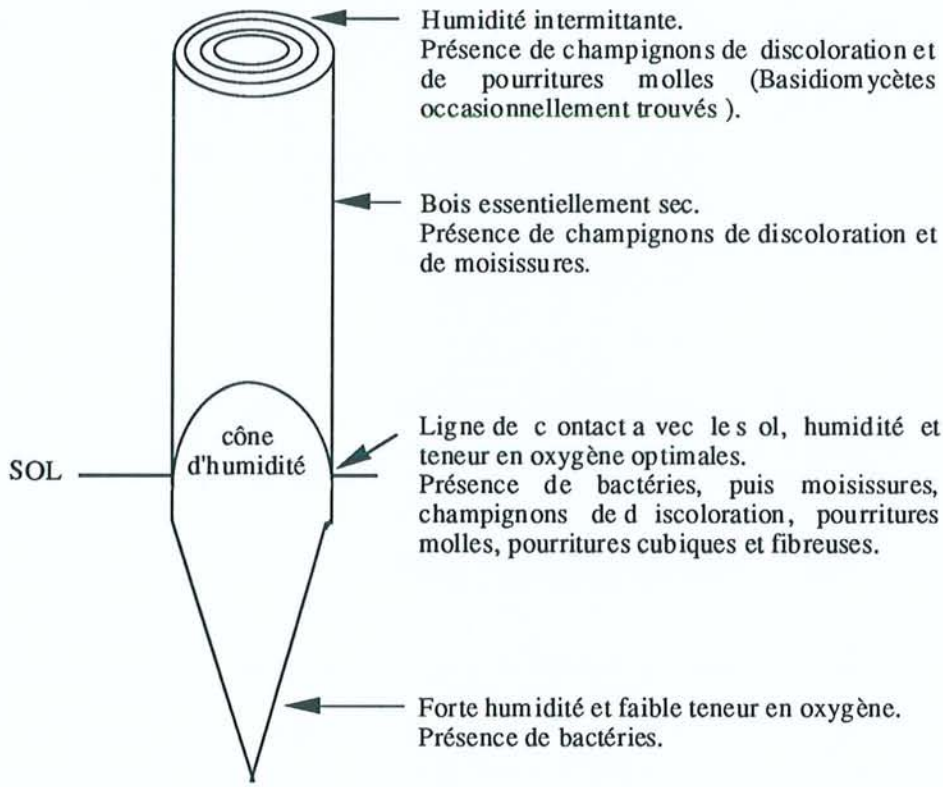


Figure 6. Détérioration microbienne d'une pièce de bois non traité en contact avec le sol.

Au niveau du sol, les stades de colonisation du bois sont les suivants (Banks, 1990 ; Eaton & Hale, 1993) :

- (1) invasion bactérienne menant à une augmentation de la perméabilité du bois. La présence de bactéries peut aussi permettre une fixation d'azote atmosphérique ;

- (2) colonisation par des champignons saprophytes (moisissures et champignons de discoloration) consommant les substances nutritives solubles et les réserves des rayons du parenchyme. La compétition entre ces organismes est très forte, mais les champignons du bleuissement notamment, sont capables de pénétrer beaucoup plus profondément dans le bois ;

- (3) lorsque les substances nutritives des régions peu profondes du bois commencent à décliner, les pourritures molles s'installent et commencent à dégrader les parois cellulaires. Les cavités percées par les hyphes améliorent la perméabilité du bois créant des conditions optimales à l'installation des Basidiomycètes ;

- (4) les Basidiomycètes continuent activement à dégrader le bois. De manière concomitante aux stades 3 et 4 de colonisation, on observe la présence de champignons saprophytes utilisant les sous-produits de dégradation des polysaccharides.

6. Essences naturellement durables

Les essences de bois affichent des performances différentes lorsqu'elles sont exposées à des risques de dégradations biologique et/ou abiotique. Certaines essences sont connues pour leur excellente durabilité naturelle, et ce, quelles que soient leurs conditions de mise en service. Parmi les essences les plus durables, on peut citer le teck (*Tectona grandis*), l'osage-osange (*Maclura pomifera*), le robinier (*Robinia pseudacacia*), le châtaignier (*Castanea sativa*), etc...

La durabilité naturelle est à mettre en relation avec les extraits contenus dans le bois (Schultz et al., 1995 ; Payanotov et al., 1997). Le duramen, plus riche en extraits est plus durable que l'aubier, où par ailleurs des substances nutritives disponibles pour les micro-organismes sont stockées. Les extraits agissent comme des substances toxiques pour les micro-organismes et peuvent aussi se révéler répulsives pour les insectes. Leur efficacité à protéger le bois est fonction de leur nature et de leur quantité. Becker (1966) a montré que le pin sylvestre contient des substances termicides, mais Grace et al. (1998) constatent que leur concentration n'est pas suffisante pour protéger efficacement le bois contre l'attaque de termites. Certaines essences sont véritablement résistantes à l'attaque des termites : de nombreux spécimens du genre *Callitris* (Weißmann & Dietrichs, 1975), le cèdre du Japon (*Cryptomeria japonica*), le teck (Grace et al., 1996). D'autres sont assez résistantes pour être utilisées en structure dans un environnement aquatique. Van Eetvelde et al. (1998) ont ainsi démontré la grande durabilité du merbau (*Intsia sp.*), du doussié (*Afzelia bipindensis*), du red cedar (*Thuya plicata*) et de l'iroko (*Chlorophora excelsa*). L'ironie du sort veut aussi que ces essences, utilisées dans l'eau, présentent une importante écotoxicité due au lessivage de leurs extraits.

D'autres facteurs interviennent dans les mécanismes de durabilité naturelle : densité, quantité et type de lignine, teneur en azote et en amidon. Viitanen et al. (1998) affirment que le

génotype des individus joue aussi un rôle prépondérant sur leur durabilité naturelle. Wong et al. (1998) soulignent que si la quantité et la nature des extraits est génétiquement dépendante, la situation géographique et le type de sylviculture ne sont pas sans influence.

Pendant des siècles, le bois de coeur des essences durables a été la matière première d'ouvrages placés dans des conditions à risques. Pour faire face à une demande grandissante, due à une augmentation accrue de la population mondiale et à un développement économique important, les usages ancestraux ont changé radicalement (Sandoz, 1998). Les stocks d'essences durables s'épuisant et leur prix augmentant, les industries du bois se sont mises à exploiter l'aubier des arbres et à utiliser des espèces à croissance rapide dont la durabilité est souvent faible. Les utilisateurs de bois se sont donc tournés vers une autre voie : la préservation chimique d'essences peu durables. En effet, la protection préventive du bois est un véritable besoin si l'on veut allonger la durée de vie des produits en bois à base d'essences périssables (Esser & Van der Voet, 1998).

7. Préservation chimique traditionnelle du bois

Dans ce type d'approche, le bois est classiquement imprégné avec un produit de préservation à large spectre d'action et devient ainsi toxique pour tous ou la plupart des organismes susceptibles de le dégrader (Banks, 1990). Une chronologie succincte des développements principaux au niveau des produits et des procédés de préservation chimique est indiquée dans le tableau 2.

Tableau 2. Développements majeurs dans les produits et les procédés classiques de préservation du bois (d'après Barnes & Murphy, 1995).

Année	Produit / Procédé
1681	Créosote
1838	Procédé Bethell à cellule pleine
1902	Procédé Ruepling à cellule vide
1906	Procédé Lowry
1931	Pentachlorophénol et dérivés
1933	Solutions de préservation à base de chrome-cuivre-arsenic
1950 -1960	Procédé trempage/diffusion avec des borates inorganiques
1980 -1990	Composés alkyl-ammonium
1990	Solutions de préservation sans arsenic ni chrome

Historiquement, les produits "clés" les plus représentatifs et les plus utilisés sont la créosote, le pentachlorophénol (PCP) et ses dérivés, et les systèmes à base de chrome-cuivre-arsenic (CCA). Ces solutions de préservation se sont révélées particulièrement efficaces pour la protection du bois, mais ne sont pas dénuées d'inconvénients.

De très nombreuses études ont été et sont encore menées sur ces produits, lesquels ont leurs adeptes et leurs détracteurs. Etant donnée l'importance de ces solutions en termes de mètres cube de bois traité en service, il est intéressant d'établir un rapide bilan de leur efficacité et de leurs nuisances.

7.1. Généralités

Créosote, PCP et CCA sont des produits chimiques toxiques. Leur utilisation présente des risques lors des opérations de traitement du bois et lors du temps de vie des produits traités (figure 7). Les points critiques sont : (1) l'exposition des manipulateurs aux produits et au bois traité ; (2) les gaspillages de produits sur les sites de traitement (stockage inapproprié, renversement de produit lors du remplissage des cuves, égouttage des grumes fraîchement traitées) ; (3) le passage d'une partie des produits du bois traité dans l'environnement. Le devenir des produits en bois en fin de service (déchets) sera traité ultérieurement lors de l'étude du cycle de vie des produits.

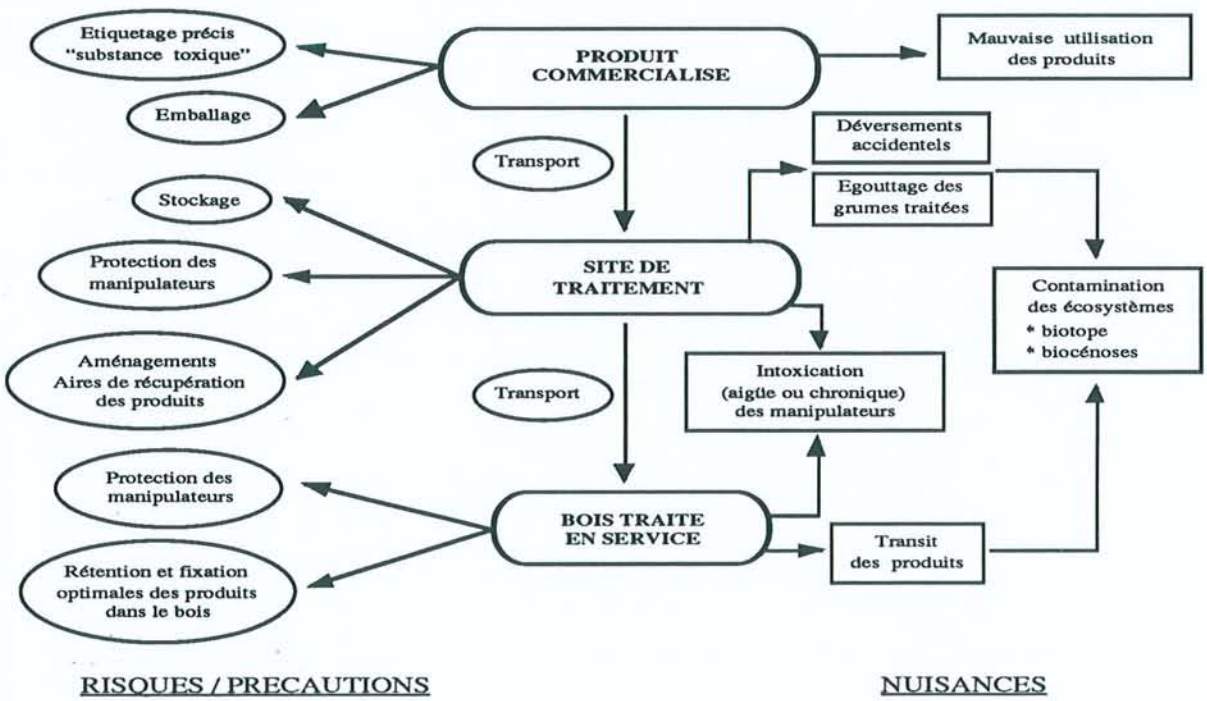


Figure 7. Points critiques lors du traitement chimique du bois et de sa mise en service.

A l'échelle de l'Union Européenne, une réglementation stricte est appliquée quant à la commercialisation et à l'utilisation de certaines substances chimiques dangereuses. Dans le cadre de cette législation, s'inscrivent les amendements relatifs aux produits de préservation du bois : 8ème amendement sur l'arsenic (Dir. 89/677/EEC, 1989), 9ème amendement sur le pentachlorophénol (Dir. 91/173/EEC, 1991), 13ème amendement sur la créosote (Dir. 92/C 157/05, 1992).

Bien que les restrictions générales à propos de ces produits et que les précautions préconisées soient souvent du même ordre, nous allons considérer un peu plus dans le détail chaque type de produit.

7.2. Créosote

La créosote est un sous produit de l'industrie du charbon. Elle est utilisée pour protéger le bois dans des situations à forts risques biologiques, en particulier lorsqu'il est en contact du sol et/ou de l'eau. Ce produit très performant assure des temps moyens de service de 30 à 50 ans pour les pièces traitées.

7.2.1. Créosote, manipulateurs et sites de traitement

Ce produit huileux complexe et nauséabond contient plus de 200 constituants parmi lesquels on trouve phénol, crésol, xylénol, pyridine, acridine, quinoline, naphtalènes en mélange,... Les hydrocarbures polycycliques contenus dans la créosote sont des agents oncogènes reconnus (Eaton & Hale, 1993 ; Ohlson et al., 1995). La créosote industrielle ne doit pas contenir plus de 0,05% de benzo-α-pyrène et plus de 3% de phénols extractibles dans l'eau (Dir. 92/C 157/05, 1992). Les vapeurs issues du processus de traitement sont détruites afin d'éliminer les hydrocarbures poly-aromatiques (Erlandsson et al., 1992). Les manipulateurs doivent être protégés des risques de contact et d'inhalation (vêtements adaptés, masques, gants).

Lorsque les grumes sont fraîchement traitées, on retrouve fréquemment des exsudats de créosote à la surface du bois (Nagaveni et al., 1998). Des aménagements des parcs à grumes (systèmes de récupération du produit) sont impératifs pour lutter contre cette source potentielle de pollution des sols et des eaux (Sylvestre, 1993 ; Andersen & Rasmussen, 1998). Vassou et al. (1998) estiment que des poteaux traités stockés sur un parc à grumes perdent entre 3% et 6,8% de créosote par an (par volatilisation et lessivage).

7.2.2. Bois créosoté

Le bois traité garde une odeur désagréable et présente une couleur marron ou noirâtre en plus d'un aspect huileux. Il n'est pas apte à recevoir de finitions, ce qui restreint ses usages.

La créosote (non fixée à la matrice bois) est lessivée dans les compartiments terrestres et aquatiques (Erlandsson et al., 1992). Marchal & Martin (1998) ont montré que le bois créosoté en service dans l'eau affectait la croissance des algues et se révèlait toxique vis à vis des organismes aquatiques non lignivores. Les parties aériennes du bois traité sont aussi le siège de sévères déplétions de créosote, car un tiers des fractions volatiles se retrouve dans l'atmosphère dès les premières années de mise en service des ouvrages (Erlandsson et al., 1992 ; Künniger & Richter, 1998).

7.2.3. Perspectives

La baisse de l'approvisionnement (due aux réductions d'activité dans l'industrie du charbon), le développement d'autres produits (notamment les CCA), la prise en compte de la Santé Publique et de l'environnement ont nettement fait diminuer l'utilisation de créosote. Sur la période 1968-1977, la quantité de bois traité à la créosote a chuté de 600.000 m^3 à 250.000 m^3 aux USA (Nicholas & Cockcroft, 1982). Cette tendance s'est encore accentuée aux cours des deux dernières décennies.

Certaines équipes de recherche travaillent toujours à l'amélioration des créosotes. Le bois créosoté, de couleur foncée, pose problème lors des inspections de maintenance des ouvrages. Greaves et al (1985) ont résolu ce problème en formulant une créosote (à 65%) additionnée de pigments, stabilisants et émulsifiants (Pigment-Emulsified Creosote : PEC). Le bois traité est beaucoup plus clair et présente une bonne résistance biologique. A noter qu'aucun test toxicologique n'a été pratiqué avec cette PEC. Dans le même esprit, Nagaveni et al. (1998) distillent une créosote ordinaire et récupèrent la fraction volatile dans du kérosène afin de l'utiliser comme solution de traitement. Le bois traité, désormais clair, se montre résistant à l'attaque de Basidiomycètes. Cependant, la nature du solvant et la présence de crésols et de toluidines dans la fraction volatile laissent à penser que les problèmes de toxicité ne sont pas résolus pour autant.

7.3. Pentachlorophénol

Le pentachlorophénol (PCP) et ses dérivés (le plus courant étant le pentachlorophénate de sodium NaPCP) ont été développés aux USA dans les années 1930 et leur utilisation s'est fortement accrue dès les années 1940 (Barnes & Murphy, 1995). Le PCP, en solution dans un

solvant organique, est un excellent fongicide très utilisé contre le bleuissement du bois. Associé à un insecticide et utilisé à plus forte concentration, il protège efficacement le bois à long terme dans des classes de risques élevés.

7.3.1. PCP, manipulateurs et sites de préservation

Le PCP contient des dioxines dont l'hexachlorodibenzo-p-dioxine, toxique et teratogène (Eaton & Hale, 1993). Umemura et al. (1996) ont montré qu'il est inducteur d'hépatocarcinogénèse chez la souris. Même lors de son approche "non-émotionnelle", Ozanne (1995a) reconnaît que le PCP est toxique pour le foetus et qu'il s'agit d'un carcinogène possible pour l'homme. Après avoir dressé la liste de tous les risques présentés par le PCP, il estime toutefois que les moyens de sécurité imposés sont suffisants pour préserver la santé des manipulateurs.

Cependant, les sites de traitement restent souvent dénoncés comme source de pollution (chronique et/ou accidentelle) des sols et des eaux (Mc Neill, 1990 ; Sylvestre, 1993).

7.3.2. Bois traité au PCP

Tout comme la créosote, le PCP n'est pas fixé au bois. Cette "non-fixation" est à l'origine de déplétions du biocide lors de la mise en service du bois. Lorsqu'un ouvrage préservé au PCP est mis en contact avec le sol, le produit de préservation est lessivé de la zone extérieure de la pièce de bois vers le sol. Le PCP restant dans le bois migre (par gravité) vers la région en contact avec le sol, générant ainsi un réservoir de produit prêt à lessiver (Eaton & Hale, 1993). Le bois traité est donc une source de pollution sévère pour les sols et les eaux, le PCP étant extrêmement peu biodégradable (Marchal et al., 1995 ; Wang et al., 1998). Le PCP est aussi volatil à partir du bois traité, mais dans une moindre mesure. Le PCP s'accumule alors dans les écosystèmes où il se révèle être notamment très phytotoxique (Kundzewicz & Wazny, 1992).

7.3.3. Perspectives

De nombreux pays ont introduit la notion de pureté des solutions de PCP. Les impuretés telles que le m-crésol ou le p-crésol conféraient effectivement un taux de toxicité plus élevé aux solutions de préservation (Goodrich-Mahoney et al., 1993 ; Marchal et al., 1995). Le PCP commercialisé doit contenir moins de 4 ppm d'hexachlorodibenzo-p-dioxine (Dir. 91/173/EEC, 1991). Certains auteurs conservent toutefois une approche dédramatisante vis à vis du PCP. Goodrich-Mahoney et al.(1993) considèrent qu'il faut gérer le bois traité comme un produit sans risques. Gifford et al. (1995) ne voient pas le PCP comme un contaminant d'importance en

Nouvelle Zélande, malgré la présence de très nombreux sites de traitement. Enfin, Ozanne (1995a) considère que le bois traité n'est pas un facteur de risques significatif, l'usage du PCP étant limité à des fins industrielles et l'exposition du public étant négligeable. Cependant, ce produit inacceptable d'un point de vue environnemental semble avoir un avenir de plus en plus limité. Aux USA, son utilisation a fortement diminué, passant de 500.000 m^3 à 280.000 m^3 de bois traité entre 1968 et 1977 (Nicholas & Cockcroft, 1982). Cette tendance est générale et s'affirme avec le temps.

7.4. Systèmes à base de chrome-cuivre-arsenic

A l'inverse de la créosote et du PCP, les formulations à base de chrome-cuivre-arsenic ont vu leur consommation passer de 450.000 m^3 à plus d'un million de mètres cube de bois traité, sur la période 1968-1977 aux USA (Nicholas & Cockcroft, 1982). En fait, il n'existe pas une seule formulation, mais plusieurs types de CCA (type A, B, C) pour lesquels les proportions respectives d'oxydes (CrO_3, CuO, As_2O_5) ou de sels ($NaCr_2O_7$, $CuSO_4$) varient (Eaton & Hale, 1993).

Les produits de préservation à base du mélange chrome-cuivre-arsenic (CCA) sont extrêmement performants contre les champignons lignivores, les insectes xylophages et les térébrants marins. Le CCA protège très efficacement le bois mis en service dans des classes de risques biologiques élevés. On recense toutefois quelques pourritures molles dont *Chaetomium globosum*, plutôt tolérantes à ce type de produit et responsables de ruptures de pièces traitées en contact avec le sol (Srinivanan et al., 1998).

7.4.1. CCA, manipulateurs et sites de préservation

Le CCA est inducteur de nombreuses pathologies chez les êtres vivants. L'arsenic est un poison protoplasmique à l'origine de graves disfonctionnements cellulaires. Même si l'opinion publique stigmatise sur les méfaits de l'arsenic, il ne faut en aucun cas sous-estimer ceux du chrome et du cuivre.

Les manipulateurs, exposés aux risques de contamination, doivent se soumettre à des mesures de sécurité strictes. En effet, les intoxications cutanées au CCA provoquent, entre autres, des mélanomes et des leucomélanomes ; les intoxications par inhalation et ingestion sont à l'origine d'un très grand nombre de désordres de santé (Lahiry, 1998a). Les intoxications peuvent être aigües comme chroniques, ce qui est plus pernicieux car le produit se comporte alors comme un poison cumulatif. Ohlson et al. (1995) ont mené une enquête en Norvège et en Suède sur 1042 personnes en poste dans 200 sites de traitement du bois au CCA, pendant 20 ans. Leurs résultats indiquent que lorsque toutes les précautions de sécurité sont prises, le CCA n'a aucune incidence sur le développement de pathologies cancérigènes dans les populations

étudiées. Les auteurs soulignent toutefois que le faible échantillonnage et la période de temps restreinte de leur étude ne permettent pas de conclusion tranchée et définitive.

Les sites de traitement restent, quant à eux, trop souvent une source de pollution chronique des sols et des eaux (Andersen & Rasmussen, 1998).

7.4.2. Bois traité au CCA et désordres écologiques

Le CCA se fixe sur le bois traité et devient théoriquement résistant au lessivage. Cependant, les mécanismes chimiques de fixation sont complexes et une fixation totale est difficile à obtenir. Jin & Preston (1993) estiment que l'expression "produit de préservation fixé" est abusive pour le CCA. De nombreux travaux sont consacrés à l'amélioration de la fixation du CCA dans le bois, trahissant ainsi la connaissance du lessivage de ce biocide dans l'environnement de la part de la communauté scientifique. Ceci représente encore un gros travail de recherche, la fixation du CCA étant influencée par les différences de compositions chimiques entre feuillus et résineux, mais aussi par la variabilité chimique, anatomique et ultra-structurale pour une essence donnée (An et al., 1998 ; Srinivasan et al., 1998). La rétention initiale du CCA doit aussi être adéquate si l'on veut obtenir une fixation correcte. La quantité de chrome et de cuivre doit être suffisante pour que ces deux éléments réagissent tout d'abord avec le bois, puis avec l'arsenic afin de le complexer. Les rétentions recommandées ne doivent pas être inférieures à 1 kg/m^3 (Jin & Preston, 1993). L'excès inverse est tout aussi néfaste : trop de CCA ne conduit pas à une meilleure rétention, les sites de fixation du bois étant saturés.

Le bois traité mis en oeuvre est une source de pollution des sols et des eaux essentiellement. Les éléments chimiques du CCA ne lessivent pas de manière identique : le cuivre présente le plus fort taux de déperdition suivi par l'arsenic, le chrome est l'élément le mieux fixé au bois (Alburquerque & Cragg, 1995 ; Baldwin et al., 1996). La toxicité de ces éléments dépend de la concentration de la fraction métallique biodisponible, toutes les formes n'étant pas absorbées par les organismes (Andersen & Rasmussen, 1998).

Lund & Fobian (1991) ont montré que la mise en service (en contact avec le sol) de bois traité au CCA engendrait des quantités importantes de chrome, cuivre et arsenic dans les sols. Ces éléments sont relativement bien retenus par les horizons de sols riches en carbone organique, où ils s'accumulent. Bien qu'ils soient complexés dans le sol (Hillier et al., 1995), leur migration et leur percolation, souvent observées, contribuent alors à la pollution des eaux souterraines et à leur large redistribution dans les écosystèmes (Lahiry, 1998b).

Si le bois traité est destiné à être en contact avec l'eau (eau de mer en particulier), les rétentions préconisées sont très élevées. Dans la plupart des cas, une charge trop forte en produit se traduit par un lessivage excessif (Alburquerque & Cragg, 1995). Cependant, Baldwin et al. (1996) rapportent que les eaux de lessivage obtenues avec des poteaux traités à

40 kg CCA-type C/m^3 n'avaient pas d'effet négatif sur le taux de survie de l'amphipode *Ampelisca abdita*. Lahiry (1998b) révèle aussi que du pin traité à 20 kg CCA-type C/m^3 n'est le siège d'aucun lessivage pendant 15 ans de service dans des eaux saumâtres au Bangladesh. Alburquerque & Cragg (1995) admettent que les lixiviats de bois traité au CCA ne provoquent pas d'effets mortels aigüs, mais qu'il faut plutôt rechercher des réponses sub-létales au niveau des différents degrés d'organisation des organismes.

Lorsque les éléments du CCA contaminent les sols, les eaux et les sédiments aquatiques, les conséquences sont similaires. Ils sont absorbés par les plantes et ont un impact négatif sur la photosynthèse, donc sur la production primaire (Weis & Weis, 1992 ; Weis & Weis, 1993 ; Bardgett et al., 1994). Ces éléments et leurs effets se transmettent d'un maillon à l'autre des réseaux trophiques. La biomasse et l'activité microbienne sont atteintes (Bardgett et al., 1994), tout comme les organismes benthiques, vers, mollusques et crustacés (Weis & Weis, 1992 Weis & Weis, 1993). Ces organismes croissent moins, plus lentement et présentent souvent des anomalies cellulaires et tissulaires au niveau hépatique et rénal principalement. Chrome, cuivre et arsenic sont aussi génotoxiques. Les espèces dont les gamètes sont relarguées directement dans les eaux contaminées sont le siège de développements anormaux aux stades embryonnaires et larvaires (Alburquerque & Cragg, 1995). Ces métaux, en particulier le cuivre, sont magnifiés par la plupart des organismes lors de leur ascension des chaînes alimentaires. Weis & Weis (1993) démontrent que le cuivre est partiellement éliminé au niveau des poissons, grâce au système de détoxification plus sophistiqué des vertébrés. Ceci ne doit pas occulter le fait que ces poissons présentent toujours un taux de métaux supérieur à la normale.

La présence des éléments du CCA dans l'environnement risque d'éliminer les espèces les plus sensibles à long terme. Cette baisse de la concurrence inter-spécifique va à l'encontre de la bio-diversité naturelle des écosystèmes et peut générer de graves déséquilibres. Pour le moment, même si cette contamination est relativement localisée et de faible amplitude, elle n'en reste pas moins inquiétante.

7.5. Cycle de vie des bois traités (Life-Cycle Assessment)

Au cours des années 1990, l'opinion publique a commencé à s'interroger sérieusement à propos des nuisances industrielles. Les industries se sont mises à développer un nouvel outil : l'évaluation du cycle de vie des produits ou "Life-Cycle Assessment" (LCA). Le LCA est destiné à évaluer l'impact environnemental potentiel des produits, procédés industriels et des activités. Le LCA est basé sur des données scientifiques objectives permettant de comparer matériaux et procédés (Künniger & Richter, 1998). Pour un produit donné, on considère une approche dite "du berceau à la tombe". Il s'agit d'identifier les matériaux, l'énergie et les déchets associés à un produit à tous les stades de sa vie, afin d'évaluer l'impact global sur

l'environnement. Le LCA, outil crucial d'aide à la décision, permet de déterminer les problèmes les plus pressants et les opportunités d'amélioration.

Pour les produits en bois préservé chimiquement, le LCA prend en compte les matières premières, les procédés de mise en oeuvre, la mise en service, l'entretien, les déchets en fin de vie (destruction ou recyclage éventuel) (Erlandsson et al., 1992).

Dans les LCA où l'on compare le bois préservé à d'autres matériaux (aluminium, béton, acier), les conclusions sont récurrentes :

- (1) en dépit de l'exploitation forestière (utilisation éventuelle de fertilisants et de pesticides, consommation d'énergie fossile lors des travaux sylvicoles, de l'abattage, du transport), le bois en tant que matière première a un impact très bénéfique sur l'environnement. Une forêt convenablement exploitée présente un bilan photosynthétique positif. Le bois, en fixant le CO_2 atmosphérique permet de lutter efficacement contre l'effet de serre (Erlandsson et al., 1992 ; Esser & Van der Voet, 1998 ; Wegener & Zimmer, 1998) ;
- (2) la préservation du bois lutte contre la perte de surface et la dégradation des écosystèmes forestiers en augmentant la durée de vie des produits (Esser & Van der Voet, 1998) ;
- (3) les opérations de préservation sur les sites de traitement n'ont que peu d'impact si elles sont bien gérées et si toutes les précautions sont prises (Barnes & Murphy, 1995) ;
- (4) le bois traité mis en service est trop souvent écotoxique à cause du passage des produits de préservation (principalement créosote, PCP et CCA) au niveau des sols, des eaux et de l'air (Erlandsson et al., 1992 ; Künniger & Richter, 1995 ; Hillier et al., 1995 ; Künniger & Richter, 1998) ;
- (5) le bois traité chimiquement arrivé en fin de vie représente des déchets difficiles à gérer. Felton & de Groot (1996) estiment que la quantité de déchets de bois traités à la créosote, au PCP ou au CCA atteindra 19 x 10^6 m^3/an en 2020 aux Etats-Unis. Il devient donc impératif de trouver des solutions.

En termes de gestion de déchets de bois traité, l'idéal serait de brûler ces produits afin de récupérer l'énergie du bois, mais leur contenu en produits de préservation interdit souvent cette pratique. Les bois traités au CCA, en particulier, génèrent des émissions très toxiques dues à la forte teneur en arsenic des cendres volantes et à la présence d'arsenic gazeux As_4O_6 (Hirata et al., 1993 ; Mouras et al., 1996).

Lorsque les produits en fin de vie ne sont pas trop dégradés, leur réutilisation est possible en tant que matériau dans des classes de risques moins élevées (Matthews, 1997). Les sciures obtenues lors de l'usinage de nouvelles pièces de bois peuvent amender les sols. Des sciures de bois traité au CCA (rétention initiale 12,3 kg/m^3) utilisées en mélange avec le sol (sol/sciure : 9/1 v/v) n'ont pas d'effet néfaste sur la croissance des plantes et augmentent la fixation d'azote atmosphérique chez le trèfle fourrager (Speir et al., 1992). Mouras et al. (1996)

mettent toutefois en doute ce type de résultats en stipulant que la dispersion de sciures de bois traité au CCA n'est pas sans risque pour l'environnement.

Le bois chimiquement préservé arrivé en fin de vie peut être réutilisé dans des matériaux composites lesquels seraient alors protégés des attaques biologiques. Mais, ce type de recyclage soulève plusieurs problèmes (Felton & de Groot, 1996) :

- (1) l'exposition des manipulateurs aux sciures, poussières et fumées toxiques ;
- (2) la vaporisation des produits organiques contenus dans le bois lors de l'usinage (températures élevées au niveau des lames) ou lors du pressage des composites ;
- (3) les eaux usagées issues des opérations de fabrication éventuellement chargées de produits de préservation ;
- (4) la mauvaise adhésion entre fibres de bois et colle due aux interférences des produits de préservation.

Vick et al. (1996) ont recyclé des pièces de pin traité au CCA (rétention 9,6 kg/m^3), mais les panneaux obtenus présentaient de très médiocres propriétés mécaniques. Munson & Kamden (1998) constatent que les modules d'élasticité et de rupture de tels panneaux décroissent lorsque la proportion de particules traitées au CCA augmente. Par ailleurs, ces auteurs appliquent le postulat suivant : les panneaux obtenus par ce type de recyclage peuvent être mis en oeuvre dans une classe de risques élevés car ils sont issus d'un bois bien préservé. Cela peut sans doute s'appliquer à l'échelle de leurs expériences pour lesquelles les rétentions initiales sont connues. A l'échelle industrielle, la quantité de produit de préservation résiduelle dans les bois à recycler, et, l'hétérogénéité de rétention et de distribution des produits dans le bois traité (différence aubier/duramen) conduiront certainement à une affectation problématique des nouveaux produits dans une classe de risques définie.

Ces déchets peuvent aussi être décontaminés par un traitement chimique et/ou par un bio-traitement (utilisation de micro-organismes détoxifiants), le but ultime étant de récupérer du bois "propre" recyclable dans des matériaux composites, papiers ou cartons (Mouras et al., 1996 ; Labat, 1998 ; Messner & Böhmer, 1998). Les extractions chimiques du CCA à partir de bois traité sont actuellement obtenues avec succès à l'échelle du laboratoire. Alors que Kazi & Cooper (1998) réussissent à extraire 90% du CCA initialement contenu dans du bois traité, Kamden et al. (1998) en éliminent 95% à 100% avec la possibilité de réutiliser les éléments du CCA. Le passage à l'échelle industielle et la réalisation de composites avec ces panneaux reste à effectuer.

Créosote, PCP et CCA sont donc des produits de préservation du bois à large spectre d'action et à très forte efficacité. Leur mise en oeuvre se révèle problématique à cause de leur indéniable toxicité. Créosote et PCP sont de moins en moins utilisés mais le cubage de bois en service traité avec ces produits n'en reste pas moins important. Le CCA a en partie remplacé

créosote et PCP. Il est le produit le plus largement utilisé dans les classes de risques 3, 4, 5. Bien que certains avis soient contradictoires, il est difficile de nier les problèmes qu'il cause.

L'inquiétude face à la dégradation de l'environnement appuyée par les données éco-toxicologiques relatives à ces produits fait ressentir un besoin pressant de moyens de préservation du bois alternatifs.

8. Alternatives

8.1. Nouvelles considérations en préservation du bois

Le nombre croissant de publications à propos des réglementations et restrictions appliquées aux produits de préservation lors des congrès internationaux "The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation" (CTBA-ADEME-IRG, 1990, 1993, 1995, 1998) traduit une réelle prise en compte des problèmes toxicologiques et écologiques. Tout ceci incite à trouver des alternatives industriellement et économiquement viables. La considération de l'environnement fait désormais partie intégrante de toute stratégie commerciale lors du développement de nouveaux produits ou de nouvelles technologies (Aloisi de Larderel, 1993).

Si l'on adopte une approche "efficacité-sécurité", le paramètre principal reste la toxicité (Ozanne, 1995b). Un produit de préservation doit protéger le bois des organismes destructeurs : sa toxicité se traduit alors en terme d'efficacité face à ces organismes cibles. Un maximum de résidus doit rester dans le bois (pour un minimum de déplétion) afin d'assurer une efficience totale pendant un temps de service souhaité. Idéalement, ce produit doit présenter une toxicité réduite à un taux minimum acceptable pour l'environnement et les organismes non-cibles. Ces arguments antinomiques révèlent le dilemme de la préservation chimique classique du bois.

On remarque que la classe de risques 3 est un créneau où la demande est de plus en plus importante. Le bois traité chimiquement est utilisé de manière prédominante dans cette classe de risques et cette tendance est de plus en plus marquée (Preston, 1994). Molnar (1997) souligne un changement d'intérêt de la part des industries : leurs préoccupations sont désormais plutôt orientées vers cette classe de risques où il devient urgent de développer de nouveaux concepts. Traditionnellement, les produits utilisés comme traitement préventif en classe de risques 4 sont utilisés à des rétentions moindres en classe de risques 3. Le public étant souvent exposé au bois traité destiné à cette classe de risques (menuiseries extérieures, mobilier de jardin, aires de jeux,...), et, chaque classe présentant un degré de challenge biologique particulier, les moyens de préservation à envisager pour cette classe devront rester à large spectre d'action mais être

beaucoup plus sûrs vis à vis des utilisateurs et de l'environnement (Evans, 1995 ; Kakaras & Voulgaridis, 1997 ; Molnar, 1997).

8.2. Travaux d'approche

Afin que la préservation du bois ne devienne pas un anathème des temps modernes, de nombreux travaux ont été réalisés ou sont en cours, en vue d'apporter les améliorations souhaitées précédemment.

On peut établir un tour d'horizon des approches en préservation du bois (d'après Barnes & Murphy, 1995) :

- Développement de nouveaux produits de préservation

Beaucoup de produits ont été formulés pour être utilisés en remplacement des produits les plus dangereux. Les systèmes à base de chrome et de cuivre parmi lesquels on trouve chrome-cuivre-fluor (CCF), chrome-cuivre-bore (CCB), chrome-cuivre-phosphore (CCP) sont déjà commercialisés depuis très longtemps et se montrent efficaces. Cependant, le chrome est déjà sujet à de nombreuses restrictions (Evans, 1995) et le cuivre, métal lourd, reste un problème potentiel.

Parmi les autres produits de préservation commercialisés les plus courants, on trouve : les systèmes chrome-zinc, les systèmes cuivre-zinc, les composés alkyl-ammonium (dont les sels d'ammonium quaternaires) et les composés organotin dont l'oxyde de bis tri-n-butyltin (TnBTO). La liste établie n'est pas exhaustive et nous n'avons pas fait mention de toutes les innovations non commercialisées.

A signaler aussi, le développement de nouveaux produits de préservation ayant pour principe actif des bio-molécules naturellement présentes dans les essences durables (Haluk & Roussel, 1998).

- Associations de barrières chimiques et physiques

L'utilisation de barrières physiques (peinture, finition,...) pour éviter la prise d'eau dans le bois se pratique depuis longtemps, mais certaines initiatives plus originales consistent à associer un produit chimique à un élément physique. Ainsi, Baecker (1997) associe un traitement à la créosote avec un film plastique particulier ("field-liner") au niveau de la zone en contact de bois-sol, afin d'empêcher tout lessivage. On peut aussi citer la société Cecil (Chasse sur Rhône, France) qui commercialise un film à base de polyéthylène basse densité, extrudé et soufflé sur lequel de la perméthrine est greffée (Boix, 1996). Ce film sert de barrière préventive anti-termites au niveau des fondations de bâtiments. Il permet de réduire la quantité nécessaire d'insecticide pour traiter les surfaces et empêche son lessivage dans le sol.

- Utilisation du génie génétique

Viitanen et al. (1998) ont montré l'influence du génotype sur la durabilité naturelle du mélèze. Le génie génétique permet d'isoler les gènes responsables de la duraminisation et de la production de substances protégeant le bois des agresseurs biologiques. Après isolement et compréhension des mécanismes d'expression et de régulation de ces gènes, il serait théoriquement possible de les introduire chez des individus non résistants afin d'augmenter leur durabilité (Van Doorsselaere et al., 1998). A la vue de cette théorie, on est en droit de se poser la question suivante : les chercheurs souhaitent un bois globalement plus riche en extraits, mais si l'aubier est affecté par ces transformations génétiques et si ses caractéristiques chimiques se rapprochent de celles du duramen, quels seront les problèmes physiologiques encourrus? Et quelle sera la qualité des bois obtenus? Ceci dit, le génie génétique reste définitivement une approche différente et innovante de la préservation du bois.

- Contrôle biologique

Il est possible d'utiliser des antagonismes biologiques afin de contrôler les organimes destructeurs du bois. Des essais à court terme entre champignons du bleuissement et bactéries ont réussi à empêcher la discoloration du bois. Mais, le contrôle biologique présente certains inconvénients : les organismes antagonistes doivent être peu exigeants ce qui restreint les choix ; il ne s'agit pas d'une méthode à large spectre d'action ; le comportement à long terme des organismes antagonistes présente des risques potentiels pour l'équilibre des écosystèmes (Radtke et al., 1994 ; Bézert, 1996). Aucune commercialisation de ce type de méthode n'a encore été effectuée.

- Amélioration de la stabilité dimensionnelle du bois

Les organismes lignivores ont besoin d'eau pour coloniser le bois et le dégrader. En stabilisant dimensionnellement le bois, on diminue son caractère hygroscopique et on en fait un matériau moins propice au développement de micro-organismes. Deux voies émergent dans cette approche : les modifications chimiques et thermiques.

* Modifications chimiques du bois

Les réactions les plus étudiées sont l'estérification, l'acétylation et le greffage de chaînes isocyanates (Rowell, 1991).

* Modifications thermiques du bois

Il s'agit d'appliquer une pyrolyse ménagée avec des conditions précises de température, de pression, d'atmosphère et de temps. La cellulose reste intacte lors du chauffage. Les hémicelluloses subissent un cracking et leurs intermédiaires réactifs sont capables de s'associer aux intermédiaires réactifs issus de la lignine. Cette combinaison forme une pseudo-lignine résistante à l'eau. La lignine se comportant comme un matériau incrustant au niveau des parois

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

cellulaires, la cellulose devient moins apte à la reprise d'eau (Boonstra et al., 1998, Tjeerdsma et al., 1998, Duchez & Guyonnet, 1998). La modification thermique d'essences périssables les rend durables face à l'attaque de Basidiomycètes.

Le besoin d'alternatives en préservation du bois est bien réel et devient de plus en plus pressant. Notre approche ne s'inscrit pas exactement dans l'une des catégories évoquées précédemment. Nous avons choisi de formuler un produit de préservation du bois à base de bore. Ce principe actif entre déjà dans la composition de certains produits contrôlant les biodégradations causées par les micro-organismes et les insectes. Le bore est, par ailleurs, reconnu pour sa faible toxicité envers l'environnement et les mammifères. Cependant, bien que cet élément soit à même de traiter efficacement le bois, il ne reste pas fixé au niveau du matériau ligneux si ce dernier est soumis à une forte humidité. La solubilité naturelle du bore génère la dualité suivante : le bore imprègne facilement le bois même dans le cas d'essences réfractaires, mais ce biocide (non fixé aux parois cellulaires) en ressort tout aussi aisément lors du lessivage. Ainsi, lorsqu'il est utilisé seul, sa déplétion limite ses utilisations dans des classes de risques peu élevés où l'humidité n'est jamais un facteur prédominant.

L'idéal serait de pouvoir utiliser le bore comme principe actif d'un produit de traitement du bois. Cet élément, pour une efficacité à long terme, devrait être fixé dans le bois et y rester actif afin que son lessivage soit minimal, même lors de sa mise en service dans une classe de risques élevés. Un tel système serait un concurrent sérieux pour tous les produits toxiques de préservation du bois.

II Bore et protection du bois

Après quelques généralités sur le bore, nous considérerons plus en détail ses potentialités en préservation du bois, en termes de toxicité, efficacité face aux organismes lignivores, procédés de traitement et LCA des bois traités. Nous donnerons aussi un aperçu des moyens actuellement mis en oeuvre pour limiter son lessivage.

1. Généralités

Le bore (B) de numéro atomique Z=5 et de masse atomique=11, possède deux isotopes naturels ^{10}B (18%) et ^{11}B (82%). Sa structure électronique ($1s^2$, $2s^2$, $2p^1$), le fait appartenir au

groupe IIIb de la classification périodique des éléments. Il s'agit du seul non-métal de ce groupe, et malgré ce que laisse présager sa structure électronique, le bore est trivalent. Suivant une règle générale, en tant que premier élément d'une colonne de la classification, le bore se différencie des éléments qui le suivent. En particulier, il ne donne pas d'ion positif et se comporte donc comme un acide de Lewis. Le bore n'existe pas sous sa forme élémentaire dans la nature. On le rencontre essentiellement oxydé, sous forme d'acide borique ou de borates tel que le borax. Ces composés sont largement utilisés dans la métallurgie, la galvanoplastie, la composition de verres borosilicatés, la fabrication d'émaux, l'élaboration de produits de blanchiment (perborates) pour le papier et les lessives,... (Bernard, 1990).

Le bore est très largement distribué dans l'environnement. Il constitue 0,001% de la croûte terrestre. Il est présent à raison de 3 à 10 µg/g dans les sols, environ 4,5 µg/g dans les océans et 0,01 µg/g dans les eaux douces, et se trouve dans les tissus végétaux et animaux (Lloyd, 1998). Sous forme d'acide borique ou de borates, c'est un élément essentiel pour toutes les plantes vasculaires car il est indispensable à l'accomplissement de leur cycle de vie, et, ne peut pas être remplacé par aucun autre élément. Ses fonctions particulières restent toutefois à définir. Présent aussi dans les tissus animaux, il vient d'être tout récemment reconsidéré comme un élément trace probablement essentiel (Lloyd, 1998). Sur le plan de la physiologie humaine, il a des effets bénéfiques sur le métabolisme calcique en prévenant la perte osseuse. Il intervient aussi au niveau du système nerveux central. Des régimes alimentaires pauvres en bore se traduisent par des performances sensitivo-motrices et cognitives réduites. Une privation de bore diminue la vigilance mentale (Haizoun, 1997).

2. Toxicité

Bien que le bore soit présent dans les tissus végétaux et animaux, si sa concentration devient trop élevée, il s'avèrera toxique pour toutes les cellules (Lloyd, 1998).

2.1. Toxicité aquatique

L'acide borique est l'espèce prédominante en milieu aquatique, provenant de la dissociation des composés borés. Les végétaux aquatiques sont généralement tolérants pour des concentrations allant jusqu'à 10 mg de B/l d'eau. Dans ces conditions, les organismes sensibles à la pollution et utilisés pour les tests d'éco-toxicité, telles que les daphnies, ne sont pas affectés. Lors du traitement des eaux usagées, le bore n'a aucun effet sur les bactéries et sur la DBO-5 (Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours) en deçà de 180 µg de B/l eau. Sa

toxicité vis à vis des poissons varie. La truite arc-en-ciel, espèce particulièrement sensible, tolère des concentrations en bore de 150 mg de B/l eau (Rainer, 1995).

Il est très important de signaler que le bore n'est pas concentré dans les organismes lors de son ascension des niveaux trophiques des écosystèmes (Rainer, 1995).

2.2. Toxicité vis à vis des végétaux

Au niveau mondial, on estime à 8 millions d'hectares les sols déficients en bore. Cet élément étant essentiel pour les plantes vasculaires et afin d'obtenir des rendements agricoles convenables, on applique des fertilisants à raison de 0,5 à 3 kg de B/ha (Lloyd, 1998). De nombreuses plantes sont capables de tolérer de grandes quantités de bore. On peut toutefois estimer que des teneurs de 100 à 1.000 mg de B/kg de matériel végétal sec, constituent un excès de bore (Rainer, 1995).

2.3. Toxicité vis à vis des mammifères

On donne, dans le tableau 3, les quantités létales de bore pour le rat. Aucune preuve d'effets carcinogènes ou mutagènes dûs au bore n'a encore été reportée (Rainer, 1995 ; Lloyd, 1998).

Tableau 3. Dose létale (LD_{50}) correspondant aux composés borés et à quelques produits courants (d'après Tan, 1991 ; Rainer, 1995).

	LD_{50} pour le rat (mg de produit/kg de masse corporelle)
Borax	4.500-6.000
Acide borique	3.000-4.000
Sel de table	3.000
Aspirine	1.000
Nicotine	53

La consommation journalière de bore d'un humain ayant un régime alimentaire normal est de 1,5 à 3 mg de B/jour. Une consommation de 18 mg de B/kg de masse corporelle/jour peut encore être considérée comme non toxique pour les mammifères, mais serait la limite d'intoxication chronique (Lloyd, 1998).

Le bore est absorbé par le tractus gastro-intestinal, la peau lésée, les plaies et les muqueuses (Haizoun, 1997). Il est excrété par voie rénale essentiellement. La demi-vie biologique du bore (600 mg injectés par voie intra-veineuse chez l'homme adulte) est de 21 heures, tout le bore étant évacué par voie urinaire après 95 heures (Rainer, 1995 ; Haizoun, 1997). Cet élément n'a pas tendance à s'accumuler chez l'homme, ce n'est donc pas un élément générant des intoxications chroniques.

Une ingestion massive de 15 g à 20 g d'acide borique (soit 2,6 g à 3,5 g de bore) s'avère particulièrement nocive, et potentiellement mortelle pour un homme adulte. Une intoxication aigüe au bore peut être à l'origine d'un collapsus respiratoire, d'une stimulation excessive du système nerveux central, de désordres hépatiques et gastro-intestinaux. Haizoun (1997) rapporte deux cas de tentatives de suicide à l'acide borique : 21 g ingérés par une femme de 26 ans et 14 g ingérés par une femme de 44 ans. Ces personnes ont été sujettes à des vomissements et diahrées très importantes, sans pour cela passer de vie à trépas !

Sur la période 1991-1994, le centre anti-poison de Lyon indique que sur 74.000 appels, seulement 54 concernaient une intoxication aux antiseptiques acides. Dans tous les cas, les signes cliniques sont rares (12%) et bénins. A moins d'être volontaires ou de provenir d'erreurs thérapeutiques sévères, les intoxications aigües au bore sont très rares (Haizoun, 1997).

3. Composés borés en préservation du bois

Le bore est considéré comme un principe actif acceptable pour l'environnement et très peu toxique pour les mammifères. D'un point de vue législatif, il n'est pas classé parmi les substances dangereuses en préservation du bois (Rainer, 1995). Les composés borés sont des produits capables d'entrer facilement dans le bois et d'y diffuser. Ils servent aux traitements préventifs et curatifs du bois. Lorsque le bois est utilisé dans des bâtiments, les produits de préservation doivent lui conserver son aspect d'origine et ne pas être toxiques pour les organismes non-cibles. Les composés borés deviennent alors des candidats parfaits pour ce type d'usage : ils sont incolores, inodores et extrêmement peu toxiques. Ils assurent une protection efficace contre les insectes et les champignons. Leur action s'inscrit dans un plus ou moins long terme en fonction de la classe de risques dans laquelle sera placé l'ouvrage traité, le bore étant particulièrement lessivable (Williams, 1990 ; Tan, 1991 ; Mitchoff-Puettman & Williams, 1992).

Le bore se trouve combiné à d'autres biocides dans de nombreuses formulations, la raison principale étant d'essayer ainsi de limiter son lessivage. Il est parfois ajouté à du CCA-type C (formant du BCCA) afin de remplacer une certaine quantité d'arsenic, d'améliorer la pénétration du cuivre et d'augmenter l'efficacité biocide (face aux termites notamment) (Kumar

& Morrell, 1990 ; Kumar et al., 1991). Il existe aussi de nombreuses formulations commerciales de type Chrome-Bore, Zinc-Bore, Cuivre-Bore, et les très répandus Chrome-Cuivre-Bore (CCB) de plus en plus utilisés en remplacement du CCA.

Dans notre étude, nous ne considérerons que les produits de préservation dont l'unique principe actif est le bore. Les composés borés inorganiques les plus utilisés en préservation du bois sont : l'acide borique (H_3BO_3), le borax ou disodium tétraborate décahydrate ($Na_2B_4O_7$, 10 H_2O), et un mélange quasi équimoléculaire d'acide borique et de borax correspondant au disodium octaborate tétrahydrate (DOT) ($Na_2B_8O_{13}$, $4H_2O$) (Cockcroft & Levy, 1973). De manière plus marginale, des esters d'acide borique (Romero et al., 1995) et des acides boroniques (Liu et al., 1994 ; Yalinkilic et al., 1998a) sont aussi utilisés comme produits de préservation.

Nous parlerons de composés borés de façon générale, en précisant acide borique ou borates si nécessaire. Afin de pouvoir apprécier l'efficacité de ces produits sur une base objective, les concentrations, rétentions et seuils de toxicité sont exprimés en équivalent acide borique (Boric Acid Equivalent, BAE). Le BAE est habituellement exprimé en % (p/p) ou en kg/m^3.

4. Mécanismes d'action du bore dans le contrôle des biodégradations

L'acide borique et les borates forment des complexes stables (mono et di-esters) avec les groupements ortho-dihydroxylés et avec les groupements α-hydroxy-carboxyliques (Lloyd et al., 1990) (figure 8). En complexant les di-ols, les composés borés agissent directement sur des molécules biologiques importantes. Ces réactions réduisent la bio-disponibilité des substrats extra et intra-cellulaires. Ceci affecte alors l'acticité biosynthétique des cellules et a pour conséquence ultime de les "affamer" (jusqu'à la mort cellulaire éventuellement). Le bore a donc des effets plutôt biostatiques.

Si cette complexation a lieu au niveau de co-enzymes et de vitamines, les fonctions enzymatiques sont alors inhibées. Les coenzymes (oxydées) NAD^+ (nicotinamide adénine dinucléotide) et $NADP^+$ (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) semblent être parmi les plus affectés (Lloyd, 1993).

Ces complexes peuvent se former aussi au niveau membranaire, perturbant alors les flux cellulaires. Un résumé des modes d'action des borates est proposé dans la figure 9.

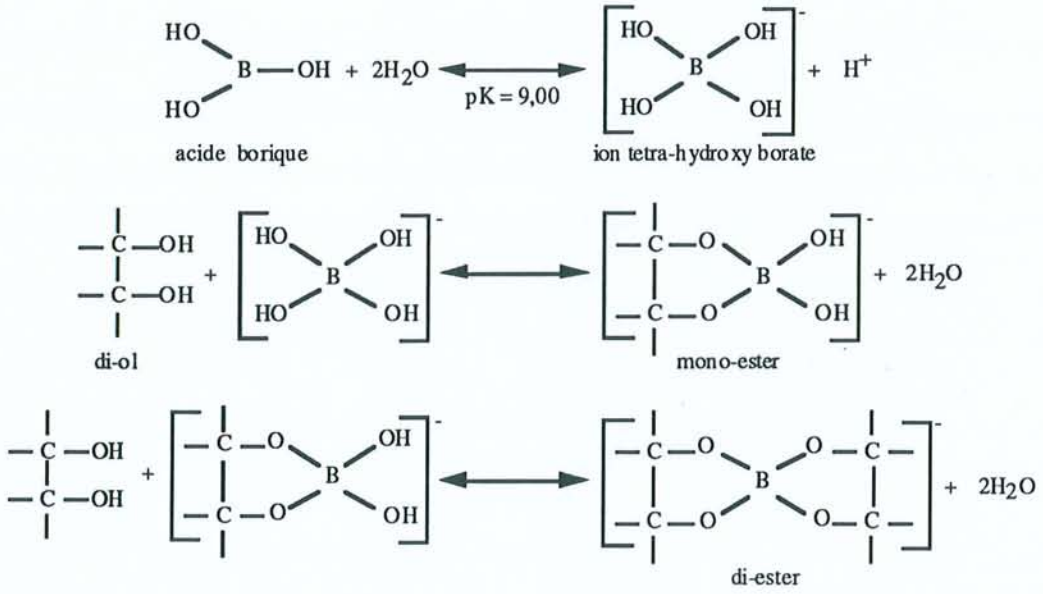


Figure 8. Complexation des borates (mono et di-esters) avec des groupements ortho-dihydroxylés en solution aqueuse (d'après Lloyd et al., 1990).

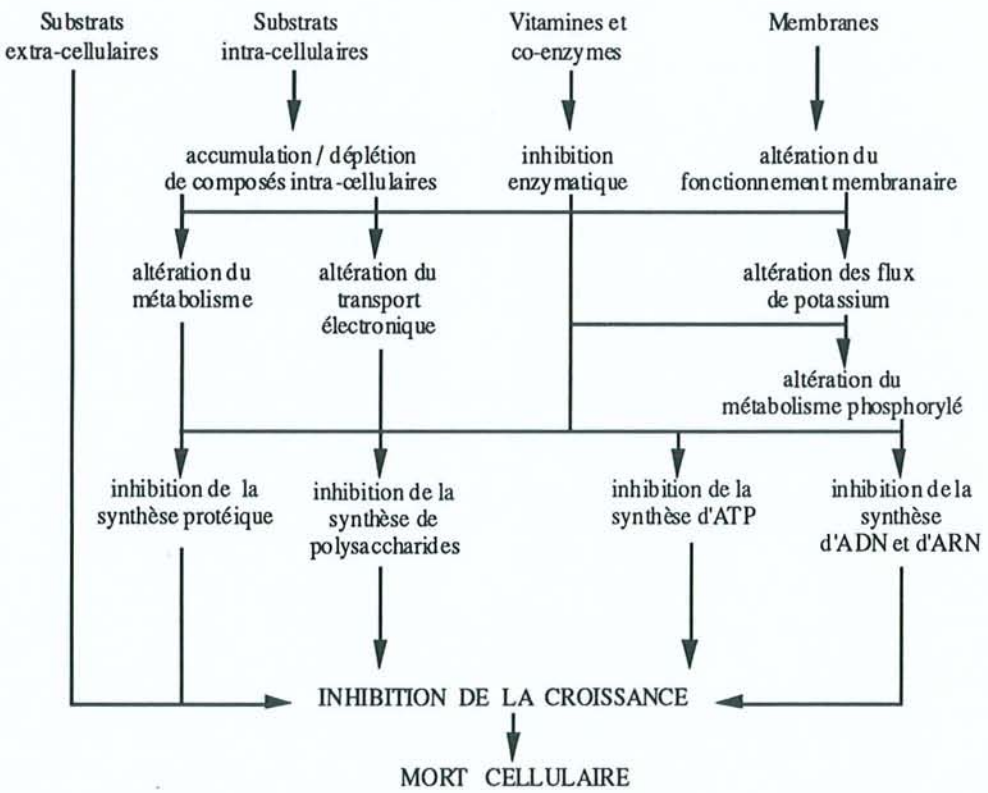


Figure 9. Effets sur les cellules de la complexation des borates avec les poly-ols (d'après Lloyd et al. , 1990).

5. Propriétés anti-bactériennes du bore

L'acide borique et le borax sont des agents anti-bactériens. Ils sont notamment efficaces contre *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas sp.* (Haizoun, 1997 ; Lloyd, 1998). Leur pouvoir antiseptique est utilisé à des fins thérapeutiques pour soigner certaines mycoses, les infections urinaires, l'herpès labial, les candidoses vulvo-vaginales, et les otites externes (Haizoun, 1997). Ces anti-microbiens entrent souvent dans les préparations cosmétiques (usage externe) et pharmacologiques. Ainsi, on les trouve dans les préparations ophtalmiques (de 0,5% à 5% Boric Acid Equivalent, BAE), dans les solutions d'hygiène buccale (à 0,5% BAE) et dans certains cosmétiques (à 3% BAE maximum et pour les talcs à 5% BAE maximum) où ils assurent aussi la fonction d'astringent léger et d'émulsifiant (Rainer, 1995 ; Haizoun, 1997).

C'est seulement en 1962 que l'acide borique et les borates ont cessé d'être utilisés comme conservateurs alimentaires (pour les coquillages, la viande, la margarine). (Rainer, 1995).

Lloyd (1998) indique que le bore est capable de contrôler la dégradation bactérienne du bois, mais aussi d'éviter la propagation de ces micro-organismes dans les finitions appliquées au matériau.

6. Propriétés insecticides du bore

Dans leur revue bibliographique extensive, Cockcroft & Levy (1973) signalent que l'acide borique et les borates ont été utilisés avec succès et préconisés comme traitement préventif contre les attaques de lyctus dès les années 1940 en Australie. Williams & Amburgey (1987) estiment qu'un traitement par trempage/diffusion avec du disodium octaborate tétrahydrate (DOT) reste encore le moyen le plus efficace et le plus économique pour lutter contre ces insectes. En Europe, les composés borés ont commencé à être utilisés dans la décennie 1940-1950 pour protéger le bois contre les capricornes et les vrillettes (Cockcroft & Levy, 1973).

En fait, ces produits sont efficaces contre tous les insectes xylophages et nidificateurs (Barnes et al., 1989 ; Potter, 1992 ; Cassens & Schmidt, 1998), y compris les termites (Cockcroft & Levy, 1973 ; Drysdale, 1994). Le consensus général veut que le bore protège le bois des termites mais à des rétentions plus élevées que celles préconisées pour les coléoptères. De plus, la sensibilité des termites varie selon leur genre. Le bore est très toxique pour les genres *Coptotermes* et *Zootermes*. *Nasutitermes* représente le genre le plus résistant à cet élément (Eaton & Hale, 1993 ; Mankowski & Morrell, 1993). Le bois traité au DOT est bien

protégé contre *Coptotermes formosanus*, espèce très destructrice. C'est le traitement communément adopté à Hawaï contre ces termites qui occassionnent des dégâts économiquement considérables (Grace et al., 1992 ; Grace & Yamamoto, 1994a). Toutefois, pour une même espèce de termites, on rencontre fréquemment des variations d'efficacité selon les saisons et selon les colonies d'insectes (Peters & Allen, 1993).

Bien qu'à l'issue d'un test avec du bois protégé par des borates (borax 60%-acide borique 40%, rétention 1,2% BAE p/p), Hertel (1995) mette en évidence un effet répulsif retardé sur *Heterotermes indicola*, cet effet n'a pas été rapporté dans d'autres études. Les termites détruisent, en général, une infime partie du bois traité avant d'en mourir. De tels comportements génèrent des dégâts surtout esthétiques mais sont sans danger majeur pour les structures (Lloyd, 1998).

7. Activités anti-fongiques du bore

7.1. Champignons de discoloration et moisissures

Une des premières utilisations du bore en tant que fongicide fut de lutter contre le bleuissement du bois (Cockcroft & Levy, 1973). Ce traitement préventif par trempage/diffusion ou par aspersion est bien adapté car il est efficace, simple et économique. La protection demandée est généralement de courte durée donc compatible avec le lessivage du bore à partir d'un bois traité.

William & Amburgey (1987) estiment que le bore n'assure pas de protection efficace contre les moisissures, mais Croan (1994) montre qu'à 10% BAE, il est capable d'inhiber la germination de spores de nombreux champignons de discoloration et de moisissures. Cette activité a été vérifiée en boîtes de Pétri, sur des éprouvettes de bois lors de tests en milieu gélosé et en champ ; la meilleure protection étant corrélée avec la plus forte concentration de bore (soit 10% BAE dans cet essai).

Lorsque le bois est traité avec des borates par trempage/diffusion, de nombreux auteurs constatent un développement de moisissures en surface pendant le temps de diffusion (stockage long, de l'ordre du mois). Afin d'éviter ceci, on ajoute communément un produit anti-moisissures compatible avec la formulation borée (Morris & Byrne, 1997). Les co-biocides les plus souvent utilisés sont : le DDAC (chlorure de didécylméthylammonium) à 1% (Morris et al., 1997), le mélange méthylène-bis(thiocyanate) et 2(thiocyanométhylthio)benzothiazole à 1% (Williams & Parresol, 1991 ; Chen et al., 1997) et le NaPCP jusqu'à 1% (Presnell & Nicholas, 1990). Balasundaran & Gnanaharan (1990) montrent qu'un traitement par trempage/diffusion à 10% BAE est très efficace vis à vis des champignons du bleuissement mais pas des

moisissures. Après 1 mois de diffusion (stockage sous plastique), les moisissures sont absentes de seulement 2% de la surface des pièces de bois. L'ajout de 0,5% de NaPCP à la solution initiale de traitement ramène à 98% la surface du bois exempte de colonisation par ces micro-organismes.

L'efficacité parfois faible du bore face aux moisissures peut être due à deux phénomènes non exclusifs. Le traitement se fait habituellement par trempage/diffusion ou par aspersion du bois. Les pièces de bois sont souvent volumineuses, d'où un ratio surface/volume beaucoup moins important que celui des éprouvettes utilisées en laboratoire. Si la diffusion du bore dans la section des pièces est importante, il restera moins de principe actif en surface. Il en résultera alors une quantité de bore souvent insuffisante pour inhiber totalement la croissance des organismes colonisateurs (Laks et al., 1993). De plus, le bois à traiter contient (dans l'aubier) une certaine quantité de sucres (dont glucose et fructose), poly-ols se complexant avec les borates. L'effet engendré s'apparente à une antidote, abaissant la quantité de bore libre capable d'inhiber la croissance des micro-organismes (Lloyd et al., 1990 ; Lloyd, 1993).

7.2. Basidiomycètes

Les composés borés ont une efficacité démontrée contre les champignons Basidiomycètes au niveau de tests en laboratoire et du bois en service. Au cours de divers essais en laboratoire, certains Basidiomycètes dont *Coniophora puteana*, *Coriolus versicolor*, *Gloeophyllum trabeum*, *Lentinus lepidius* et *Poria sp.* ont montré une tolérance au cuivre, aux arsenates, au pentachlorophénol, à la créosote. Ces micro-organismes ont donc été utilisés pour évaluer l'efficacité du bore. Aux rétentions habituellement prescrites en traitement préventif du bois, aucun de ces organismes ne s'est révélé être tolérant au bore (Drysdale, 1994 ; Lloyd, 1998).

Les composés borés sont utilisés pour préserver le bois vert et le bois sec. Lors du stockage et de l'écorçage des grumes fraîches, en plus des champignons de discoloration et des moisissures, on constate assez souvent un début de colonisation par les Basidiomycètes. Ces derniers sont plus problématiques car ils détruisent véritablement le matériau ligneux. Il est impératif de les éliminer, d'autant plus que Wilcox & Dietz (1997) ont montré que les Basidiomycètes colonisant le bois en service (classe de risques 3 principalement) sont déjà présents dans le bois frais. On traite alors le bois avec des produits borés, méthode alternative à la fumigation (coûteuse et toxique) et à la stérilisation (Morrell et al., 1991 ; Lahiry, 1995).

7.3. Pourritures molles

Le bore peut faire face aux premiers stades de colonisation microbienne pour un ouvrage en bois mis en service dans une classe de risques 4. Mais des éprouvettes traitées au bore et

mises en contact avec le sol ne sont pas préservées de la destruction due aux pourritures molles (Williams & Amburgey, 1987). Lors de tests où le bois est en contact avec le sol, le taux de déplétion du biocide est tel qu'il redevient rapidement un substrat trophique potentiel pour les pourritures molles (organismes typiques de cette classe de risques). Drysdale (1994) rapporte toutefois que, même si le bore est largement lessivé à partir d'un bois traité en contact avec le sol, on constate (de manière inexpliquée) que ce bois présente une durabilité améliorée de quelques années par rapport à un bois témoin.

Les produits borés sont classiquement utilisés dans les industries de préservation du bois. Ils imprègnent facilement le matériau ligneux et sont utilisés pour ses traitements préventifs et curatifs.

8. Traitement du bois par des composés borés

8.1. Rétention et distribution du bore dans le bois

Lors des traitements du bois, la rétention initiale du bore doit être suffisante, afin d'atteindre les seuils de toxicité pour les organismes destructeurs du bois. La solubilité du bore est thermo-dépendante (3,60g H_3BO_3/100g eau à 10°C contre 5,15g H_3BO_3/100g eau à 20°C) (Pascal, 1961). Il est donc important que la température reste constante lors des cycles de traitement. Une précipitation due à une baisse de température diminue la concentration en biocide dans la suspension aqueuse et entraîne une évaluation erronée des rétentions initiales (Williams & Parresol, 1991 ; Barnes et al., 1993).

De plus, la pénétration du bore dans le bois doit être uniforme et en conformité avec les spécifications des classes de risques de destination. Si elle est insuffisante, on risque de trouver des parties du bois peu protégées sujettes aux attaques biologiques. Par ailleurs, si les pièces de bois doivent être usinées après traitement, on risque d'enlever des parties préservées et d'annihiler le traitement préalable (Morris et al., 1996). La diffusion du bore dans le bois dépend essentiellement de la teneur en eau du matériau. Chen et al. (1997) ont traité divers feuillus avec des borates par trempage/diffusion. Ils ont mis en évidence une bonne corrélation entre la perméabilité radiale du bois et le taux de diffusion du bore, la perméabilité longitudinale affectant peu ce taux. Le flux de bore en solution aqueuse s'écoule en empruntant la voie "ponctuations-lumen des cellules-ponctuations". Ainsi, quand l'humidité est supérieure ou égale au point de saturation des fibres, ce passage s'effectue très aisément et la diffusion n'est plus dépendante que des facteurs temps et température. Schoeman et al. (1998) se sont intéressés à ce phénomène dans des résineux d'humidité variée. Ils confirment les résultats de Chen et al.

(1997), tout en précisant que cette diffusion est régie par la loi de Fick. Le taux de diffusion est directement proportionnel au gradient de concentration, le bore migrant des régions les plus concentrées vers les moins concentrées. En évaluant le taux de pénétration en fonction de l'humidité du bois, ces auteurs indiquent qu'un point d'inflexion apparaît dès 15% d'humidité, teneur en eau à partir de laquelle on obtient une diffusion significative.

8.2. Traitement des essences réfractaires

A des taux d'humidité définis et selon la température, le bore diffuse aisément dans le bois. Il a ainsi été présenti pour traiter des essences habituellement réfractaires à l'imprégnation. Mc Cutcheon et al. (1996) ont utilisé des borates pour traiter des pièces de chêne (*Quercus sp.*) issues de navires anciens (traitements préventifs et curatifs). A l'issue d'un traitement vide/pression suivi d'une période d'immersion (1 à 4 mois), le bore diffuse même au niveau du duramen. Le peuplier (*Populus tremuloïdes*) ne peut pas être traité correctement avec du CCA par procédé vide/pression. Imprégné avec des borates par trempage/diffusion, il atteint les spécifications de rétention et de pénétration d'une classe de risques 2 (Puettman & Schmidt, 1997). Ce type de traitement peut donc favoriser l'utilisation de nouvelles essences dans le domaine de la construction. Il en va de même pour le Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) de perméabilité faible à modérée, convenablement imprégné avec des borates par trempage/diffusion ou par vide/pression (Lebow & Morrell, 1989 ; Morrell & Lebow, 1991 ; He et al., 1997).

8.3. Traitements préventifs

Deux grands types de traitements préventifs émergent lors de l'utilisation des borates en préservation du bois : le traitement par trempage/diffusion et le traitement par vide/pression (Cookson et al., 1998). Le traitement par vaporisation ne représente qu'une quantité très marginale de bois traité.

8.3.1. Traitement par trempage/diffusion

Le procédé par trempage/diffusion est le plus traditionnel et est appliqué au bois vert. Le bois est trempé dans un bain constitué d'une solution aqueuse de produits borés. La durée du trempage, la température et la concentration de la solution sont définies afin d'obtenir une rétention initiale en adéquation avec les prérogatives de la classe de risques à laquelle le bois est destiné. Selon leur température, les solutions de traitement sont qualifiées de bain froid ou de bain chaud. Lorsque leur teneur en bore est élevée, il est nécessaire de les chauffer. A l'issue du trempage, le bois est enveloppé d'un film plastique et stocké pendant un temps et dans des

conditions permettant une diffusion adéquate du bore dans le bois. A la place du trempage, on pratique parfois l'aspersion, étape toujours préliminaire à la diffusion.

Le procédé par trempage/diffusion est simple et économique, mais n'est pas sans inconvénients (Mitchoff-Puettman & Williams, 1992 ; Cookson et al., 1998). Le bois utilisé doit être suffisamment humide afin que le bore puisse diffuser convenablement. Les solutions de traitement doivent souvent être chauffées, d'où une dépense énergétique. L'utilisation d'un bain chaud peut permettre de solubiliser des extraits du bois dans la solution borée : c'est le cas des tanins en particulier. Les extraits souillent les solutions de traitement, lesquelles deviennent impropres à toute utilisation ultérieure. Le temps de diffusion est long (de l'ordre du mois) d'où un besoin d'aires de stockage plus ou moins importantes selon le cubage de bois traité, et une possibilité de développement de moisissures. Le temps d'immobilisation du bois représente aussi un coût souvent non négligeable.

8.3.2. Traitement par vide/pression

Ce traitement s'utilise à la fois sur bois vert (Lebow & Morrell, 1989) et sur bois sec (Morrell & Lebow, 1991), avec un procédé à cellule pleine ou à cellule vide. Selon la concentration en bore des solutions de traitement, ces dernières sont chauffées ou non. Les rétentions initiales sont plus élevées avec les traitements utilisant la pression qu'avec un trempage/diffusion classique (Morrell & Lebow, 1991). La pénétration des produits est habituellement suffisante pour éviter de longs temps de diffusion et le bois traité peut être utilisé après 3 à 7 jours (Coockson et al., 1998).

Ce procédé flexible, applicable à des bois d'humidité variée est globalement plus cher qu'un trempage/diffusion. Les coûts des opérations peuvent être abaissés si l'on utilise les installations d'un site de traitement déjà en fonctionnement (site de traitement au CCA notamment), les équipements requis étant identiques. La mise au point de cycles de traitement optimum permet des opérations de préservation économiquement viables à l'échelle pilote (Gnanaharan & Dhamodaran, 1993) transposables à l'échelle industrielle (Dhamodaran & Gnanaharan, 1994).

Certains auteurs conseillent un étuvage préalable du bois, afin d'améliorer la distribution de l'eau, la perméabilité et l'efficacité du vide (Barnes & Williams, 1988 ; Morris et al., 1997). Sur les sites de traitement, le matériel servant à la fixation du CCA peut tout à fait servir à l'étuvage des pièces de bois à traiter.

8.3.3. Traitement par vaporisation

Le bois peut être préservé en utilisant du boronate de triméthyle (ou triméthyle borate TMB) vaporisé (Romero et al., 1995) selon la réaction suivante :

$$\underset{\text{boronate de triméthyle}}{B(OCH_3)_3} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{acide borique}}{B(OH)_3} + 3\,CH_3OH$$

Il existe plusieurs procédés, mais de manière générale, les pièces de bois sont introduites dans un autoclave où le vide est fait avant que le TMB vaporisé soit introduit. Le TMB est fortement hygroscopique et cherche à réagir avec l'eau, laquelle correspond à l'eau contenue dans le bois. Le TMB se comporte comme un véhiculant vapeur déposant de l'acide borique dans le bois. Le méthanol généré par la réaction est récupéré et peut être recyclé (Bassett, 1997). La perméabilité de l'essence, le gradient de pression et l'humidité du bois sont les paramètres régissant la rétention et la pénétration de l'acide borique (Turner & Murphy, 1995 ; 1998). Des rétentions et des pénétrations correspondant aux spécifications d'une classe de risques 3 ont été obtenues avec plusieurs essences dont l'humidité était comprise entre 7% et 20% (Bassett, 1997).

Ce procédé efficace est rapide, propre, et permet le séchage, le traitement et le conditionnement du bois massif ou des composites dans un seul autoclave (Barnes & Murphy, 1995). Des pièces de bois sèches et usinées peuvent être préservées, puis être directement utilisées pour l'assemblage, le collage ou les finitions.

8.4. Traitements curatifs

Même lorsque le bois est préservé de manière préventive par des produits à large spectre d'action, il arrive qu'il soit nécessaire d'appliquer un traitement supplémentaire pour rallonger la durée de vie de l'ouvrage ou pour éradiquer une attaque biologique intempestive (Dickinson, 1990).

Les traitements curatifs sont très utilisés dans le cadre des structures historiques. Dans les bâtiments contemporains, bien que les bois soient initialement protégés, les utilisateurs ont souvent recours à des traitements curatifs après un certain temps de vie des produits en bois. Parmi les problèmes les plus communs, on peut citer : la propagation d'insectes dans les charpentes, le développement de champignons en des endroits trop humides (infiltrations, gouttières, joints de canalisation,...). Ces traitements sont fréquemment mis en oeuvre au

niveau du bois en extérieur et en contact avec le sol, cette zone de contact étant particulièrement sensible (cas des poteaux).

On distingue quelques formulations spécifiques aux traitements curatifs et des modes d'application bien particuliers.

8.4.1. Badigeonnage

Les applications de surface des produits borés sont souvent appropriées aux problèmes rencontrés dans les bâtiments. Elles nécessitent peu de matériel et les pièces de bois peuvent être badigeonnées *in situ*. Ainsi, Graf et al. (1998) préconisent l'utilisation de ces produits pour éliminer les coléoptères des constructions en épicéa (essence pourtant réfractaire à l'imprégnation), soulignant leur efficacité et leur sécurité d'utilisation. Morrell & Freitag (1995) stipulent que l'application de borates en surface est d'une réelle efficience contre les colonisations microbiennes. Lorsque l'humidité du bois augmente, il y a de véritables risques d'attaques fongiques, mais parallèlement, la diffusion du bore se fait d'autant mieux que la teneur en eau du bois est importante. Donc, si le bois s'humidifie, la pénétration du bore dans le bois est à même d'éviter le développement des micro-organismes. ces auteurs soulignent toutefois que, si la protection de surface est toujours réalisée, l'efficacité des borates reste parfois incertaine lors des infestations profondes.

Dans le cas de poteaux, Morrell et al. (1994) ont fait l'inventaire des nombreuses pâtes commerciales à appliquer au niveau de la ligne de contact avec le sol, afin de renforcer la protection du bois après mise en service. Dans une seule des pâtes considérées, le bore (sous forme disodium octaborate tétrahydrate : DOT) était en combinaison avec du naphténate de cuivre (40% et 18% respectivement). Après 30 mois d'application, le bore est déjà largement lessivé et sa teneur dans le bois est inférieure aux seuils fongitoxiques, le cuivre devant alors assurer seul la protection du matériau. Cependant le bore tend à améliorer la pénétration du cuivre (Kumar & Morrell, 1990 ; Kumar et al., 1991), d'où l'intérêt de ce type de formulation.

Parmi les borates appliqués en surface du bois, les glycol-borates peuvent être considérés en particulier. Ces formulations sont constituées d'un mélange de mono et/ou de polyéthylèneglycol et de bore (acide borique, borax ou DOT) en solution aqueuse (Romero et al., 1995). Alors que la présence du glycol est supposée favoriser la pénétration du produit dans le bois, Grace & Yamamoto (1992 ; 1994b) ne constatent pas d'amélioration de la diffusion du bore par rapport à une solution de DOT appliquée dans les mêmes conditions. Par contre, la viscosité des glycol-borates engendre une forte concentration de bore à la surface du bois, évitant les réapplications de produit. La protection de surface est excellente, empêchant même la pénétration de termites. Cependant, l'efficacité de ces formulations pour éradiquer les termites

d'une structure infestée s'avère très faible (Grace & Yamamoto, 1994b). Ces formulations sont parfois moins efficaces que ne pourraient le laisser prévoir les quantités de bore mises en jeu. Le bore utilisé sous la forme d'esters de glycol, est déjà complexé et la production d'ions borates (par partition) est plus difficile. La quantité d'ions borates libres étant amoindrie, les performances du produit le sont aussi (Lloyd et al., 1990).

8.4.2. Méthode des bâtonnets boraciques

Il s'agit de bâtonnets constitués habituellement de disodium octaborate tétrahydrate (DOT) ou de glycol-borates éventuellement, sous forme solide. Ils peuvent aussi s'utiliser comme traitement préventif, mais cet usage reste très minoritaire.

Ces bâtonnets sont placés au niveau de perforations pratiquées dans le bois à traiter. Ces dernières n'altèrent pas les caractéristiques mécaniques des ouvrages car elles sont de faibles dimensions (diamètre et longueur de l'ordre de quelques millimètres ou du centimètre) et bien disséminées. Lorsque le bois s'humidifie, les bâtonnets se délitent. Ceci se traduit par une déplétion en biocide au niveau du bâtonnet. Le bore diffuse alors dans le bois et lutte contre les risques d'attaques biologiques ou contre les organismes se développant déjà activement (cas classique des Basidiomycètes dans une classe de risques 3) (Ruddick & Kundzewicz, 1992).

Highley & Scheffer (1991) indiquent que cette méthode est intéressante pour prodiguer une protection supplémentaire au bois en service au dessus d'un environnement aquatique. Ces bâtonnets servent aussi à protéger les poteaux, les pièces en structure, les menuiseries extérieures,... (Dirol, 1988 ; Dirol & Guder, 1989).

Bien entendu, la diffusion du bore à partir de ces bâtonnets dépend étroitement de la teneur en eau du bois. La diffusion du biocide est optimale dès que l'humidité atteint 40% (Morrell et al, 1990 ; Ruddick & Kundzewicz, 1992). Dans ce cas, le biocide diffuse facilement même dans l'aubier et le duramen d'essences réputées réfractaires (exception faite du duramen de *Quercus alba* dans l'étude menée par Morrell et al., 1992).

On trouve aussi des bâtonnets dont les principes actifs sont des combinaisons de bore et de fluor (Morrell & Schneider, 1995 ; Powell et al., 1998). Ces mélanges ont pour but d'améliorer les performances biocides, notamment contre les pourritures molles.

8.4.3. Traitement par injection

Ce système consiste à injecter une solution de produit boré dans le bois. On l'utilise pour tout traitement curatif, ou, lorsque des pièces de bois préservées présentent des surfaces non traitées après usinage (De Groot & Felton, 1998). Les borates en solution diffusent autour du

point d'injection selon l'humidité du bois et assurent sa protection biologique. Il faut toutefois noter que ce type de traitement n'est pas encore largement répandu.

8.4.4. Traitement par des mousses

Le disodium octaborate tétrahydrate (DOT) peut être utilisé sous forme de mousse et permet de traiter des pièces de bois de faible humidité. Le bore pénètre plus facilement dans le bois (en comparaison d'un badigeonnage classique) même si le bois présente une humidité de 10% seulement (Robinson et al., 1996). Cette méthode, en plein développement, est idéale pour le traitement curatif des charpentes.

9. Emplois annexes du bore

Le bore peut aussi être employé comme ignifugeant des bois et des textiles (Barnes et al., 1989). Dès 1934, l'acide borique a été utilisé pour ses capacités à retarder la combustion des bois (Cockcroft & Levy, 1973). Il s'en est suivi un développement et une commercialisation d'ignifugeants basés sur des mélanges d'acide borique et de borates, dont certains restent à l'heure actuelle parmi les plus performants (Lloyd, 1998). Cependant, les charges en bore des bois ignifugés sont beaucoup plus importantes que celles recommandées pour prévenir des dégradations biologiques.

Les borates sont aussi des agents anti-corrosion, d'où peu de problèmes au niveau des matériels métalliques sur les sites de traitement du bois (Cockcroft & Levy, 1973 ; Barnes et al., 1989).

Il est intéressant d'examiner l'emploi du bore à un niveau industriel et d'évaluer les risques potentiels afin de pouvoir établir des comparaisons avec d'autres produits de préservation du bois.

10. Risques liés au bois traité avec du bore

10.1. Sites de traitement

Il faut considérer l'exposition des manipulateurs aux risques d'inhalation, de contact dermique et d'ingestion. Hughes & Connell (1998) ont réalisé de nombreux prélèvements

atmosphériques en plusieurs points d'un site où le bois était traité avec une formulation contenant de l'acide borique (prélèvements au niveau des cuves de stockage, cuves de traitement, bois fraîchement traité,...). Les quantités d'acide borique présentes dans chaque échantillon sont toujours très nettement inférieures au seuil de toxicité (10 mg/m^3). Par ailleurs, Haizoun (1997) indique que le bore n'est pas absorbé par une peau saine et qu'en cas d'ingestion, il est rapidement excrété. A moins d'un manipulateur suicidaire et mal renseigné sur les effets toxiques du bore, une ingestion massive paraît peu probable. Rainer (1995) rapporte qu'à cette date, aucune maladie ou mort due à l'exposition des manipulateurs au bore n'a été enregistrée.

Au niveau des sites, il faut toutefois rester vigilant afin d'éviter les stockages inadaptés, les fuites, les déversements intempestifs,..., car bien que le bore soit peu toxique, une dose massive rejetée dans l'environnement est fatalement nocive pour les écosystèmes.

Dans le cadre de la préservation du bois, l'acide borique et les borates ne sont pas soumis aux restrictions appliquées aux produits tels que la créosote et le CCA. Cependant, le Danemark souhaite limiter (voire interdire) l'utilisation de cet élément pour cause de pollution aquatique. Cette mesure vise en fait les perborates, agents de blanchiment (lessives), mais affecterait du même coup les industries de préservation du bois utilisant CCB, acide borique et borates (Koch, 1998).

10.2. Bois traité mis en service

Le seul problème du bois traité mis en service tient au lessivage important du bore quand le bois n'est pas abrité des intempéries. Pour une durée de vie convenable des produits traités, on recommande de les utiliser dans les classes de risques 1 et 2.

Baines & Davis (1998) signalent que le bore lessivé à partir de bois traité à l'acide borique est retenu dans le sol et ne passe pas facilement dans les eaux souterraines. Mais, si l'on pratique l'utilisation massive de bois traité au bore dans des conditions où le lessivage est important, on aura un bois mal préservé avec une durée de vie brève, et un rejet finalement massif de bore dans le sol et les eaux.

Il faut donc utiliser les ouvrages traités au bore dans des classes de risques où le bois n'est qu'occasionnellement soumis à une forte humidité, ou, trouver un moyen de freiner la déplétion du produit dans les autres situations.

10.3. Déchets des bois traités au bore

En fin de vie, les bois traités au bore ne posent aucun problème. Le bois peut être délité en copeaux pour faire des paillis pour les jardins ou de la litière pour les animaux. Il peut aussi

être réduit en sciures, utilisées comme absorbant sur le sol de certaines usines (abattoirs par exemple) (Cookson et al., 1998). Le bois peut être brûlé sans générer d'émissions toxiques ni problèmes de corrosion au niveau des installations. Le bore contenu dans le bois se retrouve presque totalement dans les cendres (Salthammer et al., 1995). Ces cendres peuvent alors servir à amender des sols déficients en bore et, en étant convenablement appliquées, conduisent à l'amélioration des rendements agricoles (Etiegni et al., 1991).

D'après toutes ces données, le bore serait le produit idéal de préservation du bois. Mais malheureusement, il est doté d'un inconvénient majeur : il ne se fixe pas au bois et sa solubilité le rend particulièrement lessivable.

11. Lessivage du bore

11.1. Bois traité au bore et classes de risques

La solubilité naturelle du bore est utilisée pour le faire diffuser dans le bois. Mais, le bore, n'étant pas fixé aux parois cellulaires, est très lessivable (Klein & Bauch, 1981 ; Peylo & Willeitner, 1995a). Il en résulte des restrictions pour le bois préservé ainsi : son utilisation est limitée aux classes de risques 1 et 2 essentiellement. On peut l'envisager dans une classe de risques 3 avec l'ajout d'une finition (vernis, peinture, lasure,...) (Cockcroft & Levy, 1973 ; Drysdale, 1994 ; Rainer, 1995 ; Lloyd, 1998). La finition est à renouveler régulièrement pour une durée de vie prolongée de l'ouvrage. Peylo & Willeitner (1997) ont montré qu'au delà de 6 mois, la plupart des vernis (80g/m^2, 30 µm épaisseur) ne réduisaient que très partiellement la déplétion du biocide. Homan & Militz (1995) insistent sur le fait qu'une finition doit être en très bon état, la moindre craquelure réactivant le lessivage du bore.

11.2. Contrôle du lessivage du bore

De nombreux auteurs ont cherché à réduire le lessivage du bore afin que ce dernier puisse être utilisé dans de plus nombreuses situations.

Toutes les formulations impliquant un co-biocide de type chrome ou cuivre sont supposées limiter le lessivage du bore en plus de combiner les effets biologiques des éléments (le cas typique étant le CCB).

Une des voies les plus étudiées est d'utiliser des agents hydrophobes en complément d'un traitement boré. Turner & Conradie (1995) ont mis au point une formulation (Totim B) de

viscosité élevée, composée d'une émulsion de cire et d'une solution saturée de DOT. Ce produit permet le traitement par trempage/diffusion du bois vert. L'agent hydrophobe de la solution doit réduire le lessivage du bore et permettrait l'utilisation du bois traité dans une classe de risques 3. Cependant, leur étude ne considère que les rétentions (atteinte des seuils de toxicité) et la pénétration du produit à l'issue de divers traitements. Des pièces dont la section est supérieure à 80 mm sont difficilement traitées dans leur épaisseur, ce qui semble préjudiciable pour le bois destiné aux constructions. Peylo & Willeitner (1995a) ont imprégné par vide/pression du pin sylvestre sec avec des solutions de bore, puis l'ont recouvert de divers vernis contenant des résines naturelles ou de la paraffine. Leurs résultats ont montré que les agents hydrophobes mis en jeu freinent la reprise en eau dans les premiers temps du lessivage, mais sont incapables de réduire de manière significative le lessivage du bore sur le long terme. Ils ont tiré les mêmes conclusions lors d'essais en champ, où les pièces de bois étaient dans les conditions d'une classe de risques 3 (Peylo & Willeitner, 1995b). Murphy et al. (1995) ont traité du pin par vide/pression avec un mélange de bore et d'un polymère acrylique contenant du chlorhydrate d'aluminium comme agent hydrophobe. Après lessivage ou non, les éprouvettes traitées ont été soumises à l'attaque de Basidiomycètes (en milieu gélosé) ou de pourritures molles (test en champ). Ces auteurs constatent effectivement que la teneur en eau des éprouvettes est diminuée lorsqu'elles sont imprégnées avec ce mélange. Cependant, l'agent hydrophobe utilisé apparaît être essentiellement à l'origine des effets biocides constatés lors des tests biologiques. Cette étude révèle néanmoins les nombreuses potentialités de ce type de démarche. Yalinkilic et al. (1998b) ont réalisé, dans le bois, une polymérisation entre le bore et le styrène ou le méthylmétacrylate. Toutefois, la nature des polymères choisis va à l'encontre du caractère non toxique du bore, ce qui peut limiter le développement de tels systèmes. De plus, si l'immobilisation du bore est trop importante, son efficacité biologique risque d'être réduite.

Le bore sous forme d'acide borique, de borax ou de DOT, est donc un agent de contrôle des biodégradations, efficace, à large spectre d'action et très faiblement toxique envers l'environnement et les organismes non-cibles. Les composés borés sont déjà utilisés en préservation du bois, leur consommation annuelle dans ce secteur est évaluée à 10.000 tonnes (Lloyd, 1998). Dès le début des années 1990, face aux restrictions appliquées aux créosote, CCA et PCP, les scientifiques ont montré un regain d'attention pour le bore (Barnes et al., 1989). Lloyd (1998) estime que si le bore était amené à remplacer l'arsenic, la consommation des composés borés atteindrait 40.000 à 60.000 tonnes/an. La gageure consiste à pouvoir utiliser les composés borés dans des classes de risques 3 (créneau très demandeur) et 4, leur usage en classe 5 restant utopique.

Nous avons envisagé un système original réduisant, autant que faire se peut, la déplétion du bore à partir d'un bois traité, tout en conservant l'intégralité des potentialités biocides de cet élément.

III Nouveaux systèmes de préservation du bois à base de bore

Le principe d'obtention de ces nouveaux systèmes est simple. Il s'agit de créer un réseau polymère naturel non toxique, le plus insoluble possible, dans le bois. Ce réseau est indifféremment lié ou non à la matrice bois, et sert de support à la fixation du bore. Le bore est utilisé sous forme d'acide borique, composé boré standard. La liaison entre le réseau polymère et l'acide borique doit être relativement labile avec l'humidité afin de permettre une libération graduelle du principe actif, pouvant alors exercer son activité inhibitrice d'attaques biologiques (figure 10). Dès que l'humidité diminue, la liaison entre le bore et le polymère doit être reformée. Il s'agirait alors d'une liaison réversible selon la teneur en eau du bois. La déplétion du bore ne serait donc plus massive et ce système permettrait une protection du bois traité à long terme même dans des conditions de mise en service extérieur.

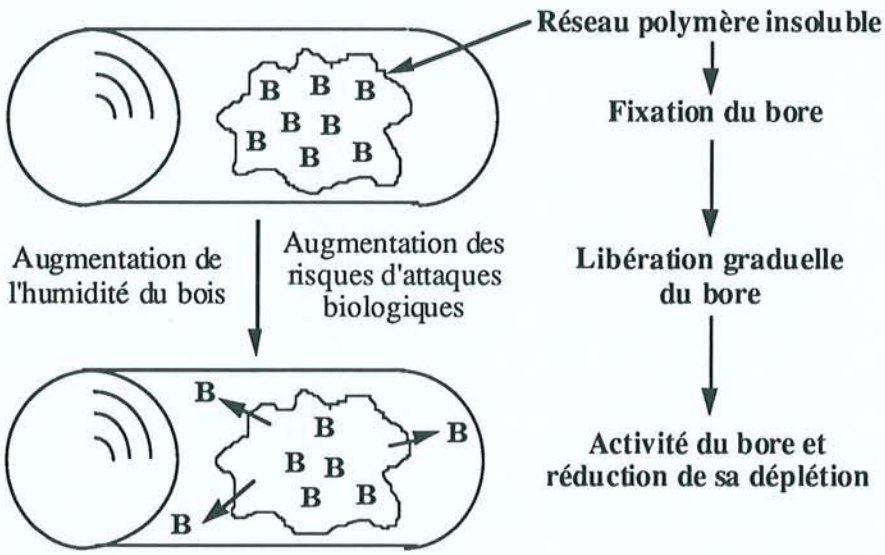


Figure 10. Principe des nouveaux systèmes de préservation mettant en oeuvre du bore (sous forme d'acide borique) et un réseau polymère.

Nous avons considéré deux grandes familles de composés pour servir de base au réseau polymère : les tanins et les protéines, et allons expliciter les raisons de ces choix.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

III A. Tanins

Les tanins, composés polyphénoliques complexes d'origine végétale, pourraient servir de base au réseau polymère des nouveaux systèmes de préservation envisagés. En effet, il apparaît d'après la littérature, que les tanins, et en particulier les tanins condensés, aient une propension à réticuler en présence de catalyseurs. L'acide borique est l'un de ces catalyseurs.

Après un bref rappel de leurs origines et structures, nous envisagerons leurs potentialités quant à leur utilisation en préservation du bois.

1. Origines et fonctions des tanins

Les tanins sont des polyphénols présents chez la grande majorité des végétaux vasculaires. Ils sont localisés dans des inclusions vacuolaires des tissus végétaux (feuilles, tiges, graines, fèves, gousses, écorces). Dans le bois, ces métabolites secondaires sont synthétisés dans le parenchyme sénescent de la zone de transition aubier/duramen. Ils diffusent ensuite dans les cellules adjacentes, et, en se déposant au niveau des parois cellulaires, réalisent une des étapes de la duraminisation (Scheffer & Cowling, 1966).

Les tanins représentent une des sources principales de résistance aux agressions biologiques. Shigo (1984) a mis en évidence la production massive de polyphénols au niveau de blessures infligées à des arbres. Cette barrière chimique est associée à une barrière physique (production de subérine, en général) afin d'isoler les tissus blessés et de résister à l'expansion éventuelle d'organismes pathogènes. Ces polyphénols sont regroupés sous le terme générique de phytoalexines (Laks, 1991).

Les tanins interviennent dans les mécanismes passifs de défense des végétaux. La distribution de la durabilité naturelle d'un arbre est corrélée à la distribution et à la nature des extraits, dont les tanins font partie (Scheffer & Cowling, 1966). Ces derniers ont une forte aptitude à s'associer aux protéines, polysaccharides (cellulose, hémicelluloses, amidon,...) et alcaloïdes (Zucker, 1983). Ces phénomènes de complexation rendent les substrats inaccessibles aux enzymes, et procurent donc une protection face aux attaques microbiennes. Ils abaissent aussi fortement la digestibilité des végétaux pour les insectes et les herbivores (Zucker, 1983 ; Kumar & Singh, 1984). Puisqu'ils s'associent aux protéines, les tanins peuvent donc complexer les enzymes et les inactiver (Goldstein & Swain, 1965). Ils précipitent ainsi les protéines salivaires et sont responsables de l'astringence. C'est par ce mécanisme que de nombreux végétaux sont perçus comme inappétents par les consommateurs primaires.

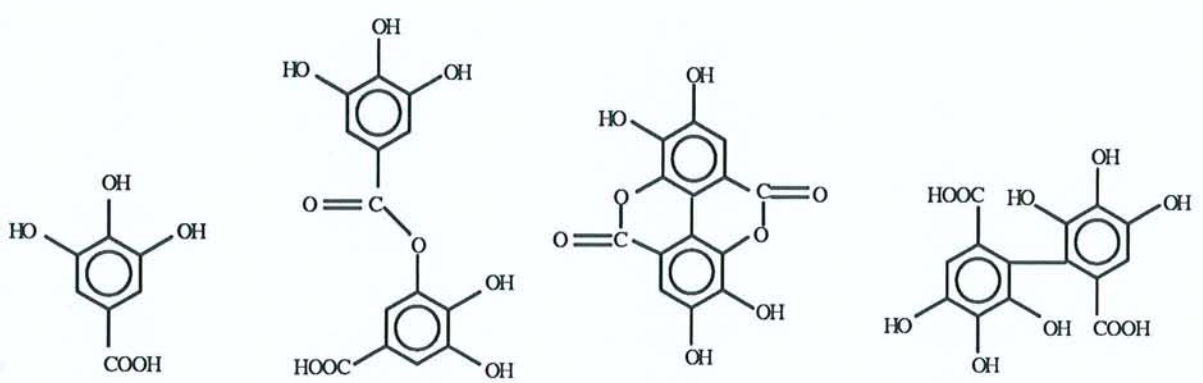
En outre, il semble que les tanins aient de véritables fonctions physiologiques. Ils interviennent dans la régulation de la maturation des fruits (Coupois-Paul, 1993) et dans les mécanismes de résistance à la sécheresse (Pizzi & Cameron, 1986).

2. Structure des tanins

Les tanins sont répartis en deux familles : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Ce sont des composés complexes et d'une grande variété. Nous nous limiterons à établir quelques généralités quant à leurs structures, uniquement afin de pouvoir aborder les réactions impliquées dans les nouveaux systèmes de préservation envisagés.

2.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters d'acide gallique ou de ses dimères, acide digallique et acide ellagique (figure 11) et de monosaccharides (glucose principalement). On distinguera donc les gallotanins des ellagitannins.



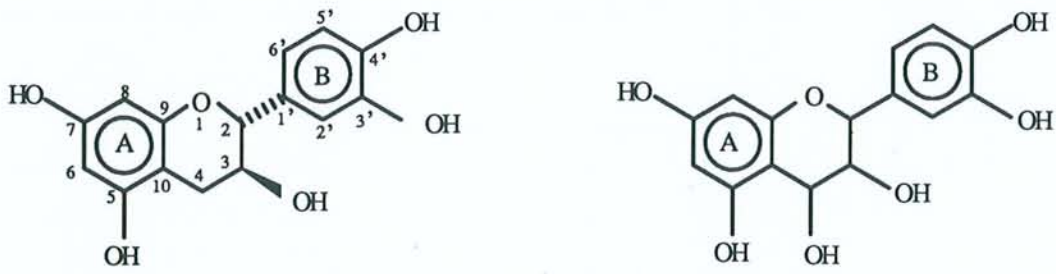
(1) (2) (3) (4)

Figure 11. Structure de l'acide gallique et de ses dimères : (1) acide gallique, (2) acide digallique, (3) acide ellagique, (4) acide hexahydroxydiphénique.

2.2. Tanins condensés

Les principaux constituants des tanins condensés sont les flavanes 3-ol et les flavanes 3,4-diols (figure 12), ces diverses unités étant surtout liées par des liaisons 4,6 et 4,8. Cette

famille hétérogène présente des degrés de condensation variés, pour des poids moléculaires compris entre 500 et 3.000.



(1) (2)

Figure 12. Structure d'un flavane 3-ol : (1) (+)-catéchine, et d'un flavane 3,4-diol : (2) leucocyanidine.

3. Les tanins en préservation du bois

Le parallèle entre la durabilité naturelle des arbres et la teneur en tanins ayant été fait, l'idée d'utiliser les tanins comme principe de protection du bois a émergé.

3.1. Les tanins : principes actifs de solutions de préservation du bois

Des essais ont tout d'abord été réalisés en employant les tanins (tanins condensés en particulier) comme seul principe actif de préservation. Après extraction de divers végétaux, les tanins sont remis en solution et utilisés pour traiter le bois.

Des tests préliminaires en boîtes de Pétri, où les tanins se trouvent au niveau du milieu de culture, ont été conduits avec un succès très relatif. Laks (1987) a modifié des tanins condensés d'écorce de *Pinus taeda* et de *Tsuga canadensis* afin d'obtenir des épicatéchines-4-alkylsulphides, analogues des phytoalexines. Introduites dans un milieu de culture, elles n'ont pu inhiber la croissance de nombreuses bactéries Gram+ et Gram-. Par contre, la catéchine et l'épicatéchine d'écorce d'*Acacia mearnsii* sont des anti-bactériens efficaces contre *Escherischia coli* et *Streptococcus faecium* (Putman et al., 1989). Mitsunaga et al. (1997) ont confirmé l'activité de ces tanins face à *Streptococcus sobrinus*. Si leur activité anti-bactérienne semble démontrée, Ohara et al. (1994) n'ont pu mettre en évidence d'effet anti-fongique sur *Coriolus versicolor* (pourriture blanche) ni sur *Tyromyces palustris* (pourriture brune) en employant ces tanins à 0,25%.

Les tanins d'écorce d'*Acacia mearnsii* imprégnés à 4% dans des éprouvettes d'aubier de pin et d'eucalyptus, protègent le bois contre *Coniophora puteana* (pourriture brune) et *Chaetomium globosum* (pourriture molle) pendant 15 semaines (en milieu gélosé) (Baecker et al., 1991). Le traitement n'affecte pas la dégradation due à *Coriolus versicolor*.

Ohara et al. (1994) rapportent l'activité termicide de ces mêmes tanins. Le test n'a été réalisé que sur 19 individus, en boîte de Pétri, où la seule source de nourriture était une bande de papier traitée aux tanins. Généraliser ce type de résultats semble sujet à caution.

Les résultats obtenus avec les tanins en tant que produits de préservation du bois sont très disparates et souvent peu probants, rien qu'à l'échelle du laboratoire. A défaut d'être utilisés ainsi, les tanins peuvent être un moyen de fixer un biocide dans le bois.

3.2. Associations entre tanins et métaux

Les tanins condensés présentent une forte affinité pour les métaux, et en particulier pour le cuivre (Pizzi et al., 1986a ; 1986b). La chélation s'effectue via les groupements ortho-diphénoliques des tanins et le complexe résultant est insoluble dans l'eau (Mc Donald et al, 1996).

Laks & Mc Kaig (1988) ont associé des tanins condensés de *Pinus taeda* à du chlorure de cuivre pour traiter du hêtre. Le complexe entre ces deux composés est formé *in situ* par le biais d'une double imprégnation vide/pression (tanins puis cuivre). Les éprouvettes traitées et lessivées sont soumises à la dégradation de *Coriolus versicolor*, de *Gloeophyllum trabeum* (pourriture brune) (sur milieu gélosé), et de *Chaetomium globosum* (en champ). L'effet biocide constaté n'est dû qu'à la présence de cuivre. Les éprouvettes traitées sont protégées dès les plus faibles rétentions de cuivre (de 0,77 à 1,77 kg/m^3 selon les essais). Il faut souligner que la rapidité du lessivage (2 heures) a certainement affecté les teneurs en cuivre de manière très limitée. En effet, Plackett & Cronshaw (1989) indiquent que 21% du cuivre initial est lessivé après 8 jours d'immersion d'éprouvettes d'aubier de pin traitées avec des tanins de *Pinus radiata* puis de l'acétate de cuivre (procédé par double trempage).

L'association tanins/cuivre protège le bois,mais il faut garder à l'esprit que le cuivre est un métal lourd. De plus, le lessivage du cuivre reste significatif, d'où des interrogations sur les performances à long terme en classe de risques élevés. La double imprégnation est aussi un frein à l'industrialisation de ce procédé. Laks & Mc Kaig (1988) sont passés par une simple imprégnation en dissolvant les produits dans une solution ammoniaquée en remplacement d'une solution aqueuse, tous les autres paramètres restant inchangés. Mieux protégé que les témoins, le bois est toutefois plus dégradé qu'un bois imprégné en deux étapes.

3.3. Associations entre tanins et bore

Outre leur utilisation première pour tanner les peaux, les tanins extraits industriellement sont de plus en plus intégrés dans la formulation des adhésifs (Roux et al., 1975 ; Pizzi, 1994). La réactivité de ces composés lors de leur emploi dans les colles révèle leurs potentialités quant à l'élaboration d'un réseau polymère.

C'est en mettant au point de nouvelles formulations d'adhésifs que le comportement particulier des tanins condensés en présence d'un acide de Lewis a été mis en évidence. Des tanins condensés de noix de Pécan (*Carya illinonensis*), en solution aqueuse, réticulent et durcissent lorsqu'ils sont chauffés (94°C) en présence de silice. Ceci a aussi été vérifié avec l'acide borique (Meikleham et al., 1994 ; Pizzi, 1994 ; Pizzi et Meikleham, 1995 ; Pizzi et al, 1995). Le mécanisme réactionnel peut être décrit comme suit. En solution aqueuse, l'acide borique se comporte comme un acide de Lewis, accepteur d'électrons. En présence de tanins condensés, l'acide borique accepte un électron venant de l'oxygène du cycle pyrane de l'unité flavonoïde. Il en résulte une ouverture de l'hétérocycle et la fixation de l'acide borique par une liaison éther (figure 13). Les réarrangements électroniques induits permettent la réticulation de nombreuses unités flavonoïdes, d'où l'établissement d'un réseau polymère solide fixant l'acide borique. Cette réaction, utilisant l'acide borique comme catalyseur, a été vérifiée pour tous les tanins polyflavonoïdes, l'ampleur de la réaction variant selon leur composition chimique exacte (Meikleham et al., 1994 ; Masson et al., 1996a ; 1996b ; Merlin & Pizzi, 1996).

La réaction acide-base classique qui permet la fixation du bore via les groupements ortho-diphénoliques à température ambiante a lieu (figure 14), mais du fait des conditions réactionnelles appliquées par ces auteurs (pH, température), la compétition semble limitée.

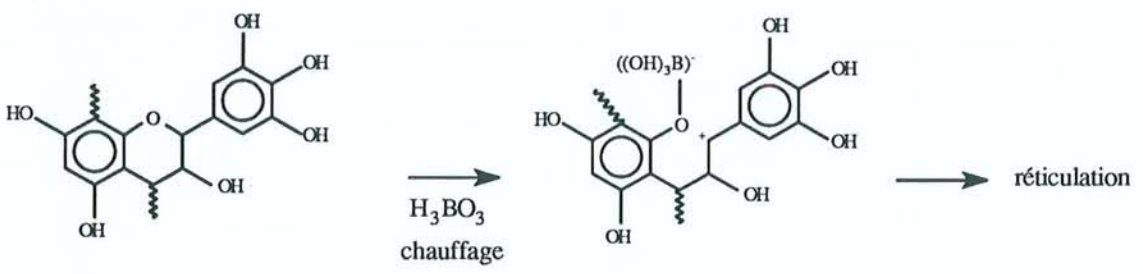


Figure 13. Fixation de l'acide borique sur une unité flavonoïde de tanins condensés (d'après Pizzi & Baecker, 1996).

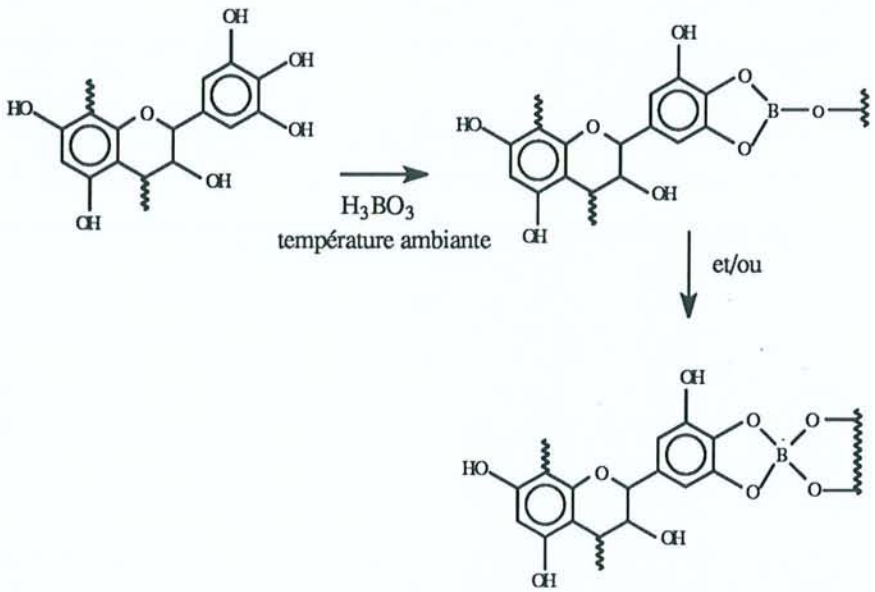


Figure 14. Fixation du bore sur les groupements ortho-diphénoliques des unités des tanins condensés (d'après Pizzi, 1994).

Pizzi & Baecker (1996) ont mis à profit ce système de réticulation afin de fixer l'acide borique dans le bois. De cette manière, le lessivage du bore est retardé et la prolongation de son action termicide a été vérifiée. Le bore reste efficace dans ce type d'association. Ces systèmes offriraient une protection adéquate pour une classe de risques 3. Toutefois, sur une longue période de temps, ils ne semblent pas à même de concurrencer les sels de CCA, ni même de CCB.

Il apparaît donc possible d'envisager un système de préservation utilisant les tanins condensés et l'acide borique pour les raisons suivantes :

- acide borique et tanins condensés sont solubles dans l'eau, et, les techniques classiques d'imprégnation leur sont applicables ;
- les tanins condensés sont à même de former un réseau polymère retenant l'acide borique ;
- les tanins condensés présentent une affinité pour les parois cellulaires du bois (Bariska & Pizzi, 1986) d'où une possibilité de fixation du réseau polymère dans le bois ;
- le bore conserve son efficacité dans cette association ;
- la formulation globale est très faiblement toxique.

III B. Protéines

Tout comme dans le cas des tanins, nous ne considérerons pas les protéines de manière extensive. Nous focaliserons uniquement sur leurs caractéristiques potentiellement utilisables pour la formation d'un réseau polymère fixateur de bore dans le bois.

1. Composition et conformations protéiques

1.1. Acides aminés

Qu'elles soient de structure ou fonctionnelles, les protéines sont des macro-molécules (poids moléculaire > 10.000) dont l'hydrolyse acide fournit principalement des acides aminés. Les protéines renferment presque exclusivement 20 acides aminés dits "naturels", auquels peuvent s'ajouter quelques acides aminés beaucoup plus particuliers (Weil, 1990).

Chaque acide aminé possède un groupement amine primaire et un groupement carboxylique porté par le même carbone α (figure 15). Une exception est faite dans le cas de la proline et de l'hydroxy-proline, pour lesquelles une fonction amine secondaire est incluse dans un cycle interne (figure 16). La chaîne latérale R est de composition différente selon les acides aminés, et influence donc les propriétés de ces monomères. Les 4 substituants du carbone α étant différents (sauf pour le glycocolle où la chaîne R est un atome d'hydrogène), ce carbone est asymétrique. Il en découle une isomérie optique, mais tous les acides aminés naturels sont de configuration L.

On distinguera les holoprotéines, composées uniquement d'acides aminés, des hétéroprotéines, constituées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques et d'un groupement prosthétique lié de manière covalente.

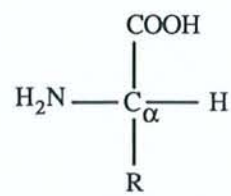


Figure 15. Structure générale d'un acide aminé. R est la chaîne latérale de composition variable selon les acides aminés.



(1) (2)

Figure 16. Structure de la proline (1) et de l'hydroxy-proline (2).

1.2. Structure primaire

La structure primaire d'une protéine correspond à l'ordre séquentiel des acides aminés dont elle est composée. Deux acides aminés successifs sont liés de manière covalente par une liaison amide substituée : la liaison peptidique (figure 17). Une protéine est donc un polypeptide dont la structure primaire lui confère certaines propriétés physico-chimiques (Weil, 1990).

La structure primaire est imposée par le génôme et conditionne, à son tour, les structures secondaire et tertiaire.

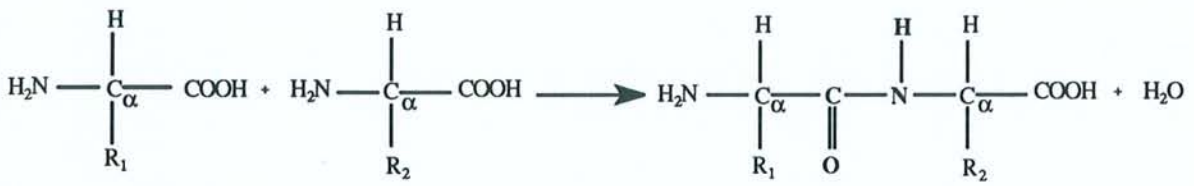


Figure 17. Formation d'une liaison peptidique (-CO-NH-) entre deux acides aminés. R_1 et R_2 sont les radicaux des acides aminés représentés.

1.3. Structure secondaire

La structure secondaire correspond à l'arrangement spatial adopté par la succession des acides aminés. Il existe une libre rotation des carbones α autour des liaisons covalentes simples de l'axe C-N, d'où de nombreuses possibilités de conformations (Sabouraux & Bourdeaux, 1985).

On rencontre deux grands types de structures secondaires :

- les -CO- et -NH- de deux liaisons peptidiques disposées l'une en dessous de l'autre peuvent contracter une liaison hydrogène. On obtient, par enroulement de la chaîne, une spire.

On parle alors de structure en hélice (état hélicoïdal), rencontrée chez les protéines fibreuses et globulaires ;

- ces liaisons hydrogène peuvent s'établir entre deux liaisons peptidiques disposées côte à côte. On obtient, alors, une structure en feuillet (état étiré ou en feuillet plissé), rencontrée chez les protéines fibreuses uniquement.

Dans quelques cas très particuliers, les protéines présentent des structures secondaires en coude β ou en pelote statique.

1.4. Structure tertiaire

La structure tertiaire d'une protéine est définie comme étant la façon dont chacune de ses chaînes se dispose dans les trois dimensions (Schoffeniels, 1981). L'activité biologique d'une protéine dépend, en général, de cette structure.

Un certain nombre de forces interviennent pour stabiliser la structure tertiaire (figure 18). Selon les acides aminés mis en jeu, on distinguera : des liaisons hydrogène, des forces de Van der Waals, des interactions électrostatiques et apolaires, et des ponts disulfures résultant d'une liaison covalente entre deux groupements thiols (-SH) de résidus cystéine. Il faut ajouter à ces liaisons, toutes les contraintes stériques inhérentes aux chaînes latérales (plus ou moins volumineuses) des acides aminés.

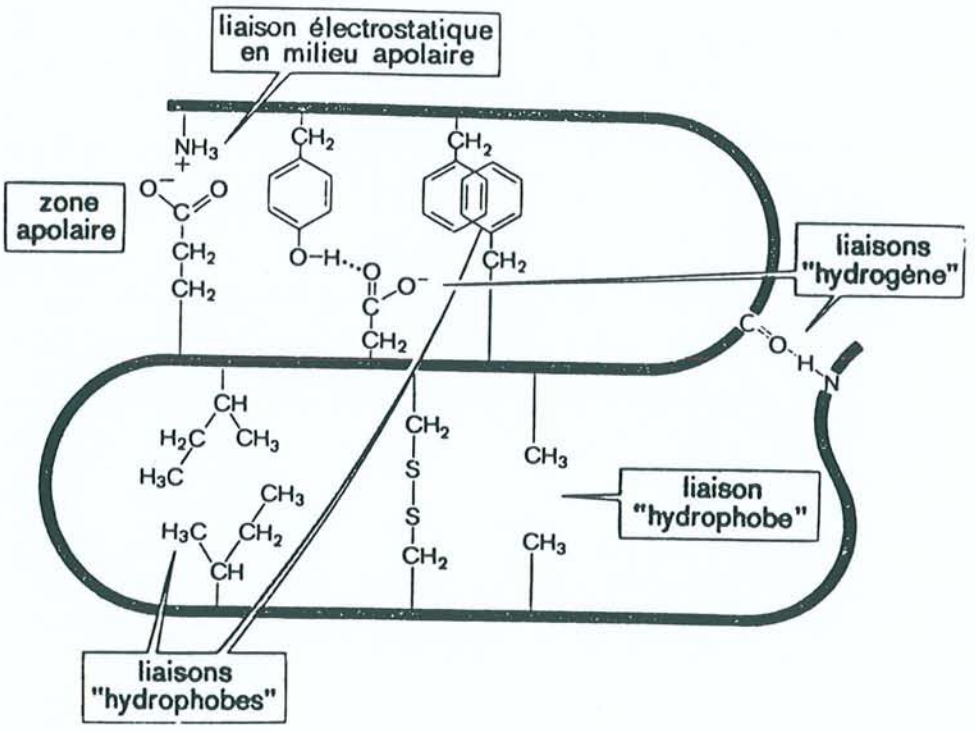


Figure 18. Représentation schématique des forces dans la cohésion de la structure tertiaire d'une protéine (d'après Schoffeniels,1981).

1.5. Structure quaternaire

La structure quaternaire désigne l'arrangement et l'association dans l'espace de plusieurs chaînes polypeptidiques de protéines (Schoffeniels, 1981). Cette structure complexe résulte d'associations non covalentes, mais les liaisons hydrogène, ioniques, hydrophobes, et les forces de Van der Waals y prennent part. A ce niveau d'organisation, les unités protéiques (protomères) mises en jeu sont semblables ou non, et leur arrangement n'est pas forcément identique.

1.6. Conformations protéiques et dénaturation

Chaque protéine possède une structure tridimensionnelle caractéristique de sa conformation protéique. Dans les conditions normales, la conformation spécifique de chaque protéine correspond à un système stable et organisé. Il s'agit de la conformation native.

Cette conformation native peut être désorganisée, sans rupture des liaisons covalentes, mais uniquement par rupture des autres liaisons qui maintiennent l'édifice dans l'espace. C'est ce que l'on nomme la dénaturation. Cette dénaturation protéique peut être provoquée par une variété d'agents physiques et chimiques : les variations de température, les radiations ionisantes, la pression hydrostatique (supérieure à 50kPa), les traitements mécaniques, les variations de pH, la présence de certains métaux, la plupart des solvants organiques (température >0°C), certains composés organiques (urée, sels de guanidine) (Cheftel et al., 1985). Cette perte d'organisation originelle est, selon les cas, réversible ou non, et peut se traduire par de nombreux effets, dont la perte d'activité biologique, l'augmentation de la viscosité des solutions protéiques, la gélification, la coagulation,...

2. Propriétés des protéines

Nous nous intéresserons uniquement aux propriétés fonctionnelles susceptibles d'intervenir dans l'élaboration des nouveaux systèmes de préservation du bois.

Les propriétés fonctionnelles sont généralement classées en trois grands groupes :

- les propriétés d'hydratation comprenant l'absorption et la rétention d'eau, la mouillabilité, le gonflement, la solubilité, la viscosité, l'adhésion, la dispersion ;
- les propriétés dépendant essentiellement des interactions protéine-protéine incluant des phénomènes tels que la précipitation et la gélification ;
- les propriétés de surface concernant l'émulsification et les propriétés moussantes.

Les propriétés les plus déterminantes dans la mise en oeuvre de protéines dans les systèmes de protection du bois envisagés, sont : la solubilité, la réactivité des protéines et leur propension à former des agrégats ou des gels.

2.1. Solubilité

La solubilité des protéines en milieu aqueux est très variable, et est largement influencée par sa composition en acides aminés.

Certaines protéines (les albumines) sont très facilement dispersables dans l'eau pure. D'autres (dont les globulines), voient leur solubilité dépendre du pH et de la force ionique de la solution. En général, la solubilité des protéines est minimale au voisinage de leur pH isoélectrique (pHi : pH pour lequel la charge globale de la protéine est nulle). Enfin, on trouve des protéines insolubles, indépendamment des ajustements apportés à la solution aqueuse (Weil, 1990).

2.2. Fixation de divers composés par les protéines

Certains éléments (tels que le calcium, le fer, le cuivre, le magnésium) peuvent faire partie intégrante des protéines, mais ces dernières peuvent aussi fixer de nombreuses substances par des liaisons faibles ou covalentes. On observe, selon les protéines, la fixation d'eau, d'ions métalliques (cuivre, fer, aluminium), et de molécules plus ou moins complexes (pigments, colorants synthétiques) (Cheftel et al., 1985 ; Gillard & Laurie, 1988). Les sites de fixation sont les groupements peptidiques, les groupements amines et carboxyles terminaux, les constituants aromatiques des chaînes, les groupements thiols.

2.3. Gélification et coagulation

On parle de gélification lorsque des protéines (en solution) dénaturées s'agrègent pour former un réseau protéique ordonné, matrice capable de retenir l'eau et les substances qui y sont dissoutes (Poole & Fry, 1987). Ce phénomène fait intervenir des interactions protéine-protéine et protéine-solvant. Les gels ont, en général, un comportement de solide avec un certain degré de viscoélasticité (Cheftel et al., 1985).

Le gel est un état intermédiaire entre une solution protéique et une précipitation protéique. La coagulation correspond, quant à elle, à une agrégation protéique non ordonnée où les interactions protéine-protéine sont favorisées. Les structures obtenues sont moins hydratées et moins élastiques que les gels (Poole & Fry, 1987).

3. Etablissement d'un réseau polymère protéique dans le bois

Il ne paraît pas déraisonnable d'envisager l'utilisation de protéines pour créer un réseau polymère fixant le bore dans le bois. On peut, en effet, invoquer les raisons suivantes :

- les protéines possèdent de nombreux sites réactifs. Elles peuvent former des associations stables avec de nombreux métaux. Parmi ces sites, la liaison peptidique, très largement représentée dans l'édifice protéique, a un comportement moyennement alcalin et devrait être capable de réagir avec l'acide borique ;
- un certain nombre de protéines sont solubles en solution aqueuse (cas des albumines) ou solubles moyennant quelques ajustements de pH et/ou de force ionique de la solution (cas des globulines) ;
- les protéines peuvent gélifier ou bien même coaguler sous l'action d'agents dénaturants ;
- les protéines alimentaires ne sont pas toxiques.

Il semble donc possible de disperser, en solution aqueuse, une protéine et de l'acide borique. Ces deux composés devraient pouvoir réagir ensemble, et, le mélange pourrait être imprégné dans le bois. L'application d'un agent de dénaturation (variation de température, par exemple) au niveau du bois traité ferait s'agréger ou gélifier les protéines, et l'on obtiendrait un réseau polymère protéique retenant le bore dans le bois.

Notre attention s'est portée sur des protéines alimentaires déjà utilisées dans le domaine du bois, dans le secteur des adhésifs : l'ovalbumine, la gélatine, les caséines, les farines de soja. Nous allons expliciter les raisons de ces choix.

4. Ovalbumine

Le blanc d'oeuf (albumen) est une substance bien connue et abondamment utilisée dans le domaine alimentaire. Il s'agit d'une solution aqueuse de protéines (89% d'eau, 10% de protéines), de sucres (0,5%) et de sels minéraux (0,5%). On y trouve des lipides que sous forme de traces. L'albumen est un mélange de protéines dont l'albumine (ou ovalbumine) est la plus largement représentée (Thapon, 1982). Certaines propriétés de l'albumen sont étroitement liées à celles de l'ovalbumine telles que la formation de gels ou la stabilisation des mousses.

4.1. Obtention et caractéristiques de l'ovalbumine

Industriellement, l'ovalbumine est obtenue par ajout de sulfate d'ammonium dans l'albumen, jusqu'à saturation. Après précipitation (sous l'effet du pH et de la force ionique),

l'ovalbumine est récupérée, puis cristallisée sous vide, à température ambiante (Thapon & Bourgeois, 1994).

L'ovalbumine représente environ 54% des protéines de l'albumen. Il s'agit d'une phosphoglycoprotéine d'un poids moléculaire de 45.000, constituée d'une seule chaîne polypeptidique. Elle comprend 385 résidus acides aminés, dont la moitié sont hydrophobes. Son pHi est de 4,5. Chaque molécule native d'ovalbumine contient 1 pont disulfure et 4 groupements thiols : 3 seulement sont réactifs, le 4ème étant enfoui à l'intérieur de la chaîne peptidique (Doi et al., 1989 ; Thapon & Bourgeois, 1994).

4.2. Solubilité et gélification de l'ovalbumine

Faisant partie des albumines, l'ovalbumine est soluble dans l'eau pure. L'ovalbumine en solution peut gélifier très facilement et de manière irréversible sous l'effet de la chaleur. A partir de 55°-60°C, les solutions d'ovalbumine voient leur viscosité s'élever. Puis, si la température atteint 70°C, la protéine alors dénaturée donne naissance à un gel. Les étapes de la thermo-dénaturation sont les suivantes : (1) la protéine native est transformée en protéine dénaturée ; (2) la protéine dénaturée est à l'origine d'une agrégation soluble ou polymère ; (3) le gel ou coagulum est finalement obtenu à partir de l'agrégation (Froning, 1988 ; Thapon & Bourgeois, 1994). Des interactions hydrophobes et ioniques stabilisent le gel obtenu. De plus, le 4ème groupement thiol est démasqué et la protéine possède alors 4 groupements réactifs. On observe la formation de ponts disulfures intermoléculaires lors de la dénaturation, mais Doi et al. (1989) ont montré que ces ponts ne sont pas indispensables au processus de gélification. Cependant ces ponts disulfures rendent la coagulation thermique irréversible. Thapon & Bourgeois (1994) précisent que la formation et la qualité du gel sont influencées par le pH et la force ionique de la solution.

4.3. Emplois de l'ovalbumine

L'emploi premier de l'ovalbumine se situe au niveau des industries alimentaires, où sont exploitées ses propriétés gélifiantes, liantes, moussantes.

Stadelman et al. (1988) y font référence en parlant de l'albumen technique employé en tant qu'adhésif. Cependant, dans le secteur du bois, lorsque l'on mentionne les colles à base d'albumine, il s'agit essentiellement de sérum albumine provenant du sang (Marra, 1992, Lambuth, 1994).

5. Collagène et gélatine

5.1. Collagène

5.1.1. Nature du collagène

Le collagène entre dans la composition des structures de support des organismes. C'est le constituant principal des tissus conjonctifs fibreux (peau, os, tendons, cartilages). Le collagène correspond à environ un tiers de l'ensemble protéique des vertébrés (Poppe & Vincent, 1982).

L'observation du collagène révèle un ensemble de fibres lisses, blanches, opaques imbriquées dans un complexe de protéines annexes et de mucopolysaccharides. Du point de vue de sa structure primaire, le collagène se révèle assez constant indépendamment de sa provenance. Il se démarque des autres protéines par sa forte teneur en deux acides aminés hétérocycliques : la proline et l'hydroxyproline, chacune représentant 13% à 14% des acides aminés totaux (1 résidu acide aminé sur 5). On estime que cette caractéristique chimique est à l'origine de la rigidité structurelle. Les deux autres acides aminés les plus représentés sont le glycocolle (35 %, soit 1 résidu sur 3) et l'alanine (11%, soit 1 résidu sur 9) (Schoffeniels, 1981 ; Poppe & Vincent, 1982 ; Cheftel et al., 1985).

5.1.2. Mise en oeuvre du collagène

Le collagène est une protéine fibreuse insoluble. Dispersé en solution, il est capable de fixer une grande quantité d'eau sans se solubiliser (Cheftel et al., 1985). Toutefois, un traitement thermique suffisant (>65°C) en milieu humide provoque le déplissement et la dissociation du collagène. Il résulte de cette thermo-dénaturation, une solubilisation du collagène et une gélification lors du refroidissement de la solution.

D'un point de vue nutritionnel, le collagène ne représente pas une source protéique intéressante, car il est pauvre en acides aminés indispensables. De plus, à l'état natif, il est difficilement digestible. Une dénaturation thermique est nécessaire à l'abaissement de sa résistance à la digestion.

En réalité, le collagène, système fibreux, cristallin, ordonné est assez rarement utilisé sous sa forme native. C'est après sa transformation en gélatine qu'il est le plus souvent et le plus aisément mis en oeuvre.

5.2. Gélatine

5.2.1. Obtention de la gélatine

L'obtention de la gélatine, à partir de collagène, nécessite le clivage des structures de la protéine de départ, incluant le clivage de la structure de base. Ce processus implique la rupture de liaisons, inter ou intra moléculaires. Ainsi, le collagène, traité par action chimique plus ou moins modérée (voie acide ou alcaline), en association avec la chaleur, voit ses fibres se désolidariser en fibrilles. Ces dernières, hydrolysées, libèrent des unités monomères de tropocollagène dont la désorganisation de la triple hélice aboutit à la gélatine (Poppe & Vincent, 1982).

Selon que l'on effectue une hydrolyse plus ou moins drastique, on obtient des gélatines de poids moléculaires et de puretés variables (Triboulot et al., 1996). On trouve (par ordre décroissant de poids moléculaire et de pureté) :

- les gélatines photographiques (poids moléculaire 150.000 - 50.000) ;
- les gélatines alimentaires (poids moléculaire 100.000 - 20.000) ;
- les colles animales (ou colles fortes) (poids moléculaire 40.000 - 10.000).

5.2.2. Solubilité et gélification

La gélatine gonfle lorsqu'elle est placée dans un milieu aqueux (bonnes propriétés d'hydratation) et, dans la plupart des cas, un léger chauffage est nécessaire à sa solubilisation totale. On obtient, plus exactement, une dispersion de colloïde hydrophile : la gélatine est à l'état sol (Poppe & Vincent, 1982). Sous l'effet du refroidissement, on observe le passage de l'état sol à l'état gel. Les chaînes protéiques constitutrices de la gélatine contiennent à la fois des groupements aminés et carboxyliques, réactifs et ionisables. Ces deux types de sites, polaires et capables d'être chargés électriquement, interviennent dans les interactions protéine-eau et sont très largement responsables de la réticulation du système en gel. Le passage de l'état sol à l'état gel est rendu possible par la formation de divers types de liaisons entre les sites des nombreuses chaînes protéiques en présence. Les liaisons hydrogène sont prépondérantes dans la stabilisation des gels. Ces gels sont thermiquement réversibles, les cycles gélification/fusion pouvant être répétés plusieurs fois sans altération de leurs propriétés (Cheftel et al., 1985 ; Triboulot et al., 1996).

La gélatine peut donc se trouver sous forme gel ou sol, selon sa concentration, sa température et le pH de la solution. Pour une température et une concentration données, la viscosité d'une solution de gélatine dépendra de son pH. On observe un minimum de viscosité au pHi de la protéine (4,5).

5.2.3. Utilisations de la gélatine

La gélatine est très largement utilisée dans les industries agro-alimentaires, plutôt pour ses propriétés fonctionnelles (en tant qu'agent de texture) que nutritionnelles. La gélatine est plus digestible que le collagène, mais est fondamentalement constituée des mêmes acides aminés. Outre le fait d'être hydrosoluble à chaud et capable de gélification réversible, la gélatine se révèle être aussi un bon émulsifiant et posséder un pouvoir colloïdal protecteur. Ses solutions limpides sont pratiquement inodores et insipides, en faisant ainsi une matière idéale pour la formulation de produits alimentaires.

Les gélatines les plus impures, impropres à une utilisation alimentaire, sont, comme nous l'avons décrit précédemment, les constituants des colles animales dites colles fortes, utilisées dans le collage du bois. Ce sont ces gélatines qui semblent les plus appropriées à l'établissement d'un réseau polymère au sein du bois.

Les colles animales figurent parmi les plus anciennes et leur utilisation revêt, encore le plus souvent, un caractère artisanal. Selon la provenance protéique, on distingue des colles d'os, de peau, de nerf, toutes regroupées sous le terme générique de "colles fortes". Une appellation particulière fait, en général, mention de l'origine précise de la colle. Ces colles, sous forme de granules ou de poudre, sont dispersées dans l'eau et après gonflement, sont chauffées légèrement (température<60°C) afin d'éviter toute dégradation. Dès que la colle atteint une viscosité adéquate, elle est déposée sur les surfaces à coller. Cette application a pour conséquence de transformer le sol en gel, en passant par une phase dite "collante". Les parties à coller doivent être assemblées avant l'apparition de cette phase collante. Le joint se solidifie alors, grâce à la formation du gel et au passage de l'eau dans le bois (Elbez, 1991 ; Marra, 1992 ; Lambuth, 1994).

Ces colles longtemps utilisées, présentent de nombreux avantages. Elles possèdent des possibilités de reprise très appréciées, notamment dans le cadre de la restauration de meubles anciens (Triboulot et al., 1996). Leur vitesse de prise est rapide et les assemblages ont une bonne résistance mécanique. Cependant, leur préparation et leur utilisation à l'état chaud sont contraignantes. Par ailleurs, alors que la longévité des joints de colle est très bonne en atmosphère sèche normale, ces joints offrent une faible résistance à l'état humide ce qui entraîne des risques de dégradation biologique. A moins d'y intégrer un produit de préservation, on les recommande pour des usages intérieurs uniquement (Subramanian, 1981). Ces colles sont toujours utilisées dans les industries papetières (collage des papiers, enveloppes,...) (Smook, 1989 ; Lambuth, 1994).

6. Caséines

Le lait contient de nombreuses protéines, importantes d'un point de vue nutritionnel et largement utilisées pour leurs propriétés technologiques dans les industries alimentaires. Ces protéines présentent une grande diversité de structures et de propriétés physico-chimiques, en plus d'une diversité inter-espèces.

Un lait d'origine bovine contient, en moyenne, de 30 g à 35 g de protéines/l. Parmi les protéines les plus représentées, on distinguera : les caséines (80% des protéines totales), et les protéines du lactosérum (lactoglobulines, lactalbumines, immunoglobulines,...) (Cheftel et al., 1985 ; Jeness, 1988).

6.1. Obtention et structures

La caséine est facilement isolable du lait, soit par centrifugation, soit par précipitation isoélectrique à pH=4,6 (Whitney, 1988). En réalité, les techniques de fractionnement ont permis d'isoler 4 types de caséines : caséine α_{S1}, caséine α_{S2}, caséine β et caséine κ. Pour chaque type de caséines, on dénombre de nombreux variants génétiques, dûs au polymorphisme génétique des protéines. Ces différentes caséines ont de faibles proportions de structures secondaires et tertiaires, mais présentent un degré d'association très élevé (structure quaternaire), et forment des micelles (Cheftel et al, 1985 ; Swaisgood, 1992). Dans les micelles de caséines, on trouve en général les caséines α_{S1}, α_{S2}, β, κ, dans les proportions 3:8:3:1 (Swaisgood, 1992). Ces micelles (diamètre moyen 15 à 20 nm) sont en réalité constituées de sub-micelles disposées "en framboise". Nous ne considérerons pas les caséines individuellement, mais énoncerons quelques caractéristiques communes à toutes.

Les caséines sont constituées de chaînes polypeptidiques linéaires phosphorylées (avec plusieurs niveaux de phosphorylation possibles). Leur structure primaire (riche en acides glutamique et aspartique) leur confère une hydrophobicité moyenne légère, permettant l'association en micelles par répartition différente des charges. Il est intéressant de constater que la valeur de leur pHi déterminée expérimentalement (4,6) est très voisine de celle calculée d'après leur composition chimique, indiquant que tous les groupements ionisés des molécules restent accessibles (Cheftel et al, 1982).

6.2. Solubilité, gélification et coagulation

Les caséines, contenant environ 38% d'acides aminés hydrophobes, sont dispersables, plutôt que réellement solubles dans l'eau pure. On obtient une dispersion colloïdale. Leur solubilité, minimale au pHi, est affectée par le pH et la force ionique de la solution (Brown, 1988).

Il est possible d'obtenir une coagulation protéique à partir de micelles dispersées en solution aqueuse, par une hydrolyse ménagée générée par une protéase (chymosine, pepsine) ou par addition d'ions calcium (Brown & Ernstrom, 1988). Les micelles de caséines sont très thermostables, et ne subissent aucun changement en deçà de 90°C. Cependant, on constate des agrégations micellaires (chaînes de micelles) à partir de dispersions aqueuses de caséine à pH=6,8, portées à 100°C pendant au moins 30 minutes (Brown, 1988). Les interactions hydrophobes sont les forces intervenant majoritairement dans ces phénomènes. Ainsi, lorsque le pH est acide et proche du pHi, il est plus facile d'induire la coagulation par élévation de température.

Du fait de leur légère hydrophobicité, les caséines ne sont pas toujours d'une mise en oeuvre facile. Ces difficultés technologiques ont amené les utilisateurs de caséines à les transformer en caséinates.

6.3. Caséinates

L'obtention des caséinates peut se résumer ainsi : il s'agit d'obtenir, à partir d'une suspension de caséines, un produit soluble, plus facile d'emploi et gardant une qualité nutritionnelle identique et des propriétés proches de celles des caséines dont ils sont issus.

Globalement, la technique utilisée est de réaliser une suspension aqueuse de caséines et de la mettre en contact avec une solution alcaline. L'augmentation du pH de la solution entraîne la formation de caséinates. Après récupération, ces derniers sont séchés et peuvent être broyés avant stockage et utilisation (Segalen, 1982).

Au nombre des caséinates les plus utilisés, on peut citer :

- les caséinates de sodium (bases utilisées : hydroxyde de sodium, bicarbonate de sodium, phosphate de sodium) ;
- les caséinates de calcium (bases utilisées : hydroxyde de calcium, carbonate, citrate, phosphate de calcium) ;
- les caséinates de potassium (bases utilisées : hydroxyde de potassium, phosphate de potassium).

Il existe des caséinates moins courants (caséinates de magnésium, d'ammonium,...), et même des caséinates mixtes.

6.4. Utilisations des caséines et caséinates

Caséines et caséinates sont très employés dans les industries alimentaires. Ce sont des charges nutritionnelles ou des compléments de matière première, intégrés dans de nombreuses préparations culinaires. Ce sont de bons émulsifiants et agents de liaison. Pour les caséinates,

ces propriétés sont plus ou moins développées selon la solution alcaline utilisée lors de leur obtention.

Depuis très longtemps, la caséine a été utilisée pour formuler des colles à bois. Mais, après un large essor au début de ce siècle, elles sont tombées en désuétude. On distingue deux grands types de formulation à base de caséines : des colles à froid et à chaud. Les colles caséines à froid ont été, et, sont encore utilisées pour les constructions ou réparations d'assemblages à base de bois pour l'aéronautique (caséines aviation). Il existe aussi des colles caséines à froid (caséines ordinaires) servant au collage de bois de résineux et au bouchonnage des noeuds de pin maritime. Les caséines à chaud peuvent servir à l'assemblage de contreplaqués et au collage d'emballages alimentaires. Elles ont aussi servi au collage des charpentes lamellées-collées car elles présentent une excellente tenue à la chaleur sèche dans les lieux peu ou pas ventilés, mais ont été remplacées depuis par d'autres formulations (Elbez, 1991 ; Marra, 1992 ; Lambuth, 1994).

Ces deux types de colles présentent l'avantage d'un bon accrochage sur le bois. Elles permettent des collages souples et des assemblages mécaniquement résistants, le joint de colle se formant par la gélification protéique et par la diffusion de l'eau dans le bois. Elles ont un bon comportement à l'humidité, mais restent cependant, dans ces conditions, un terrain de prédilection pour le développement de moisissures. Elles sont beaucoup plus résistantes à l'eau que les colles fortes, et afin qu'elles soient plus durables, il est possible d'ajouter des fongicides à leur formulation (PCP, NaPCP). Elles sont également bien résistantes au feu.

Les caséines peuvent aussi être utilisées industriellement pour la formation de galalithe (matière plastique), le collage des papiers et la formulation de certaines peintures (Segalen, 1982).

7. Farine de soja

7.1. Obtention et composition de la farine de soja

7.1.1. Procédés d'obtention

Le soja (*Glycine max*) est une légumineuse traditionnellement cultivée en Asie. Dès 1950, sa culture est devenue courante puis intensive en Amérique du Nord, gagnant peu à peu l'Europe. Les graines de soja sont particulièrement riches en grains d'aleurones où sont concentrées des protéines (nombreuses protéines de stockage et des protéines fonctionnelles). Le soja est une des sources les plus importantes de protéines végétales (Uzzan, 1988 ; Guegen & Certelli, 1994).

Les farines de soja sont obtenues à partir des graines retirées des gousses. Ces graines (cotylédons) sont ensuite broyées puis délipidées. Le matériel huileux est enlevé, soit en utilisant une méthode de broyage sous haute pression, soit en pratiquant une extraction (au pentane ou à l'hexane) sur le broyat brut. Le broyat ainsi obtenu est appelé "farine de soja" (Lambuth, 1994). Nous parlerons désormais de "farine de soja", employant le terme générique, sachant qu'il existe, en réalité, diverses farines de soja. En effet, une grande variabilité est possible au niveau de la composition des graines, due d'une part à l'influence du génotype de la plante, et d'autre, part à l'interaction entre génotype et environnement.

7.1.2. Composition

La teneur en eau du broyat reste relativement basse (environ 10%). La farine de soja est très riche en protéines (environ 45-55% du poids sec). On distingue deux fractions protéiques : les abumines (10% des protéines totales) et les globulines (90% des protéines totales). Les cendres (4% à 5% du poids sec) sont riches en fer et en zinc. Les autres composants de la farine sont équitablement partagés entre lipides et glucides (polysaccharides et oligosaccharides solubles) (Cheftel et al., 1985).

a) Albumines

Les albumines constituent un groupe incluant de nombreuses protéines fonctionnelles. Certaines ont un rôle de protection des graines. Parmi ces dernières, on trouve les lectines et des inhibiteurs de trypsine (Guegen & Certelli, 1994).

Les lectines sont des glycoprotéines tétramères (poids moléculaire : 120.000). Elles ont la propriété d'agglutiner les cellules sanguines. Des lectines extraites de farines délipidées de soja conservent une excellente capacité d'agglutination (Guegen & Certelli, 1994). Putman et al. (1989) ont extrait des lectines de l'écorce interne de *Robinia pseudacacia* (appartenant aussi à la famille des légumineuses), et ont montré que ces composés inhibaient effectivement la croissance de cultures fongiques.

La farine de soja contient aussi des inhibiteurs de trypsine, restant efficaces même dans la farine délipidée. On distingue l'inhibiteur anti-trypsique de Kunitz (poids moléculaire : 21.500) et l'inhibiteur de Bowman-Birk anti-trypsique et anti-chymotrypsique (poids moléculaire : 8.000) (Cheftel et al, 1985).

Il est difficile d'évaluer les teneurs exactes en lectines et en inhibiteurs de trypsine. Ces teneurs sont évaluées par des tests d'agglutination et d'inhibition, respectivement. A titre indicatif, Guegen & Certelli (1994) donnent les valeurs suivantes pour une farine délipidée : hémato-agglutination, 1.600 à 3.200 unités/g de matière sèche ; activité anti-trypsique, 85 unités/g de matière sèche.

b) Globulines

Les globulines constituent un groupe très complexe de nombreuses familles protéiques (protéines de stockage). Ces familles sont caractérisées par leur coefficient de sédimentation. Le soja contient principalement des globulines 11S (20 à 35% des protéines totales) et des globulines 7S (30 à 35% des protéines totales). Les globulines 11S (ou glycinine) forment un groupe très divers d'héxamères (poids moléculaire : 350.000 à 400.000). Les globulines 7S sont des trimères très hétérogènes elles aussi (poids moléculaire : 150.000 à 180.000). Les globulines 7S, essentiellement représentées par la β-conglycine, sont plus solubles que les protéines 11S (Wright, 1988 ; Guegen & Certelli, 1994).

Du fait de leur quantité dans les broyats, les globulines sont essentiellement responsables des propriétés de la farine de soja.

7.2. Solubilité de la farine de soja

La farine de soja se disperse dans l'eau, mais sa solubilité est très affectée par son taux élevé de globulines. Sa solubilité est minimale aux alentours de son pHi (entre 4,2 et 4,6) (Cheftel et al., 1985). La solubilité de la farine de soja est affectée par la force ionique de la solution. Une concentration de sels monovalents à 0,05 M suffit souvent à rendre la farine totalement soluble.

Guegen & Certelli (1994) précisent que la farine de soja délipidée (obtenue dans des conditions douces) est généralement beaucoup plus soluble, d'où une mise en oeuvre simplifiée.

7.3. Gélification

La farine de soja dispersée en solution aqueuse gélifie très facilement lorsqu'elle est chauffée au dessus de sa température de dénaturation (70°C). Les globulines 7S sont dénaturées dès 67°C, suivies par les globulines 11S lorsque la température atteint 80°C. A ces températures, leur structure secondaire est irréversiblement altérée (réduction des feuillets β au profit de zones apériodiques). La dénaturation conduit à l'obtention d'un progel extrêmement visqueux. Lors du refroidissement, ce progel est stabilisé en un véritable gel par des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et des ponts disulfures (Cheftel et al., 1985 ; Gueguen & Certelli, 1994). Cheftel et al. (1985) précisent toutefois qu'une concentration minimale de farine (1% p/v) est indispensable à la gélification. En deçà de ce seuil, les molécules se dissocient sous l'effet de la chaleur, au lieu de s'agglutiner.

Les protéines de soja sont largement utilisées lors d'opérations de texturation dans les industries alimentaires. Des solutions très concentrées (> 5-10%) sont déposées sur une surface métallique plane, et chauffées à 95°C jusqu'à l'obtention de la coagulation protéique. Le film

obtenu présente de bonnes capacités de rétention d'eau et des substances dissoutes (Cheftel et al., 1985). Il est solide et peut ensuite être plissé, coupé, pressé,..., et est essentiellement utilisé pour la retexturation des viandes (Uzzan, 1988).

7.4. Emplois de la farine de soja

L'utilisation première de la farine de soja est l'alimentation animale et humaine. Il s'agit d'une source non négligeable d'amino-acides indispensables. D'un point de vue culinaire, on l'utilise comme agent texturant, émulsifiant ou gélifiant. Il semble que la saveur des protéines de soja limite parfois leurs utilisations.

La farine de soja a été depuis longtemps intégrée à des adhésifs pour le bois. Dans les années 1930-1940, ce type de farine a été la base de colles pour contreplaqués (Elbez, 1991). Ces adhésifs peu coûteux permettent de coller un bois même très sec et offrent la versatilité d'un pressage à chaud comme à froid. Les contreplaqués réalisés avec ces colles ne sont pas recommandés en usage extérieur, à moins d'introduire un produit de préservation dans la formulation (naphténate de cuivre, quinolate de cuivre, PCP) pour éviter tout risque de développement de moisissures (Subramanian, 1981 ; Marra, 1992 ; Lambuth, 1994). Les farines de soja ont aussi été utilisées en mélange : colles farine de soja/sang, colles farine de soja/caséines, pour des usages intérieurs. Elles peuvent aussi servir à la fabrication des papiers collés et laminés (Smook, 1989). Cependant, le fait que ces farines ne soient pas toxiques, issues d'une ressource renouvelable et qu'elles constituent un surplus agricole important, les remet un peu "au goût du jour", en tant que base pour les colles des matériaux composites à base de bois (Kuo et al., 1998).

Les protéines, et en particulier l'ovalbumine, la gélatine, les caséines et les farines de soja, sont potentiellement utilisables pour créer un réseau polymère fixant le bore dans le bois. En effet :

- ces protéines et l'acide borique sont dispersables dans l'eau, et seront imprégnables dans le bois ;
- ces protéines possèdent de nombreux sites capables de fixer le bore ;
- les gels protéiques sont faciles à obtenir ;
- les formulations envisagées sont sans danger pour l'environnement et les organimes non cibles.

Introduire des protéines dans le bois peut toutefois ressembler à une hérésie, le taux d'azote dans le bois étant un facteur limitant à la croissance des micro-organismes. Mais, protégées par l'acide borique, les protéines ne seront pas utilisables comme sources trophiques. En outre, certaines protéines contiennent des facteurs anti-nutritionnels intéressants.

Objectif du travail

D'après l'étude bibliographique, nous avons constaté que le secteur de la préservation du bois est demandeur de nouveaux moyens de protection non préjudiciables pour l'environnement et les utilisateurs. Le bore, sous forme d'acide borique, est un principe actif efficace contre les agents de biodégradations, tout en étant sans danger pour le biotope et les organismes non-cibles. Ce composé, soluble dans l'eau, imprègne aisément le bois (même les essences réfractaires). Inversement, cette solubilité le rend particulièrement lessivable lorsque le bois est placé dans des conditions d'hygrométrie élevée.

Afin d'élargir les conditions d'utilisation du bore, nous nous proposons de l'inclure dans un réseau polymère nature et non toxique, à l'intérieur du bois. Le bore serait libéré graduellement de ce réseau lorsque l'humidité est à même de promouvoir les attaques biologiques. Son taux de lessivage serait donc réduit, mais son activité resterait intacte lors de sa diffusion dans le bois.

Les tanins condensés peuvent fixer l'acide borique, cette fixation générant une réticulation du système. Ces tanins possèdent, par ailleurs, certaines qualités anti-microbiennes, tout en étant peu toxiques pour les autres organismes. Ils seront donc envisagés comme base d'un réseau polymère fixateur de bore dans le bois.

Les protéines seront, elles aussi, considérées dans l'élaboration de ces nouveaux systèmes de préservation du bois. Ovalbumine, gélatine, caséines et farine de soja possèdent de nombreux sites réactifs capables de fixer l'acide borique. Elles peuvent gélifier et inclure le bore dans les réseaux protéiques formés. Ces protéines alimentaires ne sont sources d'aucune toxicité.

Un de nos objectifs premiers sera d'établir, à l'aide de tests rapides, une sélection entre les associations prometteuses ou non, en termes de réduction du lessivage du bore et de résistance biologique aux organismes lignivores.

Dans l'éventualité de systèmes efficaces, nous les soumettrons aux tests normalisés en vigueur. Ces produits seront mis en oeuvre sur bois massif, mais nous envisagerons aussi une diversification d'emploi sur des matériaux composites, de type panneaux.

Matériels et Méthodes

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

I Caractérisation chimique de l'association entre ovalbumine et acide borique

1. Comportement de l'ovalbumine thermo-dénaturée en présence d'acide borique

Sous agitation, des quantités croissantes d'acide ortho-borique normapur (Prolabo) sont additionnées à 50 ml d'une solution d'ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) dans l'eau distillée. Les quantités d'acide borique s'échelonnent de 0,14 g à 19,72 g, afin d'avoir des concentrations en bore allant de 0,5 mg/ml à 70 mg/ml, limite de solubilité à 99°C (Pascal et al., 1961). Ces solutions sont portées à ébullition, afin de solubiliser totalement l'acide borique et de thermo-dénaturer simultanément l'ovalbumine.

Le coagulum d'ovalbumine étant obtenu, l'ensemble (coagulum + liquide résiduel) est centrifugé à 18.000 rpm pendant 40 min à 20°C. Les surnageants sont récupérés et leur teneur en bore est dosée.

2. Titrations acide/base

On réalise diverses titrations afin de caractériser d'éventuelles associations entre ovalbumine et bore inorganique (Job, 1928 ; Yoe & Jones, 1944).

Trois types de titrations sont effectuées à l'aide d'un titrateur Metrohm E436 à électrode combinée verre/calomel :

- 25 ml d'une solution d'acide ortho-borique normapur (Prolabo) à 5% (p/v) sont titrés par une solution de soude 1 M (Prolabo) ;

- 25 ml d'une solution d'ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) sont titrés par une solution d'acide ortho-borique normapur à 5% (p/v) ;

- des solutions de 25 ml d'ovalbumine additionnées de 0,5 g, 1 g, 2 g d'acide ortho-borique normapur sont titrées par de la soude 1 M.

3. Spectrographie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

3.1. RMN du proton ^{1}H à l'état liquide

L'étude RMN du ^{1}H à l'état liquide a été réalisée sur une solution d'ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v), et sur une solution d'ovalbumine à 1% (p/v) et d'acide borique normapur (Prolabo) à 5% (p/v), en mélange. Les solutions sont réalisées dans l'eau deutériée. Les spectres ont été obtenus sur un spectrophotomètre Brucker à transformée de Fourier, à 250 MHz.

3.2. RMN du carbone ^{13}C à l'état solide

L'étude RMN du ^{13}C à l'état solide (CP-MAS) a été réalisée pour un coagulum d'ovalbumine obtenu par thermo-dénaturation d'une solution à 1% (p/v). Un spectre a aussi été obtenu pour un coagulum issu de la thermo-dénaturation d'un mélange aqueux d'ovalbumine à 1% (p/v) et d'acide borique normapur à 5% (p/v). Les coagulums sont séchés à 103°C jusqu'à l'état anhydre et finement broyés avant leur utilisation.

Les spectres ont été obtenus sur un spectrophotomètre Brucker MSL 300-FT-NMR. Les spectres de RMN ^{13}C CP-MAS sont réalisés à une fréquence de résonance de 75,45 MHz, avec un simple spin de 3,5 kHz et une polarisation croisée de 1,0 ms. Les déplacements chimiques sont calculés par rapport au tétraméthylsilane. Le temps d'acquisition est de 5 s pour un nombre d'accumulation d'environ 1.000. La précision des spectres est de 1 ppm. Les temps de relaxation des différents composés sont calculés selon Pretsch et al. (1989).

4. Microscopie électronique à balayage

Des éprouvettes d'aubier de pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) de dimensions 50mm x 5mm x 15mm ont été imprégnées avec les solutions aqueuses suivantes :

- ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) ;
- mélange ovalbumine 1% (p/v) - acide borique normapur (Prolabo) à 5% (p/v).

Les éprouvettes sont mises à sécher pendant 4 h à 103°C dans une hotte ventilée, afin de dénaturer thermiquement l'ovalbumine. Après un conditionnement d'une journée à l'air libre, des coupes de ces éprouvettes sont réalisées au microtome. Ces coupes sont métallisées à l'or et au palladium avant d'être observées en microscopie électronique à balayage.

5. Délavage d'un coagulum d'ovalbumine et d'acide borique

Le coagulum formé lors de la thermo-dénaturation de 50 ml d'une solution aqueuse d'ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v), additionnée de 2,5 g d'acide ortho-borique normapur (Prolabo) (soit à 5% p/v) est récupéré après centrifugation à 18.000 rpm (40 min, 20°C) (cf § I, 1.). Son délavage est pratiqué en le plongeant dans 50 ml d'eau distillée pendant 5 jours à 20°C, l'eau étant changée toutes les 24 h. Le lessivage est effectué dans un récipient en plastique (pas de verrerie borosilicatée), sous agitation modérée. Le coagulum est maintenu sous la surface de l'eau par une grille plastifiée. Les eaux de lessivage sont récupérées et leur teneur en bore est déterminée.

II Traitements du bois et évaluation de l'efficacité des formulations contre des organismes lignivores

1. Efficacité des formulations contre des Basidiomycètes Essais accélérés

Dans l'étude bibliographique, nous avons signalé que le secteur de la préservation du bois était demandeur de nouveaux produits de préservation peu toxiques, assurant une protection du matériau en classe de risques 3. Afin de savoir si les formulations que nous avons établies répondent à cette demande, nous avons testé leur efficacité contre des champignons Basidiomycètes, organismes lignivores caractéristiques de cette classe de risques.

Lorsque l'on veut évaluer l'efficacité d'un traitement du bois contre des champignons Basidiomycètes, la référence pour des essais de laboratoire est la norme EN 113 (1980). Le principe de cette norme est le suivant : des éprouvettes d'une essence très dégradable et facilement imprégnable sont traitées avec différentes concentrations d'une formulation donnée. Les éprouvettes sont ensuite soumises à l'attaque de champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé. Après 16 semaines d'exposition aux champignons, les éprouvettes sont retirées des cultures fongiques et leur perte de masse est évaluée. Plus la perte de masse est faible, et plus le traitement est considéré comme efficace. Si l'on prend en compte les temps de préparation et le temps d'exposition aux champignons, il faut environ 6 mois pour compléter un essai selon cette norme. Par ailleurs, si l'on veut faire des essais de délavage sur des éprouvettes traitées, la référence est la norme EN 84 (1979). La durée du délavage (14 jours) et du séchage

qui le suit, ramène à environ 7 mois la durée totale d'une EN 113 avec des éprouvettes traitées et lessivées.

Ces tests normalisés sont longs et nous avons choisi d'établir un protocole d'essais biologiques et de lessivage accélérés. Avant d'entrer dans le détail, les principales étapes du protocole appliqué aux éprouvettes sont mentionnées dans la figure 19. Nous allons stipuler les modifications apportées (par rapport aux méthodes normalisées) lors de l'élaboration des tests accélérés et en expliquer les raisons.

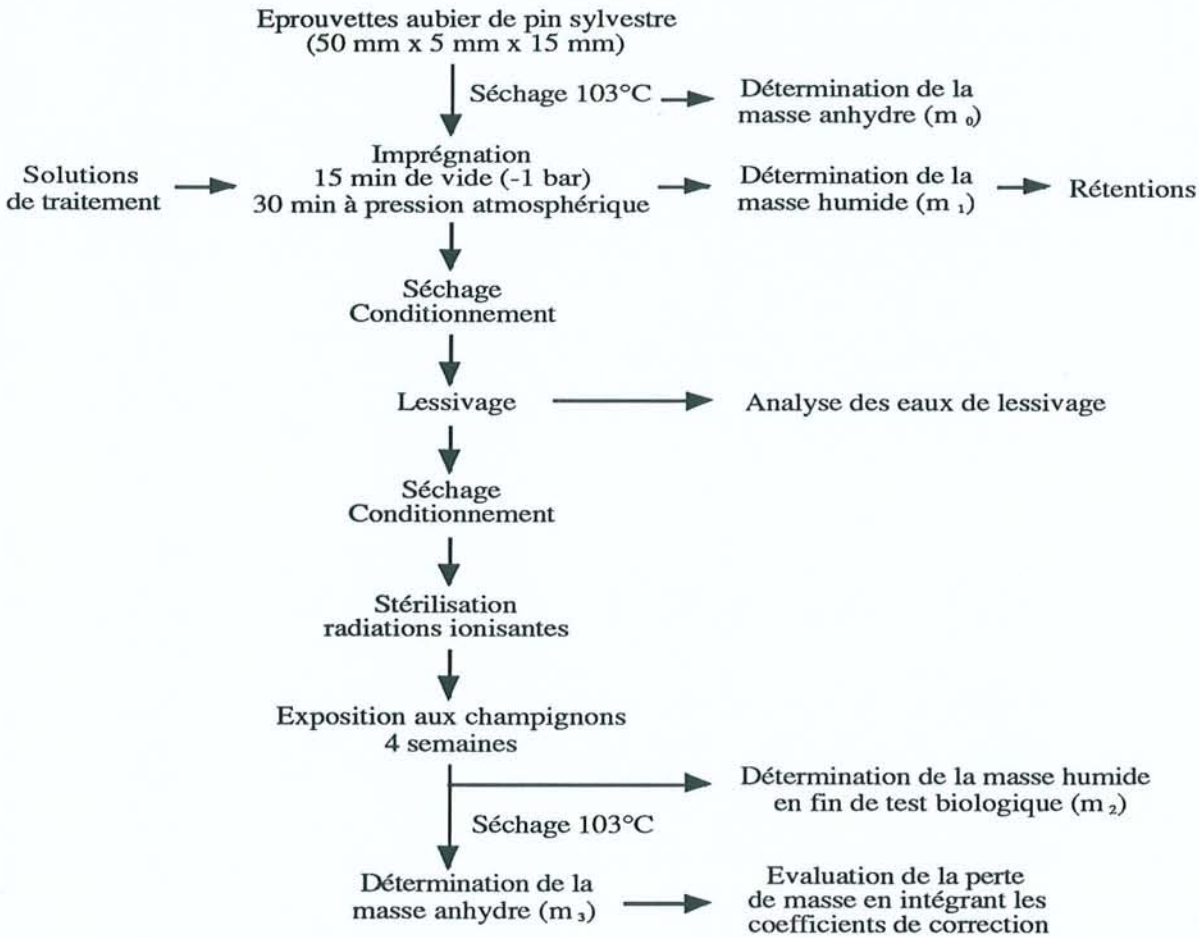


Figure 19. Etapes principales lors de l'évaluation de l'efficacité de formulations par des tests accélérés.

1.1. Echantillonnage du bois

Afin de conserver les mêmes données dendrométriques, nous avons découpé de petites éprouvettes dans des échantillons normalement destinés à la réalisation de la norme EN 113. Les

éprouvettes des essais accélérés sont en aubier de pin sylvestre *(Pinus sylvestris)*, et sont de dimensions 50mm (longitudinal) x 5mm (transversal) x 15mm (radial) (au lieu 50mm x 25mm x 15mm pour la norme EN 113). Ainsi, le ratio surface/volume de bois est multiplié par 2,3, ce qui permet aux attaques fongiques d'être plus sévères en un temps plus court. D'un point de vue anatomique, les éprouvettes restent représentatives de la structure du bois, car seule la section transversale est réduite.

Tout comme dans la norme EN 113, on tolèrera une masse volumique moyenne $\pm$ 10% pour les éprouvettes traitées et $\pm$ 20% pour les éprouvettes témoins, toutes les éprouvettes étant à la même humidité relative.

1.2. Séchage et détermination de la masse anhydre m_0

Avant l'imprégnation les éprouvettes sont séchées 10 h à 103°C puis maintenues à l'état anhydre (dans un dessicateur, en présence de P_2O_5) jusqu'à l'imprégnation. La masse anhydre avant traitement (m_0) est déterminée au mg près.

1.3. Imprégnation des éprouvettes

Les éprouvettes sont placées dans un réacteur d'imprégnation et soumises au cycle suivant :

- 15 min de vide à -1 bar ;
- introduction de la solution de préservation jusqu'au recouvrement des éprouvettes ;
- 30 min à pression atmosphérique.

A l'issue de l'imprégnation, les éprouvettes sont pesées au mg près (masse humide m_1). Les rétentions sont évaluées d'après le gain de masse (m_1 - m_0) et la concentration des produits de traitement. Les rétentions sont exprimées en kg/m^3 ou en % (p/p), la masse volumique des éprouvettes étant précisée (Carey, 1998). Pour un produit donné, on tolèrera un écart de 15% par rapport à la rétention moyenne d'un lot d'éprouvettes.

Selon la solution de traitement, les éprouvettes seront mises à sécher à l'étuve à 103°C ou à sécher à l'air libre. Les précisions sur le mode de séchage seront données avec la composition des solutions de traitement (cf § II, 1, 1.8.). La norme EN 113 stipule que le bois ne doit pas avoir subi de traitement thermique au delà de 60°C. Cependant, un séchage à l'étuve à 103°C est considéré comme une modification mineure, et n'altère pas les résultats obtenus lors de l'exposition du bois aux cultures fongiques (Anagnost & Smith, 1997 ; Van Acker et al., 1998).

1.4. Délavage, séchage et conditionnement des éprouvettes

Le bois imprégné et séché est soumis à un délavage. Chaque éprouvette est plongée dans 50 ml d'eau distillée et maintenue immergée par des masselottes. Toutes les faces des éprouvettes sont en contact avec l'eau. Les éprouvettes sont délavées individuellement, sous agitation, dans des récipients en plastique, à 20°C. L'eau est changée toutes les 24 h pendant 5 jours. Les eaux de lessivage sont récupérées pour leur analyse ultérieure.

A l'issue du délavage, les échantillons sont séchés 1 semaine à l'air libre, puis conditionnés 2 semaines à 20°C et à 65% d'humidité relative. Après stérilisation aux radiations ionisantes (comme stipulé dans l'EN 113), les éprouvettes sont soumises à l'action de champignons lignivores.

1.5. Cultures fongiques

Les cultures fongiques sont réalisées en boîtes de Pétri sur un milieu gélosé. La composition du milieu est : 40 g d'extrait de malt (Labosi), 20 g d'agar-agar (Labosi), 1 l d'eau distillée. Le milieu est stérilisé à 121°C pendant 20 min avant d'être distribué de manière équivalente dans les boîtes de Pétri. Après refroidissement, les milieux sont inoculés avec un disque gélosé de mycélium fongique (diamètre 1 cm) d'une culture âgée de 2 semaines. Les boîtes sont laissées à incuber à 25°C et à 70% d'humidité relative jusqu'à ce que le mycélium ait recouvert la plage de milieu de culture (de 1 à 2 semaines en moyenne).

Les champignons Basidiomycètes dont nous disposons sont :

- *Coniophora puteana* (Schumacher ex Fries) Karsten, souche BAM Ebw. 15, pourriture cubique sur résineux et feuillus ;
- *Gloeophyllum trabeum* (Persoon ex Fries) Murrill, souche BAM Ebw. 109, pourriture cubique sur résineux et feuillus ;
- *Poria placenta* (Fries) Cooke sensu J.Eriksson, souche FRPL 280, pourriture cubique sur résineux ;
- *Coriolus versicolor* (Linnaeus) Quelet, souche CTB 863 A, pourriture fibreuse sur feuillus.

1.6. Répartition des éprouvettes et exposition aux champignons

Les éprouvettes de bois sont placées dans les boîtes de Pétri, directement sur le mycélium.

La répartition des éprouvettes est établie comme suit :

- par traitement

* on place 3 éprouvettes traitées par boîte de Pétri et par champignon considéré. En plus de ces 3 éprouvettes traitées, on dispose, dans la même boîte, 1 éprouvette témoin non traitée ;

* 3 éprouvettes traitées sont déposées sur un milieu gélosé non inoculé avec une souche fongique. Ces éprouvettes sont utilisées pour estimer la perte de masse (m_3 - m_0) due uniquement à la diffusion du produit durant le temps d'incubation. Cette perte de masse correspond au coefficient de correction ;

- par série de traitement

* on place 3 éprouvettes témoins non traitées par boîte de Pétri. Deux boîtes de Pétri sont utilisées par champignon considéré (soit au total 6 éprouvettes témoins dites "témoins de virulence").

Les boîtes de Pétri pourvues des diverses éprouvettes de bois sont maintenues à 25°C et à 70% d'humidité relative pendant 4 semaines.

1.7. Examen des éprouvettes et évaluation de l'efficacité des traitements

A l'issue des 4 semaines d'incubation, les éprouvettes sont retirées des boîtes de Pétri. Celles placées dans les cultures fongiques sont débarassées du mycélium adhérent. Les éprouvettes sont pesées au mg près (masse humide m_2). Toute éprouvette dont l'humidité est inférieure à 65% ne sera pas prise en compte dans l'essai. Les éprouvettes sont alors séchées à 103°C jusqu'à obtention de leur masse anhydre (m_3), pesée au mg près.

L'efficacité du traitement est estimée par la perte de masse des éprouvettes calculée selon :

$$\text{Perte de masse } (\%) = [(m_0 - m_3) \times 100 / m_0]$$

La masse sèche après exposition aux champignons (m_3) doit être corrigée, si nécessaire, en tenant compte des variations de masse non liées à l'activité des champignons lignivores, à l'aide du coefficient de correction.

Les pertes de masse des éprouvettes traitées seront comparées aux éprouvettes "témoins de virulence", comme recommandé par Wazny (1995). On évaluera visuellement la colonisation fongique en surface de l'éprouvette témoin placée avec les 3 éprouvettes traitées. Cet examen permettra de s'assurer que la souche est bien active dans la boîte de Pétri.

1.8. Formulations

Nous avons envisagé diverses formulations pour le traitement du bois. Ce sont toutes des solutions aqueuses préparées dans l'eau distillée. Avant utilisation, les solutions sont pesées (au mg près), pour s'assurer du calcul des rétentions.

Selon leur type, les associations mises en oeuvre dans le traitement du bois sont regroupées par lot.

1.8.1. Lot 1 : associations acide borique-tanins condensés

Pour le traitement du bois avec l'association des tanins condensés et de l'acide borique, nous avons utilisé un système de double imprégnation et de séchage à l'étuve (Pizzi & Baecker, 1996). Le bois a été imprégné avec des solutions d'acide borique normapur (Prolabo) et de tanins condensés (Diteco Ltd). Les tanins condensés sont extraits d'écorces de pin (*Pinus radiata*) à l'eau chaude (70°C) avec 4% de sulfite de sodium et 1% de carbonate de sodium. Ils se présentent sous forme de poudre séchée. La teneur en tanins de cette poudre commerciale est de 70%. Les combinaisons utilisées pour les imprégnations sont données dans le tableau 4.

Tableau 4. Combinaisons utilisées pour imprégner des éprouvettes de pin avec des solutions d'acide borique et de tanins condensés. Les concentrations des solutions sont données en % (p/v).

	1ère imprégnation		2ème imprégnation	
Traitement 1	tanins à 4%	Séchage à	acide borique à 2%	Séchage à
Traitement 2	tanins à 7%	103°C	acide borique à 2%	103°C
Traitement 3	acide borique à 2%	pendant	tanins à 4%	pendant
Traitement 4	acide borique à 2%	8 h	tanins à 7%	8 h
Traitement 5	acide borique à 2%		-	

1.8.2. Lot 2 : ovalbumine utilisée seule

Ce lot n'a été réalisé qu'en vue d'estimer la rétention de protéines dans le bois, à partir de solutions d'ovalbumine de concentrations diverses. Cette expérience a permis de déterminer la concentration protéique à utiliser pour le traitement des lots suivants. Les éprouvettes traitées n'ont été soumises à aucun essai biologique.

Le protocole diffère un peu par rapport aux directives fournies précédemment. Des éprouvettes d'aubier de pin sylvestre de dimensions 50mm x 25mm x 15mm, ont été imprégnées par des solutions d'ovalbumine (Prolabo) à 1%, 2%, 3%, 4% et 5% (p/v) (10

éprouvettes traitées par concentration). Ces éprouvettes sont maintenues à l'état anhydre jusqu'à l'imprégnation et leur masse anhydre m_0 a été déterminée au mg près. Elles ont ensuite été soumises au cycle d'imprégnation : 20 min à -1 bar, introduction de la solution d'imprégnation, 2 h à pression atmosphérique. A l'issue du traitement, la masse humide (m_1) est déterminée au mg près. Les rétentions sont calculées à partir des gains de masse et des concentrations des solutions.

1.8.3. Lot 3 : associations acide borique-protéines

Pour ce lot, les traitements sont effectués en une seule imprégnation, tous les composants de la formulation étant contenus dans la solution de traitement.

L'acide borique est associé à différents types de protéines, les combinaisons utilisées et les modes de séchage appliqués sont donnés dans le tableau 5.

Tableau 5. Combinaisons utilisées pour imprégner des éprouvettes de pin avec des solutions d'acide borique et de protéines. Les concentrations des solutions sont données en % (p/v).

Solution de traitement	pH	séchage
acide borique normapur (Prolabo) à 5%	3,60	4 h à 103°C étuve ventilée
acide borique à 5% + ovalbumine (Prolabo) à 1%	4,85	
acide borique à 5% + farine de soja (type I : délipidée, non grillée) (Sigma) à 1%	5,01	
acide borique à 5% + caséine bovine purifiée (Sigma) à 1%	8,50	
acide borique à 5% + gélatine AT400 (Systems Bio Industries) à 1%	4,47 à 35°C	1 semaine air libre
caséine bovine purifiée (Sigma) à 1% dans un tampon borate	8,50	4 h à 103°C étuve ventilée
CCA type-C (Rentokil) à 3%	-	

Toutes les solutions protéiques se sont solubilisées sans problème, sauf les solutions de caséine formant des micelles. Bien que dispersées dans l'eau, ces micelles risquaient de ne pas imprégner convenablement le bois (passage problématique au niveau des ponctuations). Nous avons solubilisé la caséine en amenant le pH de la solution à 8,5 :

- une série d'éprouvettes a donc été traitée avec le mélange acide borique 5% - caséine 1%, le pH étant ajusté à 8,5 avec de la soude 1 M (Prolabo) ;

- une autre série a été traitée avec la caséine directement solubilisée dans du tampon borate à pH 8,5. Le tampon borate se compose de : 500 ml du mélange acide ortho-borique normapur (Prolabo) 0,2 M et chlorure de sodium (Prolabo) 0,05 M, et de, 500 ml de ditétraborate de sodium $Na_2B_4O_7$, $10H_2O$ (Prolabo) 0,05 M ;

- le pH étant plus extrême que pour les autres solutions, nous avons aussi traité une série d'éprouvettes avec une solution de soude 1 M.

Les solutions d'imprégnation ont été utilisées à température ambiante (20°C), sauf dans le cas du mélange acide borique-gélatine. Cette formulation est chauffée à 35°C afin de solubiliser totalement la gélatine, et d'avoir une solution suffisamment fluide pour une bonne imprégnation du bois. Nous utiliserons le terme de borate de gélatine par mesure de simplification. En réalité, il faudrait préciser que la gélatine AT400 est issue de collagène, et est sous forme de sels de sodium.

A titre comparatif, nous avons aussi traité le bois avec une solution de CCA-type C.

1.8.4. Lot 4 : associations acide borique-protéines-tanins condensés

Les traitements sont toujours effectués en une seule imprégnation. Les formulations utilisées et le mode de séchage du bois sont donnés dans le tableau 6. Les tanins sont ceux utilisés pour le lot de bois n°1. Tout comme dans le lot précédent, le mélange comportant la gélatine est chauffé à 35°C avant utilisation.

Tableau 6. Combinaisons utilisées pour imprégner des éprouvettes de pin avec des solutions d'acide borique, de protéines et de tanins condensés. Les concentrations des solutions sont données en % (p/v).

Solutions de traitement	Séchage
acide borique normapur (Prolabo) à 5% + gélatine AT400 (Systems Bio Industries) à 1% + tanins (Diteco Ltd) à 1%	4 h 103°C étuve ventilée
acide borique à 5% + tanins à 1%	
acide borique à 5% + ovalbumine (Prolabo) à 1% + tanins à 1%	

1.8.5. Lot 5 : Sel entre acide borique et ovalbumine

Une solution aqueuse d'acide borique normapur (Prolabo) à 5% (p/v) et d'ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) a été chauffée entre 30°C et 40°C pendant 20 minutes, sous agitation, afin de favoriser la formation du sel entre acide borique et ovalbumine. Ce sel est ensuite utilisé pour le traitement du bois (Thévenon et al., 1997).

Aprés imprégnation, les échantillons de bois sont séchés 4 h à 103°C, dans une étuve ventilée.

1.8.6. Lot 6 : association acide borique-ovalbumine-hexaméthylène diamine

En plus de l'effet de la chaleur lors du séchage des éprouvettes traitées avec l'association acide borique-ovalbumine, nous avons décidé d'appliquer un agent chimique dénaturant : l'héxaméthylène diamine (HMDA).

Les éprouvettes ont été traitées, en une seule étape, par une solution constituée de : acide borique normapur (Prolabo) à 5% (p/v) + ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) + héxaméthylène diamine (technique à 70% Prolabo) à 1% (p/v). Les éprouvettes sont séchées 4 h à 103°C, dans une étuve ventilée.

2. Efficacité du borate d'ovalbumine contre des organismes lignivores - Essais accélérés en champ

2.1. Traitement du bois

Des éprouvettes d'aubier de pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) et de hêtre (*Fagus sylvatica*) de dimensions 100mm x 10mm x 10mm, ont été traitées de manière classique par vide/pression, avec des solutions de borate d'ovalbumine. Les éprouvettes sont maintenues à l'état anhydre jusqu'à leur traitement. Le cycle d'imprégnation : 15 min de vide à -1 bar, 30 min à pression atmosphérique, est suivi de 4 h de séchage à 103°C. A l'issue de l'imprégnation, les rétentions sont déterminées pour chaque produit.

Les solutions aqueuses suivantes de borate d'ovalbumine ont été utilisées :

- acide borique normapur (Prolabo) à 2% (p/v) - ovalbumine à 0,5% (p/v), sur des éprouvettes de hêtre pour les tests accélérés en champ, en contact avec le sol ;
- acide borique normapur à 5% (p/v) - ovalbumine à 1% (p/v), sur des éprouvettes de hêtre et de pin pour les essais accélérés en champ avec des termites.

2.2. Essais accélérés en champ, en contact avec le sol : efficacité contre les pourritures molles

Douze éprouvettes traitées et 10 témoins (hêtre), ont tout simplement été enfouies sur les 3/4 de leur hauteur dans le sol d'une pelouse à graminées, sur le site de l'ENSTIB (Epinal, 88). Elle n'étaient protégées par aucun abri. Parmi tous les micro-organismes des successions écologiques, les pourritures molles sont les plus à redouter. Ce sont les organismes

caractéristiques des situations extérieures en contact avec le sol (classe de risques 4). L'étude du sol s'est limitée à la détermination de son pH, facteur apparemment prépondérant quant à la déplétion des produits de préservation (Wang et al., 1998). Le pH de la solution de sol (déterminé à l'eau distillée) est de 5,38.

Les éprouvettes ont été mises en place en mars 1996 et le test a pris fin en décembre 1996. A l'issue du test, les éprouvettes sont séchées jusqu'à obtention de leur masse anhydre et leur perte de masse est évaluée.

2.3. Essais accélérés en champ : efficacité contre des termites

2.3.1. Lessivage

Des éprouvettes traitées de hêtre et de pin sylvestre ont été lessivées avant d'être placées sur le site d'essai. Chaque éprouvette est recouverte de 500 ml d'eau distillée dans un récipient plastique, et maintenue immergée par des masselottes. Le lessivage dure 5 jours, à 20°C sous agitation. L'eau est changée toutes les 24 h (Pizzi & Baecker, 1996). Les eaux de lessivage sont récupérées en vue de leur analyse. A l'issue du délavage, les éprouvettes sont séchées 4 semaines à l'air libre.

2.3.2. Efficacité contre des termites

Les essais termites ont été conduits sur le site expérimental de la société Biotrans. Ce site, situé à Durban (Afrique du Sud), est infesté par les termites *Coptotermes formosanus*, *Cryptotermes brevis* et *Odontotermes sp*. Le test a débuté en mai 1997 et s'est poursuivi pendant 9 mois. Ces essais ont été réalisés avec des éprouvettes traitées de pin sylvestre et de hêtre, un lot non lessivé et un lot lessivé, chaque lot comprenant de 7 à 10 éprouvettes. Dix éprouvettes témoins de hêtre et de pin ont aussi été placées sur le site. L'efficacité du traitement est estimée par le taux d'attaque des insectes et par la perte de masse des éprouvettes (Pizzi, 1993 ; Pizzi & Baecker, 1996).

3. Efficacité du borate d'ovalbumine contre des champignons Basidiomycètes et des termites - Essais normalisés en laboratoire

Nous avons testé l'efficacité du borate d'ovalbumine face à des champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé, en appliquant les principes d'essais et de

classification de la norme sur la durabilité naturelle du bois EN 350-1 (1994). Les essais de laboratoire avec les Basidiomycètes sont, en fait, basés sur la norme EN 113 (1980). Des essais normalisés ont aussi été réalisés avec des termites, selon la norme EN 117 (1981). Les étapes principales de ces essais sont rappelées dans la figure 20.

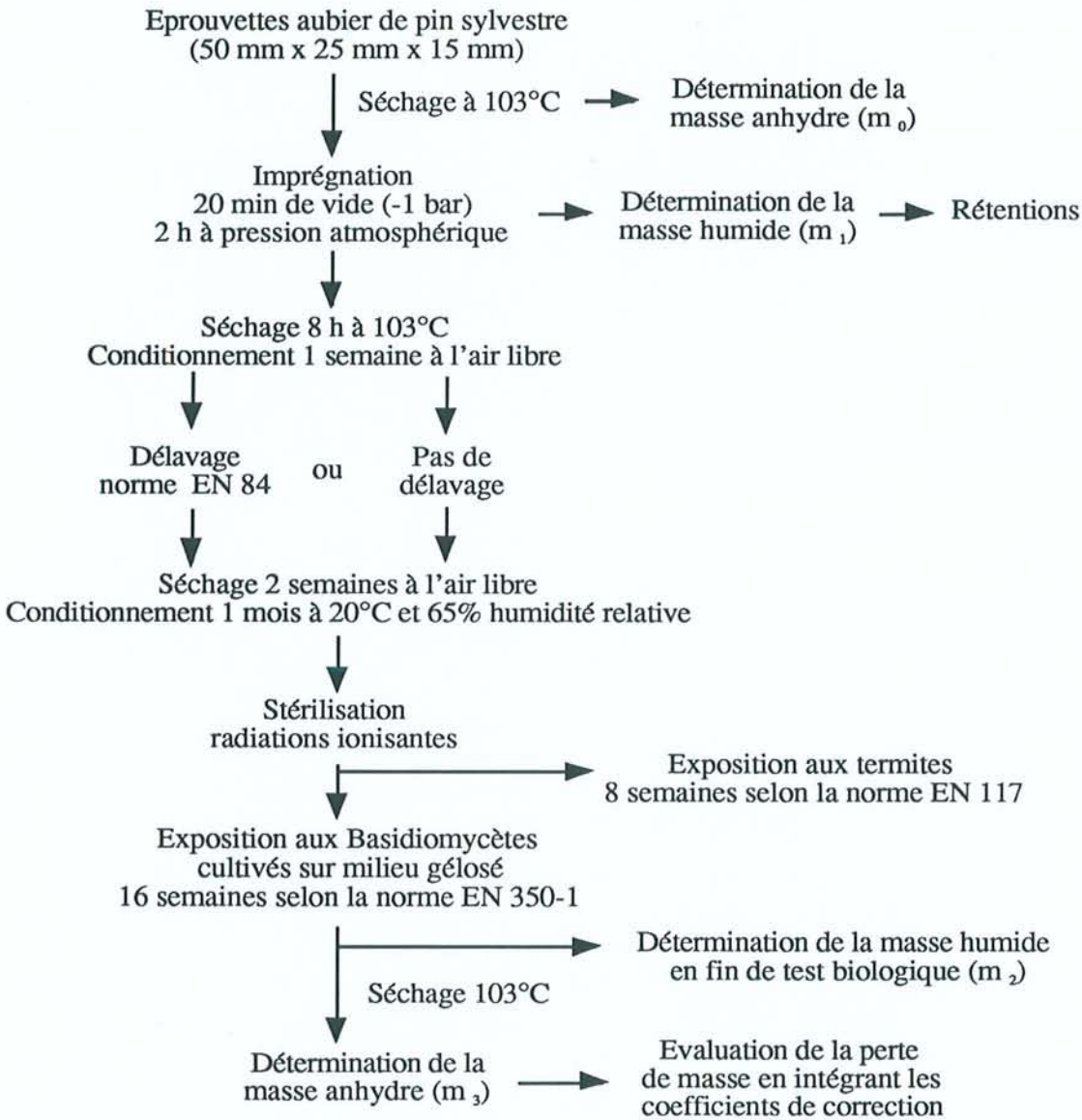


Figure 20. Etapes principales des essais normalisés utilisés pour évaluer l'efficacité du borate d'ovalbumine contre des champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé, et contre des termites.

3.1. Traitement du bois

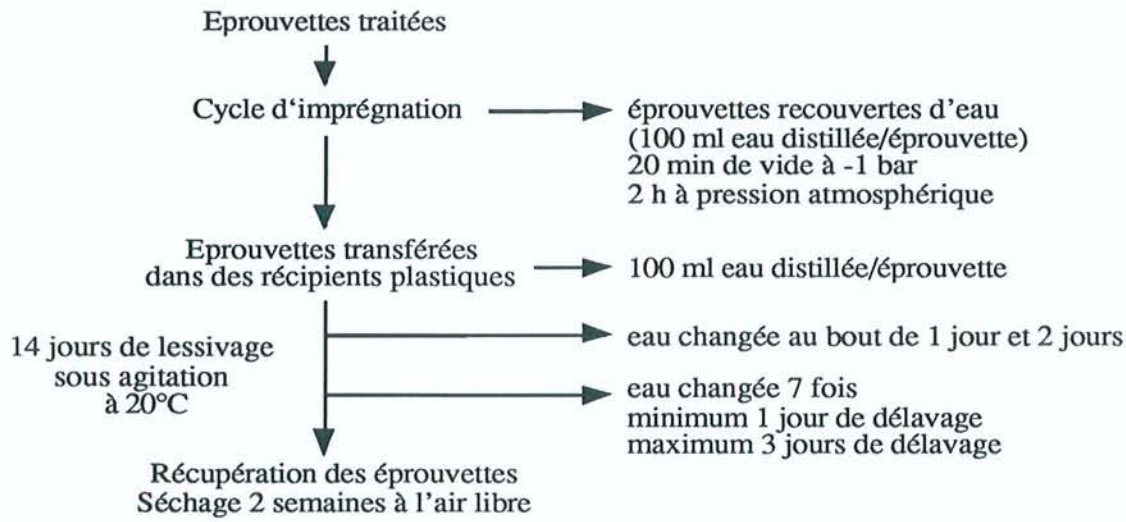
Des éprouvettes d'aubier de pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) (50mm x 25mm x 15mm) sont traitées en une seule étape d'imprégnation, selon le cycle : 20 min de vide à -1 bar, 2 h à pression atmosphérique. Les solutions aqueuses de traitement sont les suivantes (% en p/v) :

- acide borique normapur (Prolabo) à 5% - ovalbumine (Prolabo) à 1% ;
- acide borique normapur à 3% - ovalbumine à 1% ;
- acide borique normapur à 1% - ovalbumine à 1%.

La dénaturation protéique est induite par 8 h de séchage à 103°C, dans une hotte ventilée.

3.2. Délavage normalisé

Pour chaque traitement, la moitié des éprouvettes est lessivée avant l'exposition aux champignons ou aux termites. Nous avons utilisé la norme EN 84 (1979) pour délaver les éprouvettes traitées. Les principales étapes de l'essai sont rappelées dans la figure 21.



Figures 21. Etapes principales lors du délavage d'éprouvettes traitées, d'après la norme EN 84 (1979).

3.3. Essais normalisés avec des Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé

Nous nous sommes conformés aux directives relatives aux essais en laboratoire avec des Basidiomycètes de la norme EN 350-1, ces dernières étant basées sur la norme EN 113. Aucune

modification n'y a été apportée, sauf un chauffage de 8 h à 103°C après imprégnation pour la dénaturation protéique. Ce type de modification mineure n'affecte habituellement pas ce type d'essais (Anagnost & Smith, 1997 ; Van Acker et al., 1998).

Les champignons Basidiomycètes sont les mêmes que pour les tests accélérés : *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta* et *Coriolus versicolor*. Nous avons aussi utilisé :

- *Pycnoporus sanguineus* (souche 27 0, CIRAD Forêt, Montpellier), pourriture fibreuse ;
- *Lentinus squarrosulus* (souche 55, CIRAD Forêt, Montpellier), pourriture fibreuse ;
- *Antrodia sp.*(souche 57, CIRAD Forêt, Montpellier), pourriture cubique.

Dix éprouvettes sont testées, pour chaque traitement et pour chaque champignon. La perte de masse de ces éprouvettes est évaluée après 16 semaines d'exposition aux champignons, et est comparée à la perte de masse d'éprouvettes témoins.

3.4. Essais normalisés avec des termites

Ces essais biologiques ont été réalisés conformément à la norme EN 117 (1981) avec les termites *Heterotermes indicola*, ou *Reticulitermes santonensis* de Feytaud. De manière très générale, pour chaque traitement, 5 à 10 éprouvettes traitées (délavées et non délavées) et autant d'éprouvettes témoins, sont soumises à l'attaque des termites. A l'issue de l'essai (8 semaines), les éprouvettes sont examinées à l'oeil nu. Une cote leur est affectée selon le degré d'attaque par les insectes. Les cotations vont de 0 (pas d'attaque) à 4 (attaque forte-destruction totale).

III Analyse des surnageants et des eaux de lessivage

1. Détection des tanins condensés

1.1. Dosage spectrophotométrique des tanins condensés dans l'U.V. (280 nm)

Les tanins ont été dosés par mesure spectrophotométrique à 280 nm (avec un spectrophotomètre Shimadzu UV-260), longueur d'onde correspondant au maximum

d'absorption des groupements phénoliques. Une gamme étalon a été réalisée avec une poudre commerciale contenant 70% de tanins d'écorces de pin (*Pinus radiata*) (Diteco Ltd). Les concentrations des solutions aqueuses de tanins s'échelonnent de 0 à 0,12 mg de tanins/ml. La droite étalon obtenue est d'équation :

Absorbance (280 nm) = 0,0902 (concentration en tanins en mg/ml) + 0,0001

et de coefficient de corrélation $r^2 = 0,999$.

Cette méthode de dosage a été utilisée pour le lot de bois n°1 uniquement (association acide borique-tanins condensés). Toutes les autres déterminations de tanins ont été réalisées avec la méthode DMACA-HCl.

1.2. Dosage spectrophotométrique des tanins condensés dans le visible par la méthode DMACA-HCl

Cette méthode a été initialement développée pour doser la teneur en proanthocyanidines des légumes (Li et al., 1996). Cette méthode, plus sensible que la méthode avec la vanilline, permet de détecter jusqu'à 0,4 mg de proanthocyanidines/g de matériel végétal. Il s'agit d'une méthode spectrophotométrique, mesurant l'absorbance à 643 nm d'un composé bleu formé par la réaction du 4-diméthylaminocinnamaldéhyde (DMACA) avec les flavanols, en milieu acide.

Le protocole est le suivant : 770 µl de la solution à doser sont mélangés à 385 µl de méthanol et 192 µl d'une solution de DMACA (Sigma). La solution de DMACA est à 2% dans le mélange méthanol/HCl 6 M (1/1, v/v). Après homogénéisation et 20 min d'attente à température ambiante, l'absorbance à 643 nm du mélange est lue sur un spectrophotomètre Shimadzu UV-260.

Une gamme étalon allant de 0 à 25 µg de tanins/ml a été réalisée avec des tanins condensés d'écorces de pin (*Pinus radiata*) (Diteco Ltd). La droite obtenue est d'équation :

Absorbance (643 nm) = 0,032 (concentration en tanins en µg/ml) - 0,006

et de coefficient de corrélation $r^2 = 0,993$.

2. Détection du bore

Le dosage du bore dans les eaux de lessivage a été réalisé soit par titration au mannitol, soit par spectrophotométrie d'émission atomique à plasma d'argon (torche à plasma). Le choix entre ces deux méthodes était fonction de la quantité d'échantillons à doser, de la sensibilité voulue et aussi de la disponibilité des appareillages. Au niveau des résultats, mention sera faite de la méthode de dosage utilisée. Ces deux méthodes ont été comparées lors de l'analyse des eaux de lessivage du lot de bois n°4 (associations acide borique-protéines-tanins condensés).

2.1. Détection du bore par titration

Dans les eaux de lessivage, la quantité de bore peut être dosée par titration avec le mannitol. Le principe de ce dosage est la titration par la soude d'un complexe établi entre le D(-) mannitol et l'acide borique. Afin de réaliser ces dosages, nous avons légèrement modifié la méthode de Peylo (1993), en fonction de nos conditions d'expérimentation.

Pour chaque dosage, 10 ml d'une solution d'eau de délavage sont additionnés de 1,5 g de D(-)mannitol (pour détermination de l'acide borique, Merck). Après totale dissolution du mannitol, ce mélange est titré jusqu'à un pH de 8,5 (titration à point final) avec un titrateur Metrohm E436 à électrode combinée verre/calomel, par une solution de soude 0,025 M (Prolabo). La mesure est répétée 2 fois pour chaque échantillon. La teneur en bore est évaluée par rapport à une solution étalon d'acide borique (Prolabo) à 1 g/l. La teneur en bore de l'eau distillée ayant servi au délavage est déterminée afin d'apporter d'éventuelles corrections. Cette méthode permet de détecter le bore jusqu'à 5 ppm.

2.2. Détection du bore avec une torche à plasma

Le dosage du bore est réalisé à l'aide d'une torche à plasma (ICP Inductively Coupled Plasma) (Jobin JY 38). Les mesures sont effectuées à 249,77 nm sous argon, chaque mesure étant répétée 2 fois. Le seuil de détection est de 0,02 ppm.

Une solution étalon à 100 ppm de bore est préparée avec de l'acide borique normapur (Prolabo). La teneur en bore de l'eau distillée ayant servi à la solution étalon et aux délavages est déterminée afin d'apporter d'éventuelles corrections.

3. Détection des protéines par la méthode de l'acide bicinchoninique

Cette méthode colorimétrique est basée sur le principe suivant : en milieu alcalin, les protéines réduisent les ions cuivriques Cu^{2+} en Cu^{+}, qui forment avec l'acide bicinchoninique (BCA) un complexe coloré en pourpre, dont l'absorbance maximale se situe à 562 nm (Smith et al., 1985). Le seuil minimum de détection protéique avec cette méthode est 10 µg/ml.

Pour ce faire, 100 µl de la solution à analyser (eau de lessivage) sont ajoutés à 200 ml de solution réactionnelle. La solution réactionnelle est composée de :

- 50 volumes d'une solution A (Sigma) contenant 10 g de BCA ; 20 g de Na_2CO_3, H_2O ; 1,6 g de $Na_2C_4H_4O_6$, $2H_2O$; 4 g de NaOH ; 9,5 g de $NaHCO_3$ dans 1 l d'eau distillée ;
- 1 volume d'une solution B composée de 2 g de $CuSO_4$, 5 H_2O (Sigma) dans 50 ml d'eau distillée.

Après homogénéisation et incubation pendant 2 h à température ambiante, l'absorbance est lue à 562 nm sur un spectrophotomètre Shimadzu UV-260.

Une gamme étalon est réalisée avec de la sérum albumine bovine (Sigma) pour des concentrations allant de 0 à 100 µg/ml. La droite obtenue est d'équation :

Absorbance (562 nm) = 0,411 (concentration en protéines en µg/ml) + 0,191

et de coefficient de corrélation $r^2 = 0,998$.

IV Traitements de poteaux par le borate d'ovalbumine et essais en champ, en contact avec le sol

1. Echantillonnage du bois

On utilise des poteaux de pin (*Pinus nigra*) dont les dimensions moyennes sont : longueur 1 m, diamètre 12 cm. Chaque poteau utilisé est mesuré précisément et son volume est calculé sans tenir compte du défilement (négligeable sur ces pièces). Avant traitement, les poteaux sont numérotés, pesés (à 100 g près) et leur humidité est déterminée à l'aide d'un humidimètre à pointes.

2. Solutions de traitement

Deux solutions aqueuses de borate d'ovalbumine sont utilisées :

- un mélange ovalbumine (Prolabo) à 1% (p/v) - acide borique rectapur (Prolabo) à 5% (p/v) ;
- un mélange ovalbumine à 1% (p/v) - acide borique rectapur à 3% (p/v).

Le volume de solution à préparer étant de 150 litres dans chaque cas, on utilise de l'eau du robinet.

3. Imprégnation

Les poteaux sont placés dans un autoclave d'imprégnation et sont soumis au cycle de traitement suivant :

- 30 min de vide initial à -0,8 bar ;

- introduction de la solution de préservation et 60 min de pression à 12 bars ;
- 5 min de vide de ressuyage à -0,8 bar.

Les poteaux sont pesés immédiatement après imprégnation (à 100 g près). Les rétentions des produits de traitement sont déterminées en considérant les gains de masse après imprégnation et les concentations des produits.

4. Séchage

Afin de dénaturer l'ovalbumine, les poteaux traités sont séchés sous flux d'air forcé selon les paramètres suivants :

- température : 90°C ;
- humidité de l'air : 70% ;
- débit d'air : 20.000 m^3/h ;
- durée du séchage : 24 h.

Le séchage est pratiqué dès l'imprégnation terminée. Les paramètres de séchage ont été établis afin que la température au coeur du bois soit suffisante pour dénaturer l'ovalbumine, sans pour autant provoquer de fentes sur les poteaux.

5. Tests biologiques en champ, en contact avec le sol

Après séchage, les poteaux traités et 3 poteaux témoins ont été enterrés sur une hauteur d'environ 40 cm dans une pelouse à graminées, sur le site de l'ENSTIB (Epinal, 88). Ces poteaux ne sont pas protégés des intempéries. Le pH de la solution de sol (déterminé à l'eau distillée) est de 5,38. Le test a débuté en décembre 1997 et se poursuit encore actuellement. Des estimations visuelles de l'état de ces poteaux sont effectuées lors d'une inspection mensuelle.

6. Distribution des produits de traitement dans les poteaux traités

Le poteau n°3, traité avec 1% d'ovalbumine et 5% d'acide borique est utilisé pour évaluer la pénétration et la macro-distribution des produits de traitement. Cette estimation est faite par des méthodes colorimétriques. Le poteau est découpé tous les 20 cm comme indiqué sur la figure 22. Pour chaque découpe, une extrémité sert à mettre en évidence la présence de bore, et l'autre à mettre en évidence les protéines. Deux morceaux de poteaux non traités servent de témoins.

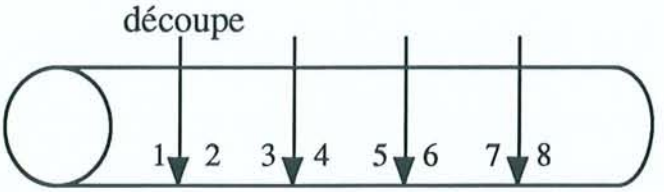


Figure 22. Schéma de la découpe d'un poteau et numérotation des pièces de bois obtenues.

6.1. Coloration au bleu de Coomassie

Cette méthode est habituellement celle que l'on utilise pour colorer les protéines lors des électrophorèses sur gel (Bollag & Edelstein, 1991). On applique le protocole suivant :

- l'extrémité d'un morceau de poteau est placée pendant 1 heure dans une solution colorante de bleu de Coomassie. La solution de bleu de Coomassie est constituée de 1 g de bleu de Coomassie R-250 (Prolabo) dans un litre du mélange 450 ml de méthanol, 100 ml d'acide acétique glacial, 450 ml d'eau distillée. Le bois est placé verticalement dans un récipient creux, à température ambiante. La solution colorante recouvre 3 à 4 cm de la hauteur du poteau, et est absorbée dans le bois par capillarité ;

- la solution de bleu de Coomassie est remplacée par une solution décolorante composée du mélange : 100 ml de méthanol, 100 ml d'acide acétique glacial, 800 ml d'eau distillée. Le bois y trempe pendant 1 h à température ambiante, la solution décolorante étant changée au bout de 30 min ;

- le bois est laissé à sécher sous une hotte ventilée, à température ambiante, pendant 24 h. Une coloration bleue indique la présence de protéines. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présentes.

6.2. Coloration au curcumin

L'extrémité des morceaux de poteau est aspergée par une solution de curcumin (0,28 g de curcumin (Sigma) en solution dans 100 ml d'éthanol). Le bois est laissé 30 min sous une hotte ventilée, à température ambiante. Le bois est alors aspergé par une solution saturée d'acide salicylique (acide salicylique (Sigma) dans un mélange constitué de 90% d'éthanol et de 10% d'acide chlorhydrique concentré). La présence de bore est indiquée par le passage de la couleur jaune au rose fuschia (Smith & Williams, 1969). La coloration rose est d'autant plus intense que la quantité de bore est importante.

Résultats et Discussion

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Chapitre I

Formulations à base d'associations entre acide borique et tanins condensés

1. Traitement du bois

Les éprouvettes traitées par diverses combinaisons entre acide borique et tanins condensés, délavées et soumises à des tests biologiques accélérés, constituent le lot de bois n°1.

Les rétentions des produits de préservation sont données dans les figures 23a et 23b. Ces résultats ont été organisés selon l'ordre des imprégnations d'acide borique et de tanins.

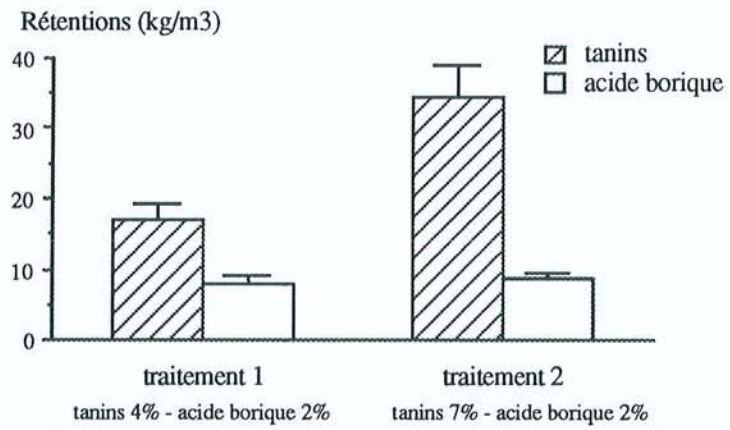


Figure 23a. Rétentions des produits de préservation dans les éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins (tanins : 1ère imprégnation, acide borique : 2ème imprégnation).

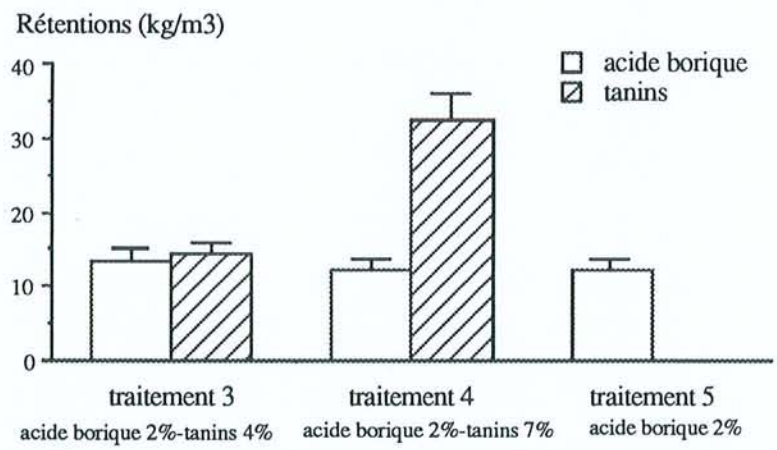


Figure 23b. Rétentions des produits de préservation dans les éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins ou par l'acide borique seul (acide borique : 1ère imprégnation, tanins : 2ème imprégnation).

Les quantités résiduelles de bore après lessivage du bois traité sont fournies dans les figures 24a et 24b.

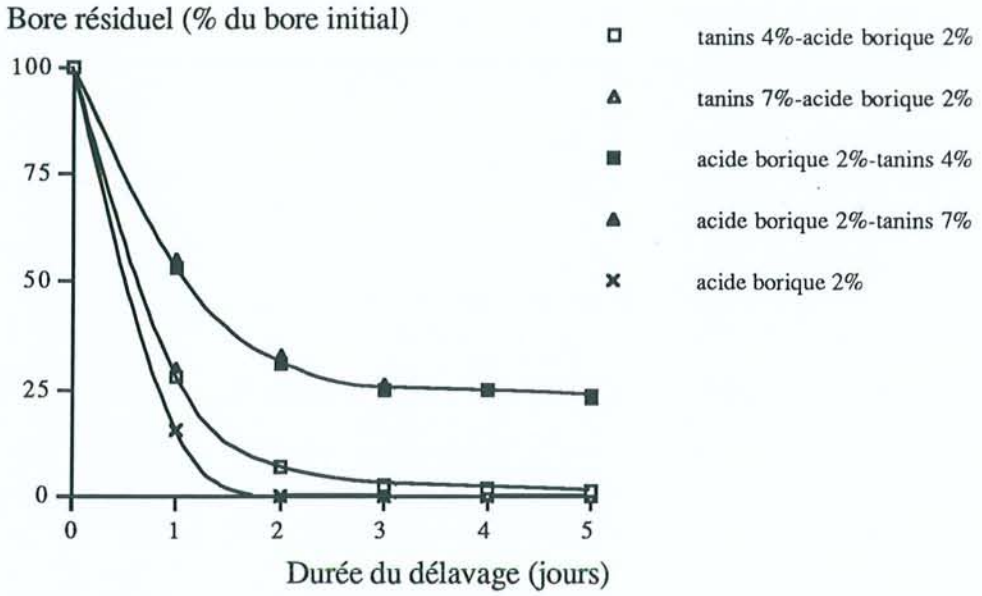


Figure 24a. Bore résiduel (en % du bore initial) dans les éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins ou par l'acide borique seul, après délavage du bois. Le bore a été dosé par titration.

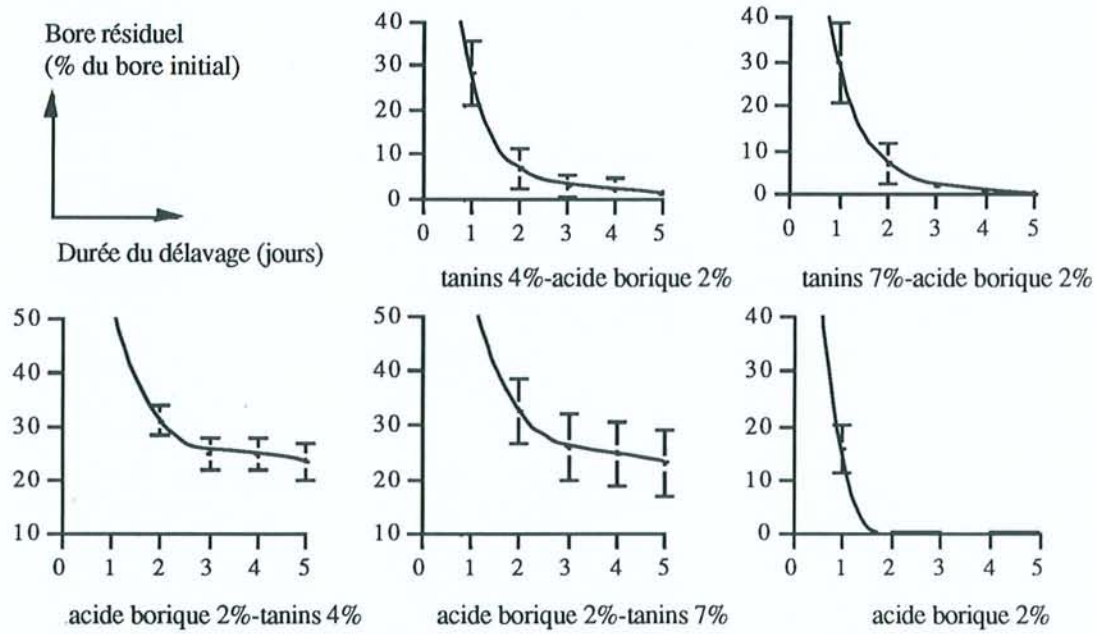


Figure 24b. Bore résiduel (en % du bore initial) dans les éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins ou par l'acide borique seul, après délavage du bois. Détail des courbes et écarts-types pour chaque traitement du bois.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

La figure 25 présente la teneur en tanins résiduels à l'issue du délavage du bois traité.

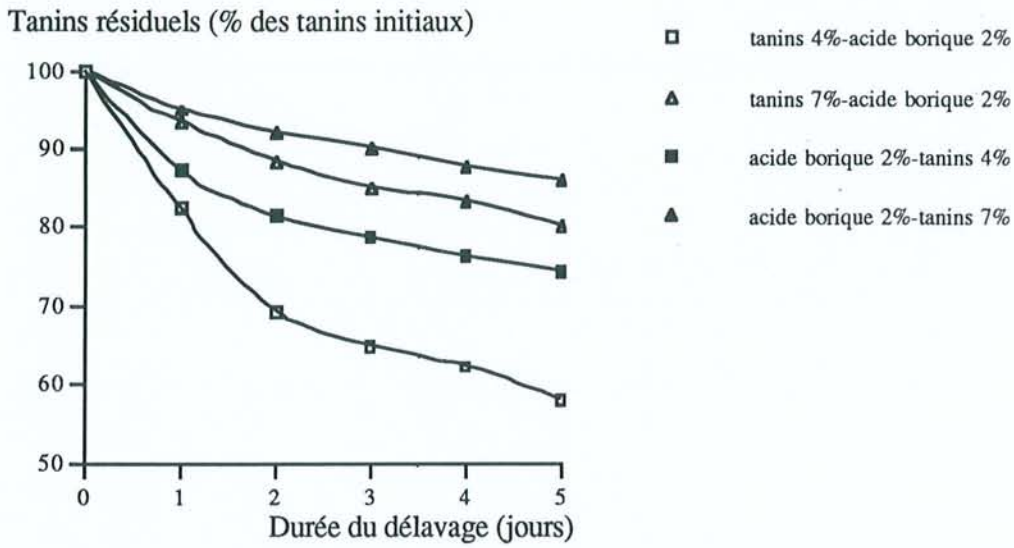


Figure 25. Tanins résiduels (en % des tanins initiaux) dans les éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins, après délavage du bois.

La masse volumique des éprouvettes de ce lot de bois était de 468 $\pm$ 15,3 kg/m^3. Les rétentions d'acide borique sont affectées par la succession des solutions de traitement : elles sont en moyenne 1,5 fois plus importantes quand la 1ère imprégnation est réalisée avec une solution d'acide borique. Par contre, les rétentions en tanins ne varient pas de manière significative avec l'ordre des imprégnations.

L'analyse des eaux de lessivage obtenues avec des éprouvettes témoins non traitées n'indique, ni la présence de tanins, ni de bore (avec les méthodes analytiques utilisées). L'aubier de pin sylvestre est naturellement pauvre en tanins, lesquels ont, par ailleurs, un poids moléculaire élevé les rendant très peu solubles à l'eau froide. Le délavage pratiqué sur le bois n'est pas une méthode d'extraction suffisante pour que l'on puisse retrouver ces tanins dans l'eau (Scalbert et al., 1989). De même, le bore, élément en quantité négligeable dans le bois (0,006% à 0,017%), n'est pas extrait à l'eau distillée à 20°C, et est indétectable dans les eaux de lessivage (Morrell et al., 1992).

Les tanins présentent un lessivage singulier lors du délavage du bois traité, selon le traitement considéré. Il est difficile de généraliser leur comportement, en considérant l'ordre des imprégnations et/ou les concentrations des solutions.

A contrario, il apparaît très clairement que le lessivage du bore à partir du bois traité, est fonction de l'ordre des imprégnations : les courbes relatives aux traitements tanins 4%-acide borique 2% et tanins 7%-acide borique 2%, et, aux traitements acide borique 2%-tanins 4% et acide borique 2%-tanins 7%, étant exactement superposées respectivement. Lorsque l'acide borique est utilisé seul, son taux de déplétion est tel qu'il ne reste plus de biocide dans le bois à l'issue de 48 h de délavage. Ce type de comportement est commun. Kirita et al. (1994) ont rapporté des résultats similaires, même pour des rétentions initiales de 108 kg BAE/m^3 (BAE : Boric Acid Equivalent). Dans les cas où l'imprégnation de l'acide borique est suivie par l'imprégnation des tanins, le lessivage du bore est nettement réduit : environ 25% du bore initial reste fixé dans le bois à l'issue du délavage. Mais, si l'acide borique est imprégné en second lieu, il ne reste quasiment plus de bore dans le bois (moins de 1% du bore initial). Dans ce dernier cas, l'association acide borique-tanins n'est qu'un piètre remède à la déplétion du bore.

2. Tests biologiques

Les résultats des tests biologiques accélérés avec des Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri, sont donnés dans les figures 26a et 26b. Ces résultats ont aussi été organisés en fonction de l'ordre des imprégnations des éprouvettes.

Dans les boîtes de Pétri, toutes les éprouvettes (traitées et témoins) étaient entièrement recouvertes de mycélium, à la fin de l'essai. Lorsque le bois est traité avec l'acide borique seul (fig. 26b), le délavage a entraîné la totalité du biocide initialement imprégné. Ces résultats de lessivage sont confirmés par les essais biologiques : les pertes de masse de ces éprouvettes sont similaires, ou même supérieures, aux pertes de masse des éprouvettes témoins. Dans le cas des associations acide borique-tanins, les résultats biologiques sont extrêmement disparates, et aucune des formulations envisagées ne protège le bois de manière efficace contre les attaques des trois souches de champignons.

En considérant les rétentions et le taux de lessivage du bore, il devrait rester dans le bois : 3,09 kg BAE/m^3 pour le traitement acide borique 2%-tanins 4%, et 2,84 kg BAE/m^3 pour le traitement acide borique 2%-tanins 7%. Ces quantités d'acide borique assurent normalement une protection très efficace contre les Basidiomycètes (Drysdale, 1994). D'après les pertes de masse obtenues, il semblerait que la teneur résiduelle de bore dans le bois soit très largement inférieure au seuil fongitoxique. La réduction du lessivage du bore constatée avec ces deux traitements n'est vraisemblablement qu'un artéfact. En effet, lors de la seconde imprégnation avec la solution aqueuse de tanins, le bore est déjà présent dans le bois. Il est fort probable que le bore se dissolve dans la solution de tanins qui recouvre les éprouvettes. La rétention d'acide

borique dans le bois serait alors diminuée lors de ce second traitement, d'où une estimation erronée du bore restant à l'issue du délavage du bois.

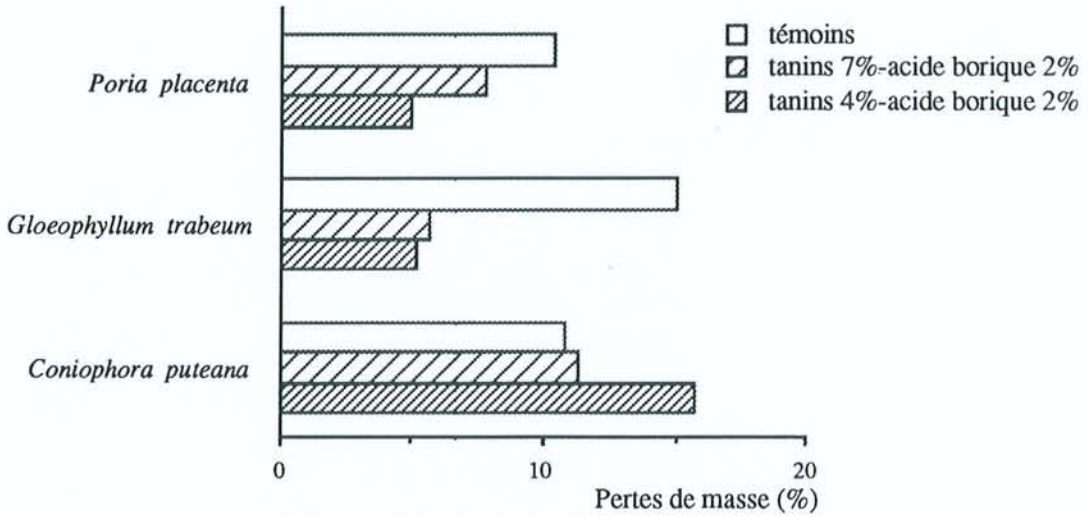


Figure 26a. Pertes de masse moyennes corrigées des éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins (tanins : 1ère imprégnation, acide borique : 2ème imprégnation).

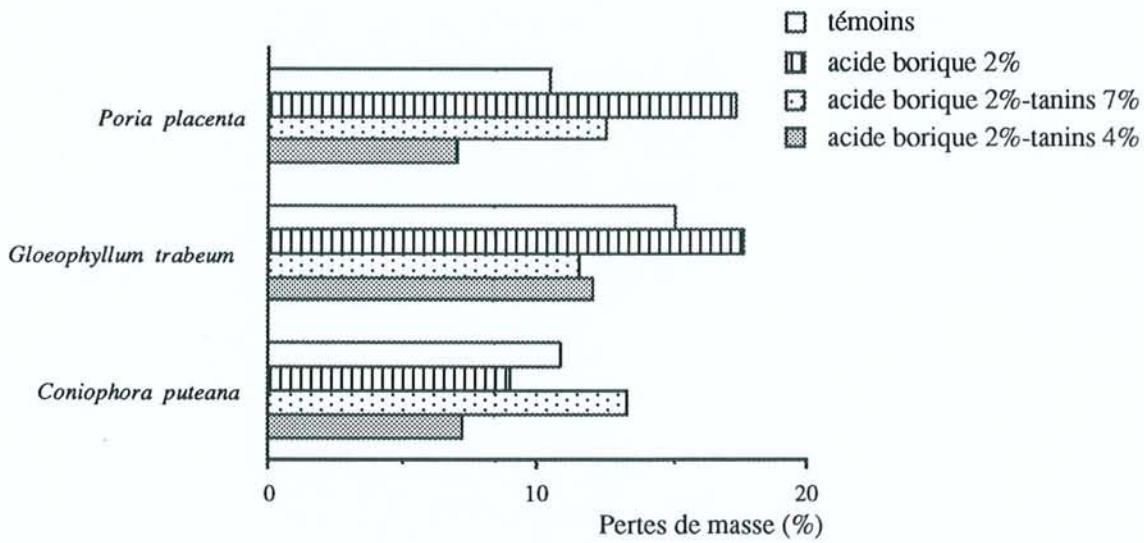


Figure 26b. Pertes de masse moyennes corrigées des éprouvettes traitées par les associations acide borique-tanins ou par l'acide borique seul (acide borique : 1ère imprégnation, tanins : 2ème imprégnation).

3. Conclusion

Ces associations entre acide borique et tanins condensés s'avèrent beaucoup moins intéressantes que ce que laissaient présager les résultats obtenus par Pizzi & Baecker (1996). Ces auteurs ont utilisé des tanins extraits des coques de noix de Pécan (*Carya illinoensis*), alors que nous avons réalisé ces essais avec des tanins d'écorces de pin. Bien que ces deux types de tanins soient des tanins condensés, les tanins d'écorces de pin sont de type procyanidine avec un noyau B catéchol, alors que les tanins de noix de Pécan sont de type prodelphidine avec un noyau B pyrogallol (Pizzi et al., 1993). En présence d'un acide de Lewis, cette différence de structure se traduit par des mécanismes de réticulation distincts : ils sont essentiellement radicalaires pour les tanins de noix de Pécan, et ioniques pour les tanins d'écorces de pin (Masson et al., 1996b). Ainsi, la fixation de l'acide borique sur les tanins de pin aura un caractère plus labile.

Par ailleurs, alors que le phénomène d'autocondensation des tanins de noix de Pécan en présence d'acide borique a été mis en évidence dans une très large gamme de pH (acide et basique), dans le cas des tanins d'écorces de pin, ce phénomène est d'autant plus ample que le pH des solutions est basique (réaction maximale à pH 12) (Masson et al., 1996a ; 1996b). Lors de l'imprégnation des solutions aqueuses de tanins d'écorces de pin et d'acide borique dans le bois, on s'éloigne de ces conditions optimales de pH (pH tanins 4% : 4,70 ; pH tanins 7% : 4,49 ; pH acide borique 2% : 4,03). Le pH du bois, compris entre 3 et 5 contribue aussi à l'acidification (Marra, 1992). Ainsi, le taux d'autocondensation, et par conséquent, le taux de fixation de l'acide borique dans le bois est certainement réduit par rapport aux potentialités du système mis en oeuvre. Les conditions réactionnelles sont telles qu'une partie du bore est probablement capable de se complexer avec les groupements ortho-diphénoliques des tanins. Ces complexes sont solubles, et ne participent pas à la réduction du taux de déplétion du bore (Slabbert, 1992).

Les tanins imprégnés dans le bois manifestent une tendance à rester fixés lors du délavage. Il faut toutefois remarquer que le système de double imprégnation doit être générateur d'erreurs quant aux rétentions initiales exactes, erreurs se répercutant donc sur l'évaluation de la quantité résiduelle de tanins dans le bois traité et lessivé. De plus, la quantité de tanins a été évaluée par l'absorbance des eaux de lessivage à 280 nm. Or, cette absorbance est altérée par la présence des complexes solubles acide borique-tanins condensés (complexes établis via les groupements ortho-diphénoliques des tanins) (Slabbert, 1992), d'où une source d'erreur supplémentaire lors de l'estimation des tanins résiduels dans le bois traité et lessivé. On peut cependant penser qu'une partie des tanins est restée au niveau du bois, sans pour autant présager de leur comportement au cours du temps. Les tanins ont effectivement une affinité pour les constituants des parois cellulaires. Ils complexent les protéines (Zucker, 1983), et pourraient

se lier aux protéines accessibles de la lamelle moyenne. De plus, les tanins présentent une affinité certaine pour la fraction holocellulosique des parois (Bariska & Pizzi, 1986 ; Pizzi & Cameron, 1986 ; Baecker et al., 1991). Ainsi, la viscosité des solutions de tanins, associée à ces éventuelles fixations au niveau des parois ligneuses, pourraient être la cause des rétentions moindres d'acide borique, lorsque celui-ci est imprégné en second lieu dans le bois.

Dans les associations envisagées, seul le bore devra être considéré comme biocide actif. Les tanins résiduels dans le bois ne semblent pas à même de prodiguer une protection contre les dégradations des pourritures. Cet effet tient peut être à leur trop faible concentration subsistant dans le bois. Cependant, de nombreux auteurs ont pu constater un manque de résistance biologique de la part de bois imprégné par des solutions de tanins condensés (Laks & Mc Kaig, 1988 ; Homan & Militz, 1994 ; Ohara et al., 1994). Une des causes probables de cet effet est que le bois traité par les tanins ne bénéficie pas de tous les mécanismes de synergie entre extraits, importants pour la durabilité naturelle des essences (Scheffer & Cowling, 1966).

Ces associations entre acide borique et tanins condensés ne se sont pas révélées être des systèmes très fiables de fixation du bore dans le bois, lors de la réalisation d'essais accélérés. Nous n'avons pas poursuivi l'étude de ces systèmes plus avant.

Toutefois, lors de l'étude d'associations acide borique-protéines-tanins condensés (lot n°4), nous avons à nouveau considéré des éprouvettes traitées avec le système acide borique-tanins condensés à titre comparatif. Pour ces autres lots, nous avons apporté quelques changements au niveau des méthodes expérimentales :

- les concentrations respectives des produits sont différentes (acide borique 5% (p/v), tanins 1% (p/v)) ;
- le traitement comporte une seule imprégnation. Pour tous les autres lots de bois considérés, une seule imprégnation sera désormais pratiquée. La solution de traitement comportera tous les éléments de la formulation ;
- d'autres méthodes analytiques seront utilisées pour la détermination de la teneur en tanins et en bore des eaux de lessivage.

Chapitre II

Etude des associations entre acide borique et protéines

1. Etude chimique de l'association entre ovalbumine et acide borique

Avant de traiter des éprouvettes de bois avec diverses protéines et de l'acide borique, nous avons voulu nous assurer qu'il y avait bien réaction entre les deux types de composés. Nous avons retenu l'ovalbumine pour notre expérimentation. Cette protéine commerciale est la moins complexe de toutes les protéines choisies. Par ailleurs, sa solubilité et sa nature thermotropique en ont fait un paradigme pour nos essais.

1.1. Détermination de la quantité de protéines à utiliser

Afin de baser nos investigations chimiques au plus près des conditions qui seront ensuite appliquées au bois, nous avons imprégné des éprouvettes de pin sylvestre avec des solutions d'ovalbumine à différentes concentrations (lot de bois n°2). Les résultats sont donnés dans le tableau 7 et en figure 27.

Tableau 7. Rétention d'ovalbumine dans des éprouvettes de pin sylvestre imprégnées avec des solutions de concentrations croissantes.

Solution d'ovalbumine (% p/v)	Rétention (kg/m^3)
0,5	3,47 ± 0,29
1	7,05 ± 0,38
2	11,60 ± 1,02
3	17,91 ± 1,42
4	19,97 ± 2,18
5	19,26 ± 3,16

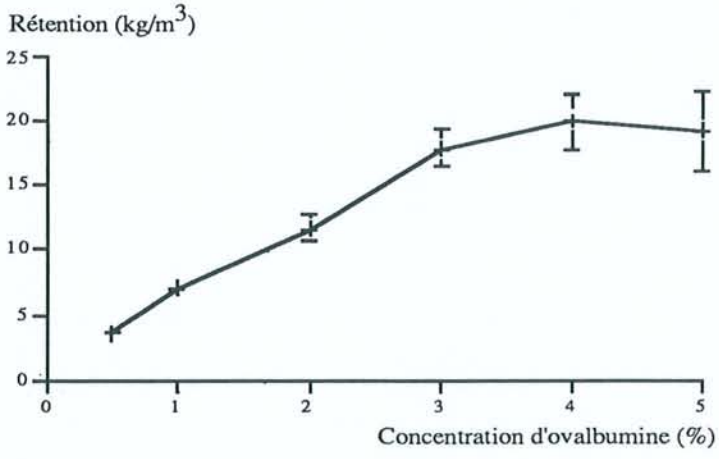


Figure 27. Rétention d'ovalbumine dans des éprouvettes de pin sylvestre en fonction de la concentration de la solution de traitement.

La rétention d'ovalbumine dans le bois n'augmente plus de manière proportionnelle à la concentration des solutions d'imprégnation, dès que celle-ci dépasse 1%. De plus, les écarts-types sont d'autant plus grands que la concentration de la solution de traitement est élevée.

Lorsque le bois est traité avec les solutions de protéine à 3%, 4% et 5%, on observe une sorte d'agrégation d'ovalbumine sur la section transversale des éprouvettes. Les solutions protéiques trop concentrées auraient tendance à moins bien imprégner le bois. Une certaine partie tend à s'agglutiner au niveau des trachéides coupées (plan transversal), et à les "boucher", altérant ainsi la diffusion longitudinale. On peut alors supposer qu'au total, le bois aura absorbé plus d'eau que de protéines en solution, d'où une estimation de la rétention en ovalbumine erronée. De plus, la distribution de la protéine dans le bois sera certainement très hétérogène. Les éprouvettes traitées avec l'ovalbumine à 2% se sont révélées source de dilemme. On n'observe pas d'agglutination flagrante d'ovalbumine sur la tranche des éprouvettes, mais la rétention n'est plus proportionnelle à l'augmentation de la concentration en ovalbumine.

Nous avons donc décidé d'utiliser des solutions protéiques à 1% (p/v). Dans le cas de l'ovalbumine, cette concentration permet une imprégnation du bois qui semble correcte. De plus, quand nous utiliserons la farine de soja, 1% est la concentration minimale à partir de laquelle on obtient des gels protéiques (Guegen & Certelli, 1994). Cette concentration ne devrait pas poser de problème dans les cas de la caséine et de la gélatine.

1.2. Caractérisation chimique et spectrale

Les résultats relatifs au comportement de l'ovalbumine thermo-dénaturée en présence d'acide borique sont donnés dans la figure 28. Bien que l'on puisse observer 3 parties dans cette courbe, globalement, la quantité de bore récupérée dans le surnageant est toujours très nettement inférieure à la quantité de bore initialement ajoutée à la solution protéique. Ainsi, par différence, le bore non retrouvé dans le surnageant, doit être resté au niveau de l'ovalbumine coagulée. La figure 29 indique le comportement d'un coagulum (obtenu avec une solution d'ovalbumine à 1% et d'acide borique à 5%) lors d'un délavage. Le coagulum obtenu était blanchâtre et particulièrement opaque. Sans sembler extrêmement rigide, il ne s'est toutefois pas délité lors de son lessivage. Il semble que la protéine dénaturée ait fixé du bore sous forme d'acide borique, lequel est lessivé très graduellement. Après 24 h de délavage, la libération du bore au cours du temps tend vers un équilibre, lequel peut être représenté selon la relation :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 92{,}914 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}0192} \qquad \text{(Equation 1)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}997$.

Les données de la figure 29, obtenues par différence, ne sont certainement pas dénuées de toute erreur. Elles donnent cependant, une bonne représentation du phénomène ayant lieu entre ovalbumine et acide borique : l'ovalbumine thermo-dénaturée en présence d'acide borique est capable de fixer du bore, et, sous l'effet d'un délavage, celui-ci n'est libéré qu'avec parcimonie.

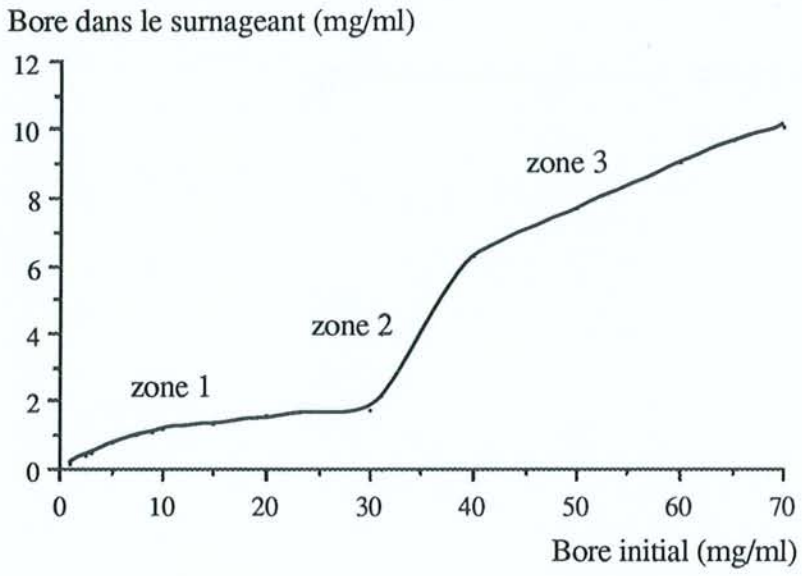


Figure 28. Teneur en bore du surnageant d'une solution d'ovalbumine thermo-dénaturée, en présence de quantités variables d'acide borique. Le bore a été dosé par torche à plasma.

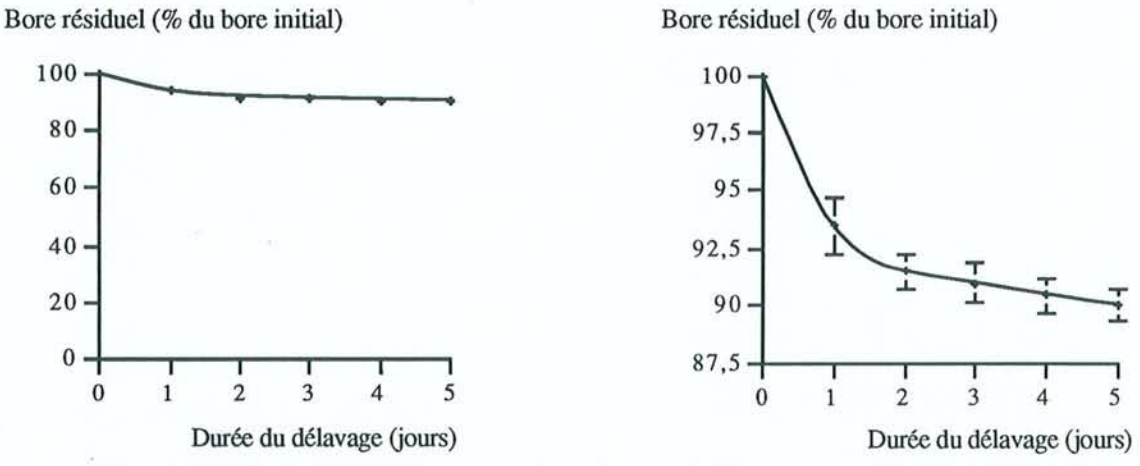


Figure 29. Bore résiduel au niveau d'un coagulum obtenu par thermo-dénaturation d'une solution d'ovalbumine à 1% et d'acide borique à 5%, à l'issue d'un délavage. Le bore a été dosé par titration.

Une des premières questions à se poser est de savoir si l'acide borique est uniquement retenu physiquement dans le coagulum, ou si une certaine proportion a été capable de réagir chimiquement avec la protéine. La figure 28 présente une courbe comportant 3 zones bien distinctes. La première zone (de 0 à 30 mg/ml de bore initial) indique qu'au maximum 6% du bore ajouté se retrouve dans le surnageant. Le phénomène explicatif le plus probable est la formation d'un sel entre l'acide borique et l'ovalbumine, via des groupements chimiques particuliers (vraisemblablement, les groupements peptidiques du squelette protéique). Une fois que ces groupements chimiques particuliers retenant l'acide borique sont saturés (fin de la zone 1), on constate une soudaine augmentation de la quantité de bore dans le surnageant. Dans la seconde zone (de 30 à 40 mg/ml de bore initial), la protéine est seulement capable de capturer une quantité plus faible d'acide borique. Le fait que la protéine continue à fixer du bore, revèle que d'autres groupements chimiques que ceux intervenant dans la zone 1, sont alors à même de réagir avec l'acide borique. Ceci est confirmé par la troisième zone (de 40 à 70 mg/ml de bore initial), pour laquelle seulement $\pm$15% du bore initial sont retrouvés dans le surnageant. Ainsi, environ 85% du bore initial sont fixés par quelque autre moyen au niveau de la protéine. La zone 2 apparaîtrait donc comme une zone de transition correspondant soit : (1) à un changement de conformation protéique dégageant de nouveaux groupements réactifs, ou (2) à un début de formation de complexe(s) entre ovalbumine et acide borique.

Les résultats des figures 31 et 32 montrent la formation de sel et de complexes entre l'acide borique et l'ovalbumine. Lorsqu'un complexe se forme par le mélange des solutions (dans un même solvant) de deux constituants simples : (1) il peut s'agir de complexes parfaits pratiquement stables, ou (2) de complexes imparfaits qui, en solution, sont en équilibre mobile avec leurs constituants simples. En préparant des mélanges en proportions variables de ces solutions, on peut mesurer (en fonction de la composition du mélange) une de ses propriétés et mettre en évidence la formation de divers types d'associations entre les composés (Job, 1928 ; Yoe & Jones, 1944). Dans le cas de l'acide borique et l'ovalbumine, nous avons utilisé les titrations acide/base pour évaluer les diverses associations entre composés. Sur les courbes de titration, chaque plateau obtenu correspond à un type d'association (sel ou complexe) selon le pH et la quantité d'acide borique en présence, la concentration protéique restant fixe. La titration de l'ovalbumine par l'acide borique est caractéristique de la formation d'un sel (figure 31), et, les titrations acide-base des mélanges ovalbumine-acide borique par la soude indiquent la présence de complexes (figure 32). Les spectres RMN (figures 33 et 34) tendent à le confirmer.

La figure 32 comprend des courbes de titration relatives à 3 ratios acide borique/ovalbumine, chacune représentative d'un comportement différent de l'association entre ces composés en solution. Le plateau compris dans la zone de pH 6-8, commun aux 3 courbes, n'est dû qu'à la titration de l'acide borique par la soude. Il ne doit donc pas être pris pour un signe de formation de complexe dans cette zone de pH. L'acide borique se comporte en effet

comme un monoacide (Pascal et al., 1961) et ce plateau correspond à la zone du point d'équivalence (figure 30).

Par ailleurs, pour les 3 ratios acide borique/ovalbumine, on note la présence d'un large plateau entre pH 10,5 et 12. Cette observation traduit la présence d'un complexe entre les deux composants en mélange, complexe apparemment stable dans cette large plage de pH. Quand la proportion d'acide borique augmente par rapport à la quantité de protéine, d'autres plateaux représentatifs de la formation de complexes apparaissent. Pour des concentrations moyennes d'acide borique (ici 1 g d'acide borique, soit à 4%), on observe deux plateaux dans les zones de pH 8,3-9 et 9,5-10 indiquant la présence de complexes, stables uniquement dans ces zones de pH. Pour les plus fortes concentrations d'acide borique (ici 2 g d'acide borique, soit à 8%), la situation est à nouveau différente : on peut signaler un plateau à pH 8,4-8,6 (à peine visible sur la figure 32), correspondant au premier plateau du cas précédent.

Tout ceci indique qu'un sel est formé, mais aussi des complexes entre ovalbumine et acide borique, dont les espèces varient en fonction des concentrations d'acide borique et du pH.

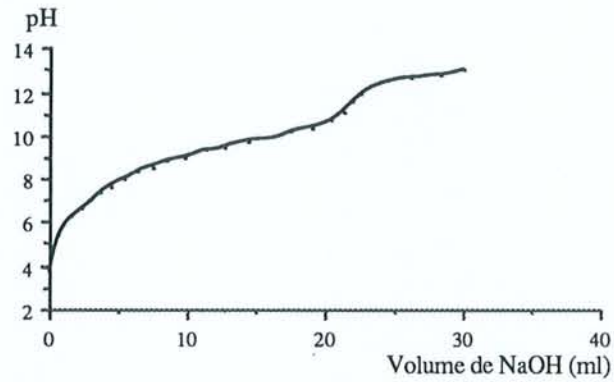


Figure 30. Titration d'une solution d'acide borique à 5% par une solution de soude 1 M.

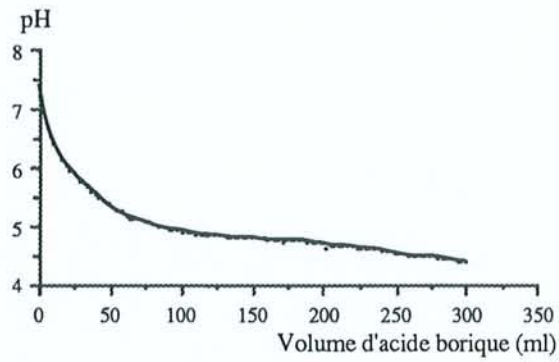


Figure 31. Titration d'une solution d'ovalbumine 1% par une solution d'acide borique 5%.

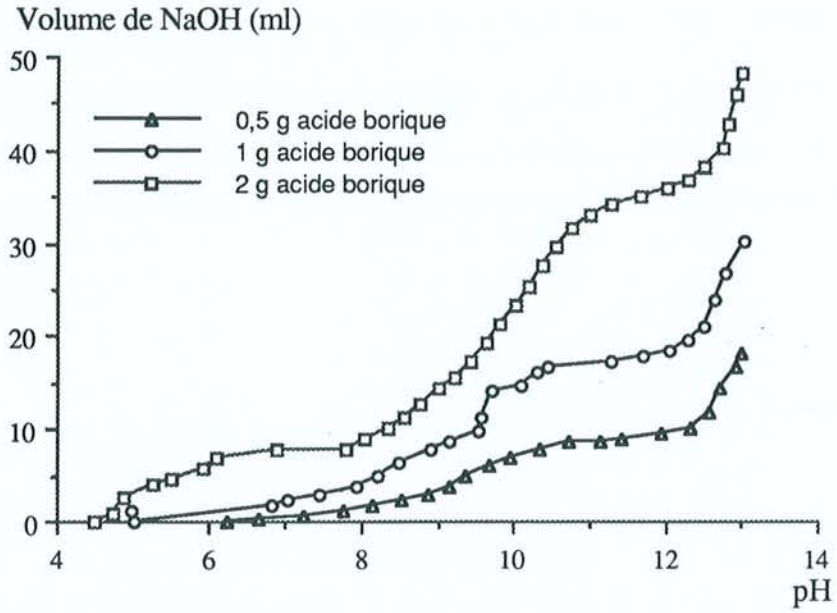


Figure 32. Titration par la soude 1 M de solutions d'ovalbumine (1%) et d'acide borique en mélange, avec diverses proportions d'acide borique.

L'analyse comparative, en RMN du ^{1}H, d'une solution d'ovalbumine et d'une solution d'ovalbumine et d'acide borique en mélange est présentée sur la figure 33. L'intensité des signaux dans la zone 6,5-9 ppm du spectre augmente de façon significative pour le produit de réaction entre l'ovalbumine et l'acide borique, révèlant un nombre plus important de groupements amines secondaires (NH_2^+) ionisés. Ce résultat tend à indiquer que les groupements amines secondaires ionisés des liaisons peptidiques participent à la formation d'un sel avec l'acide borique. Ceci est confirmé par le déplacement de 0,2-0,3 ppm du quadruplet de signaux originellement situés à 2,8-3,2 ppm, caractéristiques des CH_2 liés aux groupements amines primaires ou secondaires dans la protéine (Pretsch et al., 1989).

Les spectres comparatifs en RMN du ^{13}C en phase solide (CP-MAS) d'un coagulum d'ovalbumine et d'un coagulum d'ovalbumine et d'acide borique sont donnés dans la figure 34. Il est intéressant de constater un changement d'intensité relative des 2 bandes (relativement petites) à 40 et 38 ppm, et la disparition de cette dernière lors de l'association entre la protéine et l'acide borique. La bande à 38 ppm correspond aux carbones des groupements amines secondaires non ionisés (NH) des liaisons peptidiques du squelette protéique. La bande à 40 ppm est représentative des carbones liés à la forme protonée (NH_2^+) des mêmes groupements peptidiques, déplacés d'environ 2 ppm (Pretsch et al., 1989). L'augmentation du pic à 40 ppm et la diminution du pic à 38 ppm (jusqu'à disparition quasi totale) de manière concomitante, indiquent que le sel est formé entre ces formes ionisées des liaisons peptidiques et l'acide borique. La variation relative d'intensité des pics dans la zone 20-30 ppm

(caractéristiques des configurations carbonées telles que celle de la proline), accompagnée par la disparition des bandes à 76-77 ppm (caractéristiques des carbones des groupements C-$\underline{C}H_2$-N< et C_2-CHCON<) semblent suggérer une seconde association de type "complexe", la protéine et l'acide borique pouvant être liés via les groupes aminés et les groupements CO des liaisons peptidiques de la protéine. Aucune structure des complexes ne peut être avancée à partir de ces seules données.

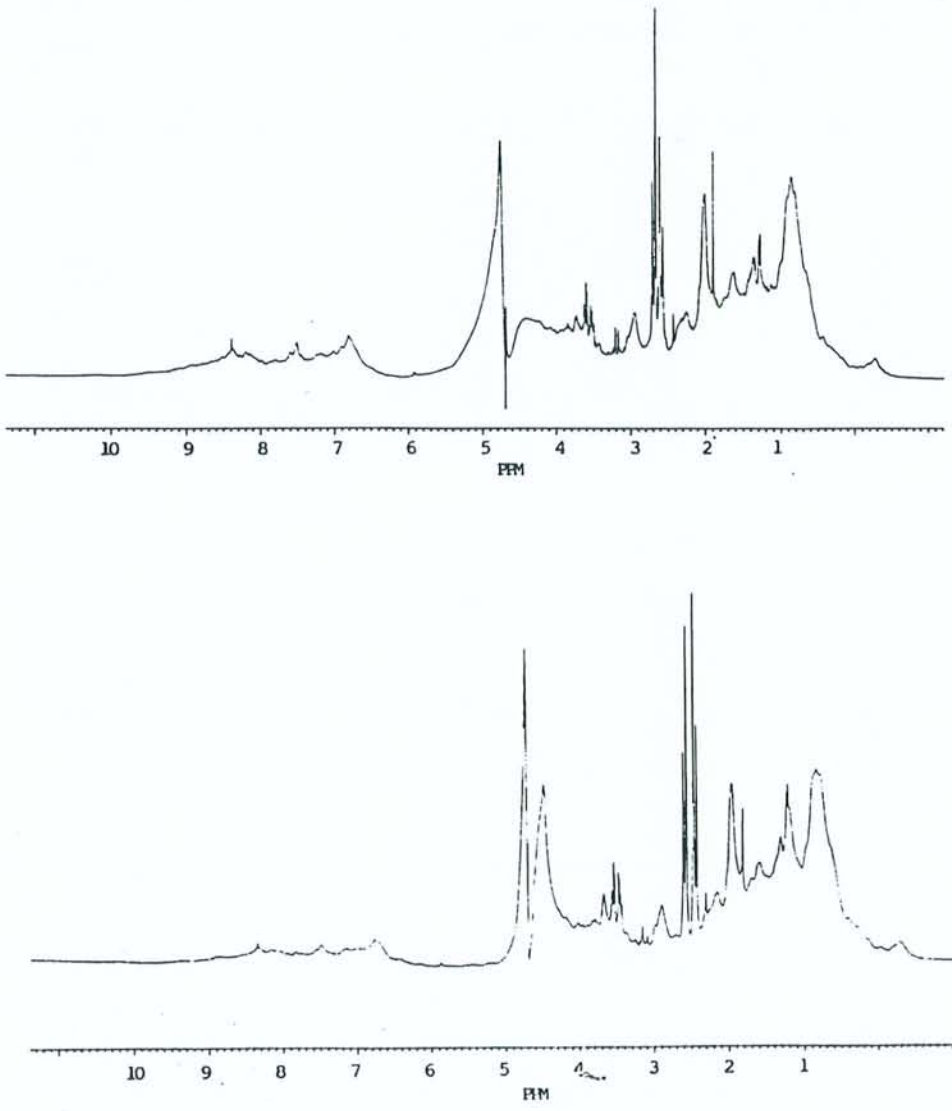
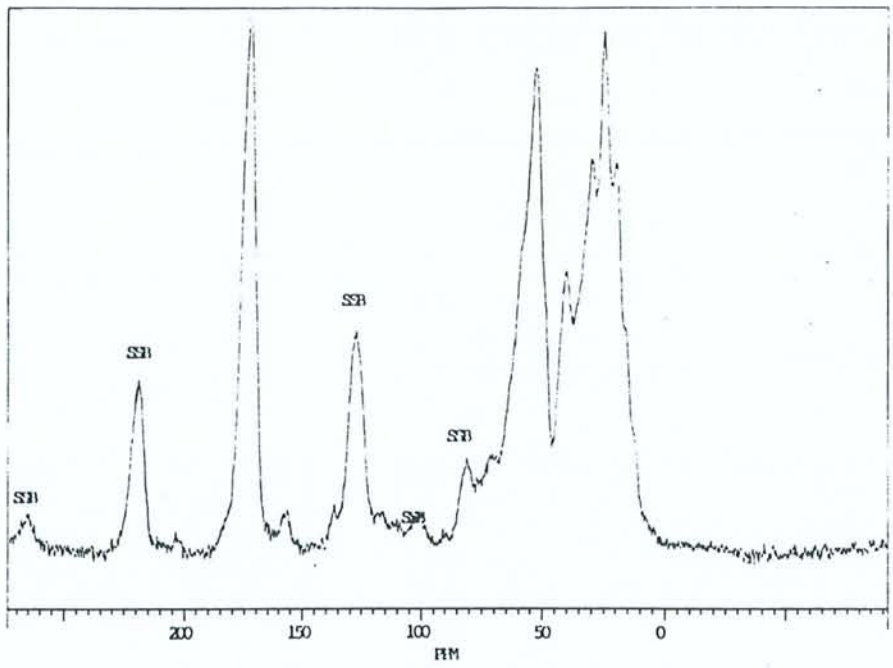
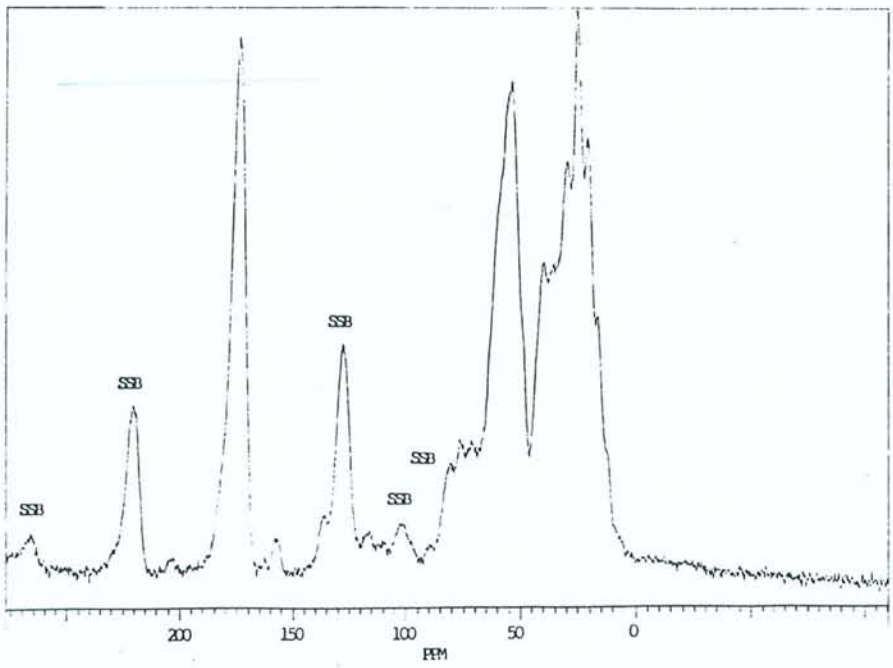


Figure 33. Spectres obtenus en RMN du ^1H pour une solution d'ovalbumine et d'acide borique en mélange (a) et pour une solution d'ovalbumine seule (b).



(a)



(b)

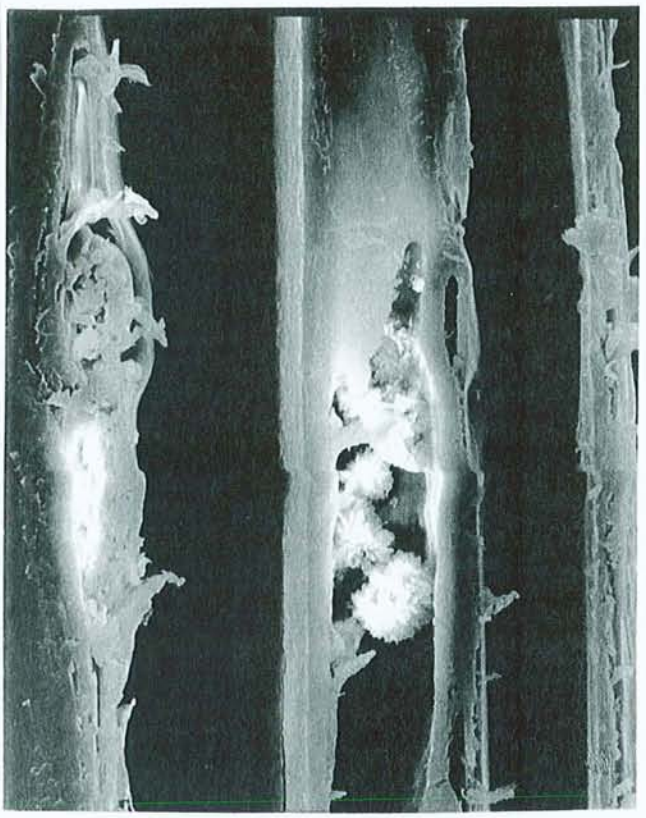
Figure 34. Spectres obtenus en RMN du ^{13}C en phase solide (CP-MAS) pour un coagulum d'ovalbumine et d'acide borique (a) et un coagulum d'ovalbumine (b).

L'observation en microscopie électronique de pin imprégné avec de l'ovalbumine seule (à 1%), puis chauffé pendant 4 h à 103°C, a permis de mettre en évidence d'épais filaments protéiques ayant tendance à tapisser les fibres de bois (figure 35). Par contre, lorsque le bois est traité avec un mélange d'ovalbumine (à 1%) et d'acide borique (à 5%), on observe des agrégats protéiques dans les fibres (figure 36).

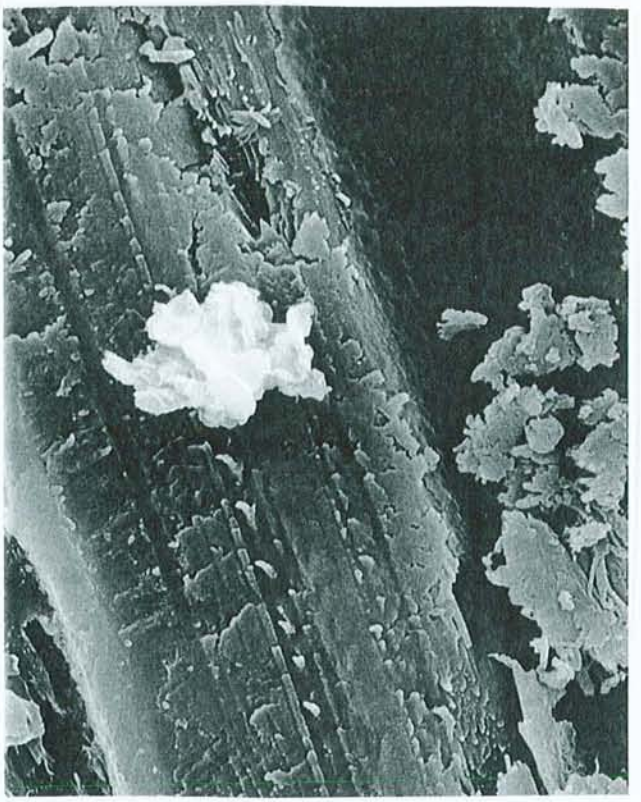


(a) (b)

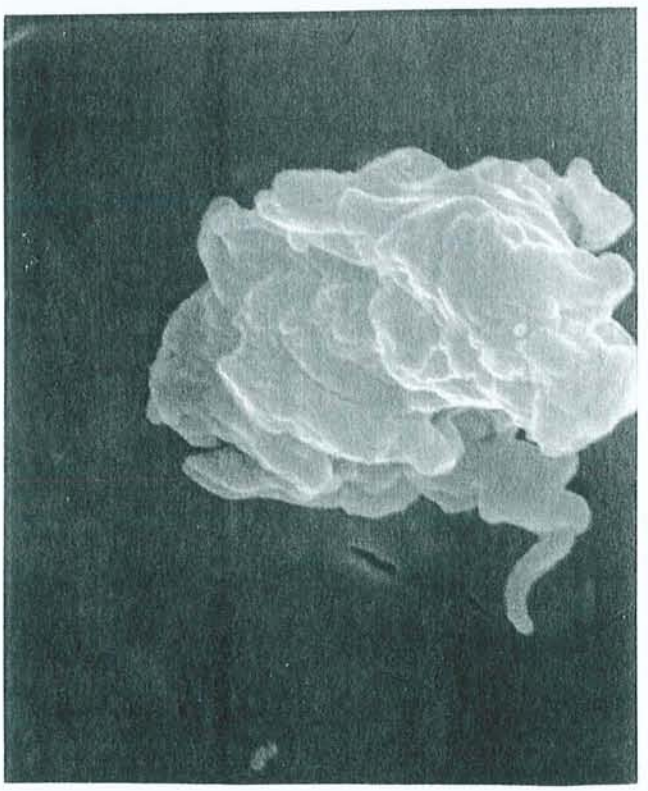
Figure 35. Observations en microscopie électronique à balayage de pin sylvestre imprégné par une solution d'ovalbumine à 1%, puis chauffé 4 h à 103°C. (a) x 1190 ; (b) x 1000.



(a)



(b)



(c)

Figure 36. Observations en microscopie électronique à balayage de pin sylvestre imprégné par un mélange d'ovalbumine à 1% et d'acide borique à 5%, puis chauffé 4 h à 103°C. (a) x 800 ; (b) x 2500 ; (c) x 7000.

D'après toutes ces informations, nous avons pu mettre en évidence de véritables réactions chimiques entre l'ovalbumine et l'acide borique lorsque ces deux composés sont en mélange en solution aqueuse. L'acide borique forme un sel avec l'ovalbumine au niveau des groupements aminés des liaisons peptidiques de la protéine. L'ovalbumine possède 385 résidus acides aminés (Nisbet et al., 1981), représentant donc un grand nombre de sites potentiels pour la formation du sel, que l'on peut nommer "borate d'ovalbumine".

Pour une solution d'ovalbumine à 1% et pour des concentrations d'acide borique allant jusqu'à 16,5%, le sel semble être la forme d'association prépondérante (zone 1 de la figure 28). On a aussi pu mettre en évidence la présence de complexes pour des ratios acide borique/ovalbumine, 4/1 et 8/1. Certains de ces complexes ne restent stables que dans des zones de pH restreintes. Les complexes les plus stables se situant dans la plage de pH 10,5-12.

Il est possible de formuler l'hypothèse suivante : le type d'association entre acide borique et ovalbumine est différent selon le ratio de ces deux composés. Pour un ratio acide borique/ovalbumine inférieur à 16,5/1, le sel serait essentiellement formé. L'acide borique tendrait à réagir avec les groupements aminés des liaisons peptidiques jusqu'à saturer tous les sites. Cependant, même dans cette zone, on peut voir apparaître de manière plutôt sporadique et labile, des complexes entre l'acide borique et la protéine.

Lorsque le ratio acide borique/ovalbumine dépasse 16,5/1, et atteint 18,3/1 (zone 2 de la courbe, figure 28), la quantité d'acide borique dans le surnageant est alors supérieure à 0,25 M. A des concentrations inférieures, on ne trouve en solution que les espèces H_3BO_3 ou $B(OH)_4^-$ ne contenant qu'un seul atome de bore. Mais dès cette concentration critique, l'acide borique a tendance à former des espèces contenant plusieurs atomes de bore : les polyborates (Gillespie et al., 1986). Selon les conditions de pH, on pourra trouver diverses formes de polyborates (figure 37). Ainsi aux ratios acide borique/ovalbumine compris entre 16,5/1 et 39,5/1, pourrait correspondre une zone de formation du sel, où on observerait aussi l'augmentation de la formation graduelle de complexes avec l'augmentation de la concentration en acide borique. L'ovalbumine possède une structure primaire peu remarquable (ses acides aminés constitutifs sont bien répartis proportionnellement), d'où un nombre impressionnant de sites protéiques pouvant former des liaisons avec les polyborates (Nisbet et al., 1981).

Lorsque le ratio acide borique/ovalbumine égal à 39,5/1 est dépassé (zone 3 de la courbe, figure 28), la quantité d'acide borique est telle que la formation de complexes pourrait être massive (sans pour autant préjuger de la stabilité de ces complexes), le sel restant par ailleurs toujours formé.

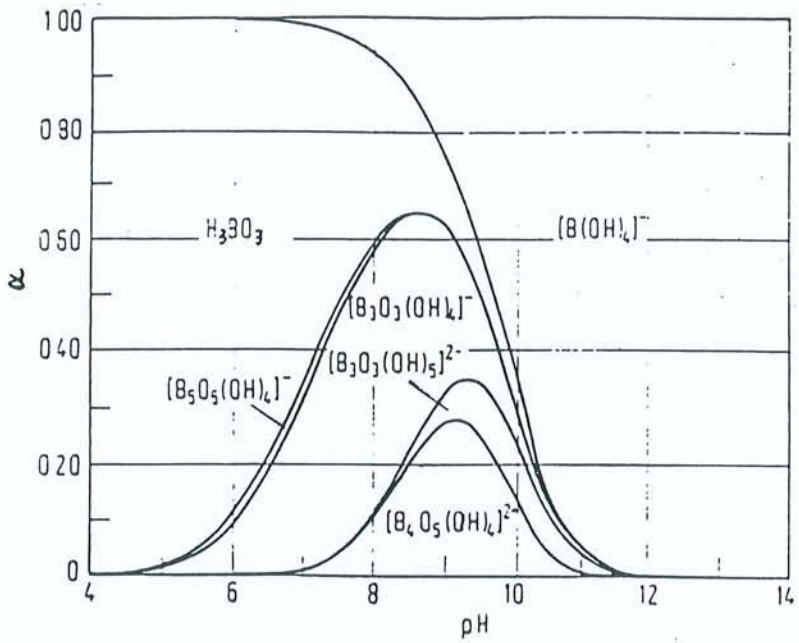


Figure 37. Acide borique et ses anions conjugués en solution aqueuse (polyborates) en fonction du pH, où α représente la répartition des espèces chimiques, rapportée à 1 (d'après Christ & Harder, 1975).

Nous nous sommes placés dans des conditions de ratio acide borique/ovalbumine = 5/1 (pH de la solution : 4,85), pour récupérer un coagulum protéique. Ce dernier, blanc très opaque, a ensuite pu être lessivé sans problème. En effet, lorsque l'ovalbumine en solution faiblement concentrée (ici 1%), à un pH proche de son pHi (4,5), est dénaturée par la chaleur, elle produit de manière irréversible un coagulum (Shimada & Matsushita, 1980). Cet édifice protéique est essentiellement stabilisé : (1) par des ponts disulfures, l'ovalbumine possèdant 4 groupements thiols réactifs après dénaturation, et (2) par des associations hydrophobes entre résidus acides aminés. On peut aussi mentionner la présence de liaisons hydrogène et des interactions ioniques locales (Egelandsdal, 1980). Le fait que l'on obtienne un coagulum à partir d'une solution aqueuse d'ovalbumine et d'acide borique, et que ce coagulum ne se délite, ni ne se redissolve lors du délavage, indique que la présence d'acide borique (pour un ratio 5/1) ne perturbe pas (en tout cas, pas de manière importante) la coagulation protéique, ni la stabilité du coagulum.

Pour les conditions expérimentales présentes, la turbidité de la solution précédant la formation du coagulum indique que les résidus acides aminés hydrophobes sont alors exposés à la surface de la protéine (Shimada & Matsushita, 1980). La moitié des acides aminés de l'ovalbumine sont des résidus hydrophobes (Nisbet et al., 1981, Thapon & Bourgeois, 1994), le coagulum possèdera donc de nombreuses zones hydrophobes en surface. Par ailleurs, dans les conditions de dénaturation évoquées précédemment, la coagulation est largement obtenue par le biais d'interactions protéine-protéine. Le coagulum résultant aura tendance à exsuder l'eau par phénomène de synérèse (Kitabatake et al., 1988).

Le coagulum d'ovalbumine retenant le bore présente donc, une hydrophobicité de surface, il contient peu d'eau car il est essentiellement formé par des interactions protéine-protéine, et, l'eau a été séparée du coagulum par un phénomène de synérèse lors de sa formation. Ainsi, ce coagulum aura notamment tendance à ne pas se dissoudre lorsqu'il est délavé, et il ne sera pas, non plus, le siège de reprise d'eau. Ces phénomènes concourent certainement au faible lessivage du bore lors du délavage d'un coagulum formé par l'association acide borique/ovalbumine thermo-dénaturée.

Les observations en microscopie électronique permettent d'étayer nos hypothèses quant au comportement de l'ovalbumine thermo-dénaturée en présence d'acide borique. La dénaturation de l'ovalbumine en solution est au départ un processus monomoléculaire (Grinberg et al., 1993). On passe d'une molécule d'ovalbumine native (pas de structure quaternaire) à une molécule d'ovalbumine dénaturée, toutes deux de forme globulaire. Cette protéine unimoléculaire dénaturée est réactive, et capable d'agrégation avec d'autres molécules dénaturées (Hsien & Regenstein, 1992). Une solution d'ovalbumine à 1% présente un pH (7,4) éloigné de son pHi (4,5). Dans ce cas, l'agrégation obtenue se traduit par la présence de polymères linéaires (Doi et al., 1989 ; Hsien & Regenstein, 1992) . Nous avons effectivement observé ce type de structure dans le bois traité avec l'ovalbumine seule (figure 35). Par contre, lorsque l'acide borique est utilisé avec l'ovalbumine (ratio 5/1), le pH de cette solution (4,85) se rapproche de son pHi. De plus, le pH du bois (entre 3 et 5) peut contribuer à une légère acidification (Marra, 1992). Dans ces conditions, les molécules dénaturées réactives auront tendance à s'agréger en un coagulum (Doi et al., 1989). Ces agrégats ont effectivement été observés dans le bois traité à l'ovalbumine et à l'acide borique (figure 36). Ces comportements sont schématisés en figure 38.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

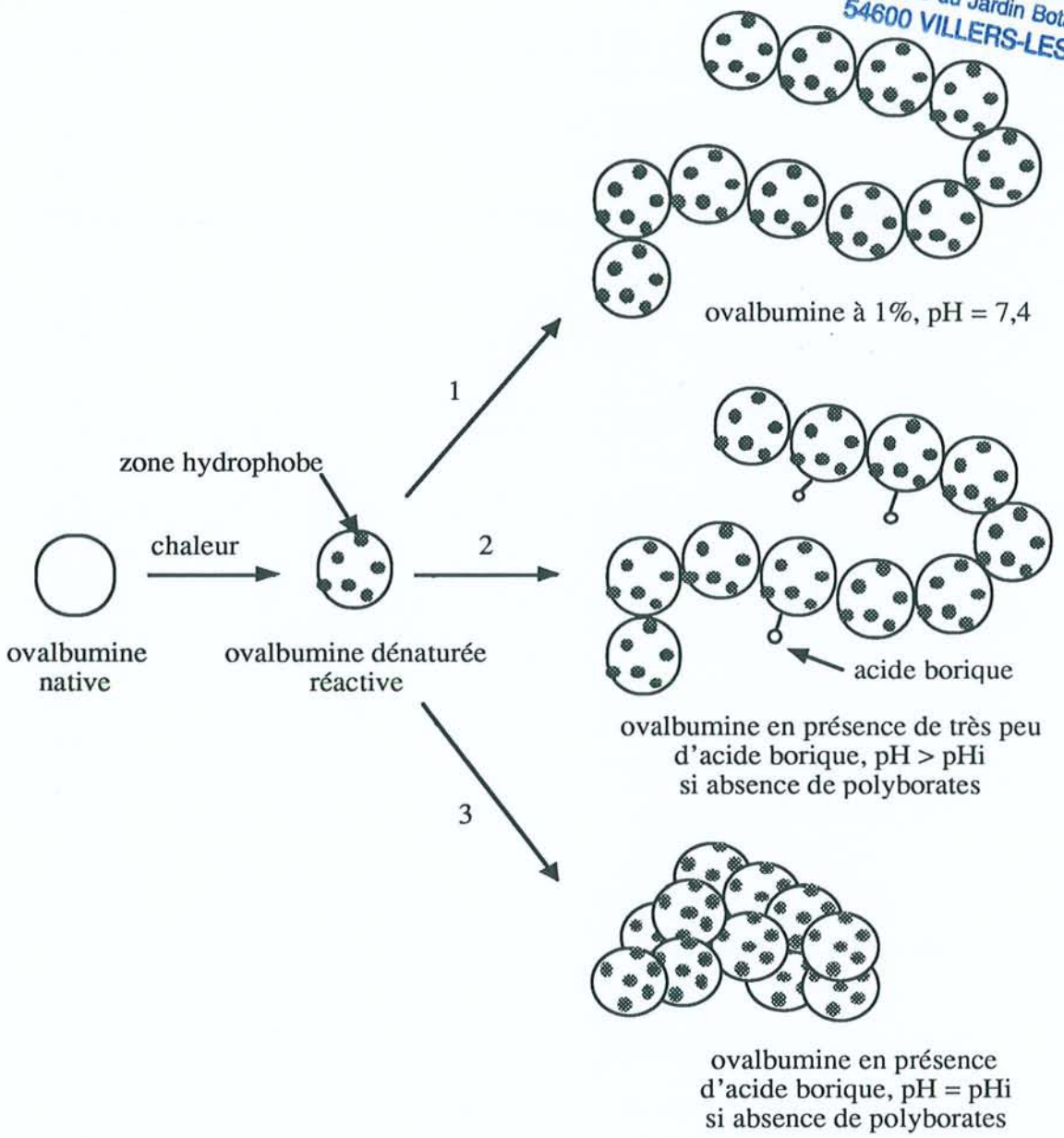


Figure 38. Comportement hypothétique de l'ovalbumine au cours de sa thermo-dénaturation, en présence de diverses proportions d'acide borique (la quantité d'ovalbumine étant fixe), et en absence de polyborates. 1 : ovalbumine uniquement ; 2 : ratio acide borique/ovalbumine tel que le pH soit encore nettement supérieur au pHi de la protéine ; 3 : ratio acide borique/ovalbumine tel que le pH de la solution soit proche ou égal au pHi de la protéine.

On peut penser que si la quantité d'acide borique est suffisante, et que la plage de pH est adéquate, on aura des polyborates en solution, capables de se fixer sur la protéine. Ces liaisons pourraient engendrer une compaction plus intense de l'agrégat protéique. Cependant certains polyborates, tel que l'anion $B_3O_3(OH)_4^-$ de pK = 6,84, sont des acides beaucoup plus forts que

l'acide borique (Lloyd, 1998). Selon les polyborates en présence et selon leur quantité, ces espèces peuvent contribuer à l'acidification de la solution. Dans le cas où les solutions d'ovalbumine contiennent suffisamment d'acide borique pour former des polyborates en nombre, l'agrégation protéique et la consistance du gel pourraient alors résulter de la balance entre l'effet pH et l'établissement de liaisons entre polyborates et protéines. En présence de polyborates, on pourrait alors avoir une agrégation protéique, même si le pH est éloigné du pHi (figure 39). La majorité du bore serait maintenue dans l'agrégat protéique par des liaisons chimiques, mais une certaine proportion pourrait y rester "piègée" de manière physique. Le bore, sous forme de polyborates, aura une solubilité normalement plus faible que l'acide borique, ce qui pourrait contribuer à le maintenir plus longtemps lié à la protéine lors d'un délavage.

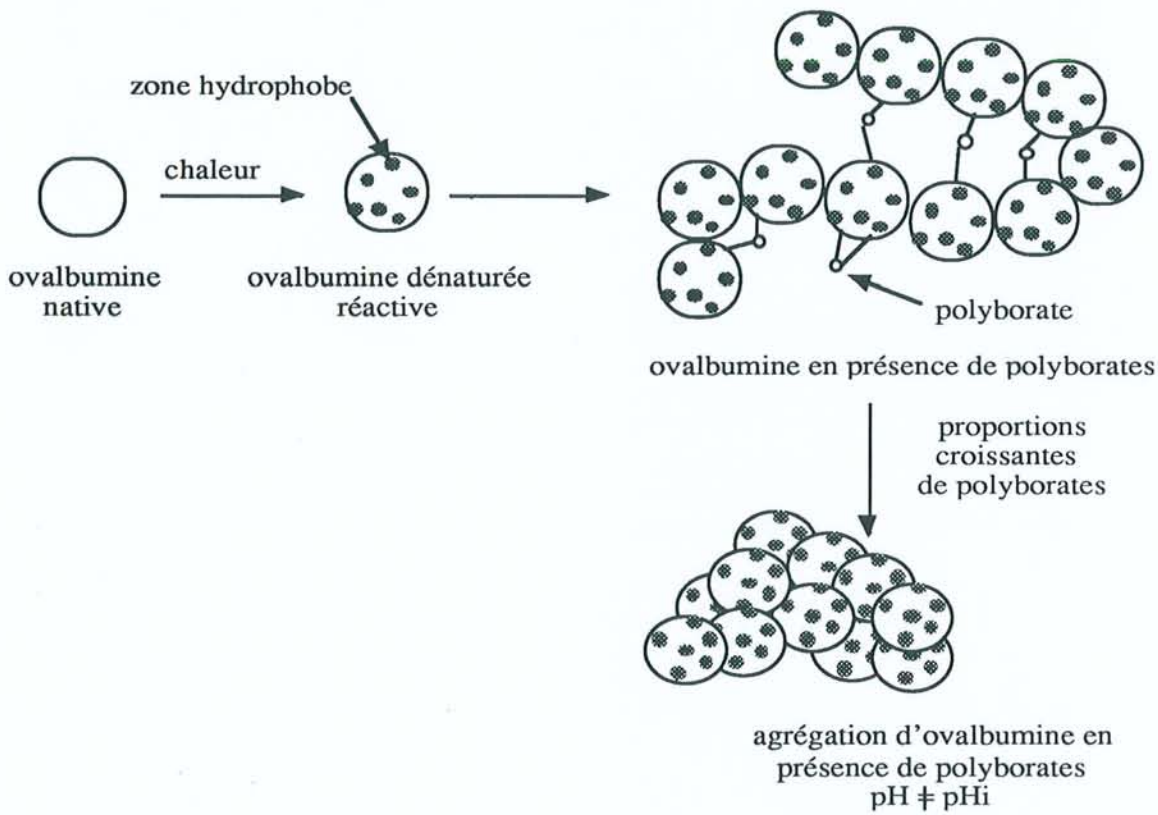


Figure 39. Comportement hypothétique de l'ovalbumine au cours de sa thermo-dénaturation, en présence de polyborates.

Ainsi, en présence de polyborates, à un pH éloigné du pHi de l'ovalbumine, on aurait aussi un mécanisme engendrant le maintient du bore dans l'agrégat protéique, ce phénomène

permettant alors de retarder aussi le lessivage du bore. Il reste à déterminer de façon expérimentale, si ce mécanisme est plus efficace (en terme de rétention de bore) que le mécanime de coagulation protéique à pH proche du pHi en absence de ponts polyborates. Il faut souligner que les ponts polyborates pourraient non seulement exister sur une chaîne d'ovalbumine (ponts intra-moléculaires) et relier différents sites de cette même chaîne, mais aussi entre plusieurs chaînes protéiques (ponts inter-moléculaires).

On pourrait envisager une mesure systématique du pH et une évaluation de la rigidité des gels obtenus pour différents ratios acide borique/ovalbumine, afin d'essayer de vérifier cette hypothèse.

1.3. Conclusion

Cette partie de notre travail a été déterminante pour le développement de produits de préservation du bois à base d'acide borique et de protéines.

Ainsi, nous avons pu mettre en évidence plusieurs faits à propos de l'acide borique et de l'ovalbumine en mélange, en solution aqueuse :

- l'ovalbumine est capable de réagir avec l'acide borique pour donner, soit un sel, soit un sel et des complexes plus ou moins stables, selon les ratios des deux composés en présence et selon le pH ;
- lorsque le mélange d'ovalbumine et d'acide borique est chauffé, la protéine est dénaturée et coagule ;
- le coagulum protéique fixe le bore sous forme d'acide borique. Lors d'un délavage, ce bore n'est pas libéré en masse, mais de manière très graduelle.

Par ailleurs, quand on se place au niveau du matériau bois, nous avons pu observer que :

- un mélange d'ovalbumine et d'acide borique en solution peut être imprégné dans le bois. Ces deux composés sont capables de réagir en solution et, d'après nos observations préliminaires, n'auraient pas tendance à se dissocier dans le bois ;
- sous l'effet de la chaleur, en présence d'un ratio acide borique/ovalbumine = 5/1, la protéine est dénaturée et on observe des agrégats importants dans les fibres. Ces agrégats ne semblent pas fixés au niveau des parois cellulaires du bois, mais du fait de leur taille, de leur rigidité et de leur insolubilité, il paraît assez improbable qu'ils puissent sortir des fibres de bois après y avoir été formés. Il est aussi probable qu'une partie de l'ovalbumine se soit dispersée au niveau de la matrice bois, lors de l'imprégnation, par un phénomène d'interpénétration des réseaux polymères. Après dénaturation, l'ovalbumine restera fixée de manière permanente au bois, même si celui ci est délavé.

Lors de la mise en place de ces expériences, nous avions délibérément choisi de placer ces éprouvettes traitées pendant 4 h à 103°C. Ces conditions semblent suffisantes pour provoquer une coagulation d'ovalbumine dans le bois. Hsien & Regenstein (1992) indiquent que pour les solutions protéiques diluées (ce qui est le cas à 1%), la température doit être d'au moins 90°C pour que toutes les molécules dénaturées puissent s'agréger et former un réseau tri-dimensionnel. Nos observations en microscopie électronique semblent indiquer que nous sommes plutôt proches des conditions stipulées par ces auteurs. Par commodité, ces paramètres seront conservés dans les essais ultérieurs. Il ne faut toutefois pas occulter le fait que les conditions de séchage (température, temps et ventilation éventuelle) peuvent être affinées, les facteurs temps et température étant indissociables pour une dénaturation optimale de l'ovalbumine (Grinberg et al., 1993).

2. Efficacité de formulations à base d'acide borique et de protéines contre des champignons Basidiomycètes - Essais accélérés en boîtes de Pétri

2.1. Préambule

La démarche utilisée lorsque l'on veut s'assurer de l'efficacité d'une nouvelle formulation contre des champignons lignivores est habituellement la suivante :

- (1) des tests sont réalisés en boîtes de Pétri en confrontant directement les champignons lignivores au produit de préservation. Selon sa nature, le produit est solubilisé dans la gélose, déposé dans un puits de gélose ou bien imprégné sur un morceau de papier. Ces tests sont très rapides et donnent une indication du seuil fongitoxique (dans ces conditions d'expérimentation) ;

- (2) si le test précédent est concluant, on passe ensuite par une phase de traitement d'éprouvettes de bois, lesquelles sont alors soumises à l'action de champignons cultivés sur milieu gélosé. La plupart du temps, il y a passage par une phase préliminaire d'essais accélérés, les essais normalisés étant longs et fastidieux. Ces méthodes accélérées sont aussi diverses que nombreuses, chaque laboratoire ayant tendance à développer des méthodes qui lui sont propres. Les divers tests accélérés ne peuvent, en aucun cas, faire état de référence, et s'évertuer à en comparer les résultats tiendrait du sacerdoce. Néanmoins, ce type d'expérimentation permet la ségrégation entre formulations prometteuses et inefficaces. Le passage par des tests normalisés est ensuite obligatoire. Ils représentent une base de comparaison objective et sont nécessaires à la certification des nouveaux produits. On remarque généralement que les seuils de toxicité s'avèrent très différents lorsque l'on passe de l'essai préliminaire sur gélose à l'essai sur bois. Il

n'est pas rare de constater aussi des différences entre essais accélérés et normalisés sur éprouvettes de bois.

- (3) finalement, des tests en champ sont obligatoires afin d'avoir un aperçu de la véritable valeur de la formulation. On trouve des tests en champ plus ou moins accélérés et plus ou moins orientés vers une classe de risques biologiques ou une autre.

Dans tous les essais que nous avons réalisés, les associations acide borique-protéine seront nommées "borates de protéine", essentiellement, par mesure de simplification. La véracité chimique de ce terme ne sera pas discutée dans ce manuscrit. Par ailleurs, les termes "borate d'ovalbumine" et "borate d'albumine" seront utilisés indifféremment, faisant référence au même produit.

Lors de l'évaluation de l'efficacité des borates de protéine, nous ne sommes pas passés par la phase de la détermination du seuil fongitoxique en boîtes de Pétri en solubilisant l'acide borique dans le milieu de culture. En effet, si l'on introduit de l'acide borique dans le milieu gélosé, une partie (au moins) de ce biocide sera rendue inefficace du fait de sa complexation avec les polyols contenus dans le milieu de culture (Lloyd, 1990). On aura donc, le plus souvent, une très médiocre performance dans ce type de tests, alors que le bore se révèle être un excellent biocide dès que l'on passe aux essais avec des éprouvettes de bois, comme l'ont confirmé Archer et al. (1995). Nous avons donc commencé nos essais biologiques avec du bois traité selon une méthode accélérée (cf Matériel et Méthodes, § II, 1.).

La quantité d'acide borique utilisée pour ces tests préliminaires a été fixée à 5% (p/v), limite de solubilité à 20°C (Pascal et al., 1961). Afin de justifier ce choix, nos arguments sont les suivants :

- nous voulons connaître le comportement des borates de protéine lors du délavage. Or, si nous utilisons un seuil fongitoxique donné, la quantité de bore dans le bois sera minimale pour faire face à l'attaque d'un ou de plusieurs organismes lignivores. Il se peut que cette quantité de bore soit trop faible pour que l'on puisse discerner des comportements différents parmi nos formulations, au cours d'un temps de délavage ;

- les essais préliminaires avec l'ovalbumine et l'acide borique ont montré que cette quantité d'acide borique permettait la formation d'un coagulum (sous l'effet de la chaleur) retenant efficacement le bore. Le borate d'ovalbumine ayant été choisi comme borate de protéine modèle, nous avons conservé cette concentration d'acide borique pour tous les autres systèmes protéiques étudiés.

2.2. Lot de bois n° 3 : associations entre acide borique et protéines

2.2.1. Traitement du bois

La masse volumique des éprouvettes utilisées est de 474 ± 47 kg/m^3. Les rétentions des diverses formulations sont données dans la figure 40. Les rétentions en bore sont exprimées en BAE (Boric Acid Equivalent) afin de pouvoir inclure les résultats de la caséine solubilisée dans le tampon borate. Ce tampon borate est effet constitué d'acide borique et de borax en mélange (cf Matériels et Méthodes, § II, 1., 1.8, 1.8.3.).

La rétention du CCA-type C est de 2,64 kg/m^3.

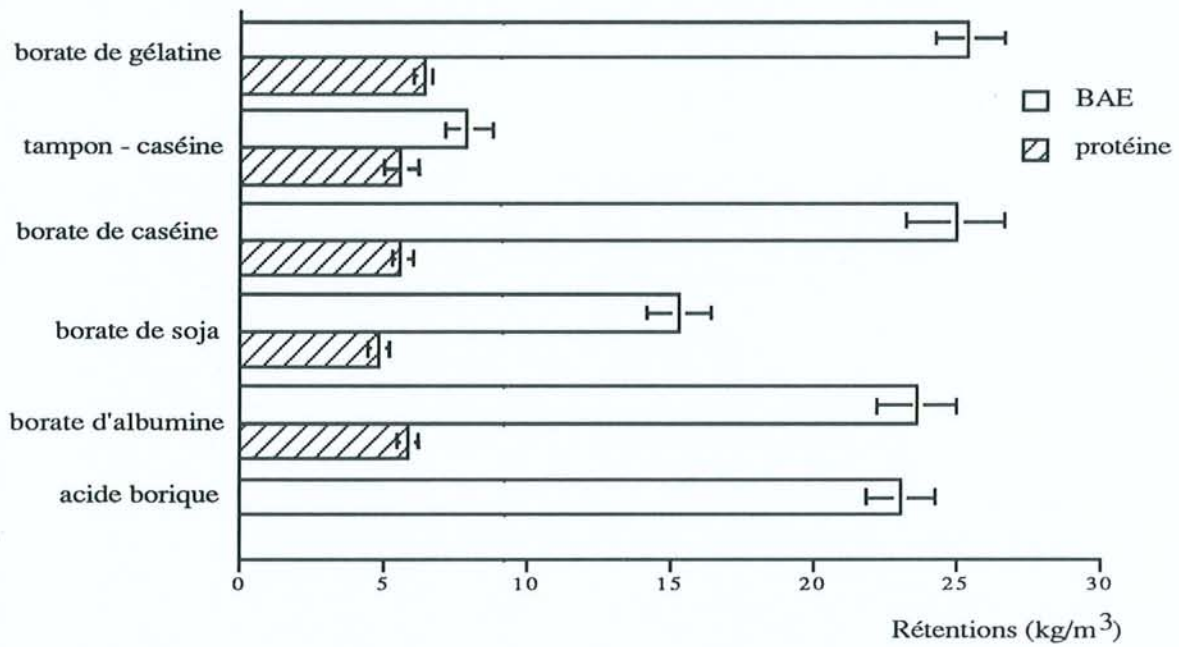


Figure 40. Rétentions de protéine et d'acide borique (BAE : Boric Acid Equivalent) lors du traitement d'éprouvettes de pin sylvestre par des borates de protéine.

La présence de protéines dans les formulations n'affecte pas les rétentions en acide borique. Les protéines, molécules de poids moléculaires élevés, ne semblent pas poser de problème d'imprégnation lorsqu'elles sont utilisées à 1% et convenablement solubilisées. En ajustant les concentrations de borates de protéine, on pourra donc obtenir des rétentions en BAE

correspondant à diverses spécifications, selon les organismes lignivores et selon les classes de risques biologiques.

Le bois traité au borate de soja présente globalement des rétentions moins importantes que le bois imprégné avec les autres borates de protéine, la masse volumique des éprouvettes utilisées restant pourtant inchangée. Avant traitement, les éprouvettes sont séchées à l'étuve jusqu'à obtention de leur masse anhydre, puis conservées dans un dessicateur jusqu'à l'imprégnation. Il est probable que les éprouvettes aient repris une certaine humidité avant traitement, d'où des rétentions moins importantes.

Le bois traité avec la caséine solubilisée dans le tampon borate présente une rétention en protéine similaire à celle du borate de caséine, la caséine étant employée à 1% dans les deux cas. Par contre, sa rétention en acide borique (exprimée ici en équivalent acide borique, BAE) est moins importante. En effet, la teneur en bore du tampon borate (mélange d'acide borique et de borax) est inférieure à la concentration en bore des "borates de protéine" utilisés.

2.2.2. Délavage du bois traité

Les résultats relatifs au lessivage du bore sont présentés sur la figure 41. Chacune des valeurs représente la moyenne des résultats obtenus avec 12 éprouvettes traitées et lessivées. Pour un traitement donné, toutes les éprouvettes ont un comportement similaire en ce qui concerne le lessivage du bore. Les écarts-types, non représentés sur les courbes (car trop petits), sont toujours inférieurs à 2,5%.

Quelle que soit la solution d'imprégnation employée, aucune protéine n'a été détectée dans les eaux de lessivage provenant des éprouvettes traitées. La sensibilité de la méthode de dosage à l'acide bicinchoninique étant de 10 µg/ml, il semble que les protéines ne soient pas lessivées à partir du bois traité.

Des eaux de lessivage provenant d'éprouvettes témoins ne contiennent ni bore, ni protéine.

Les éprouvettes traitées au CCA ont été délavées, mais aucune analyse des eaux de lessivage n'a été pratiquée.

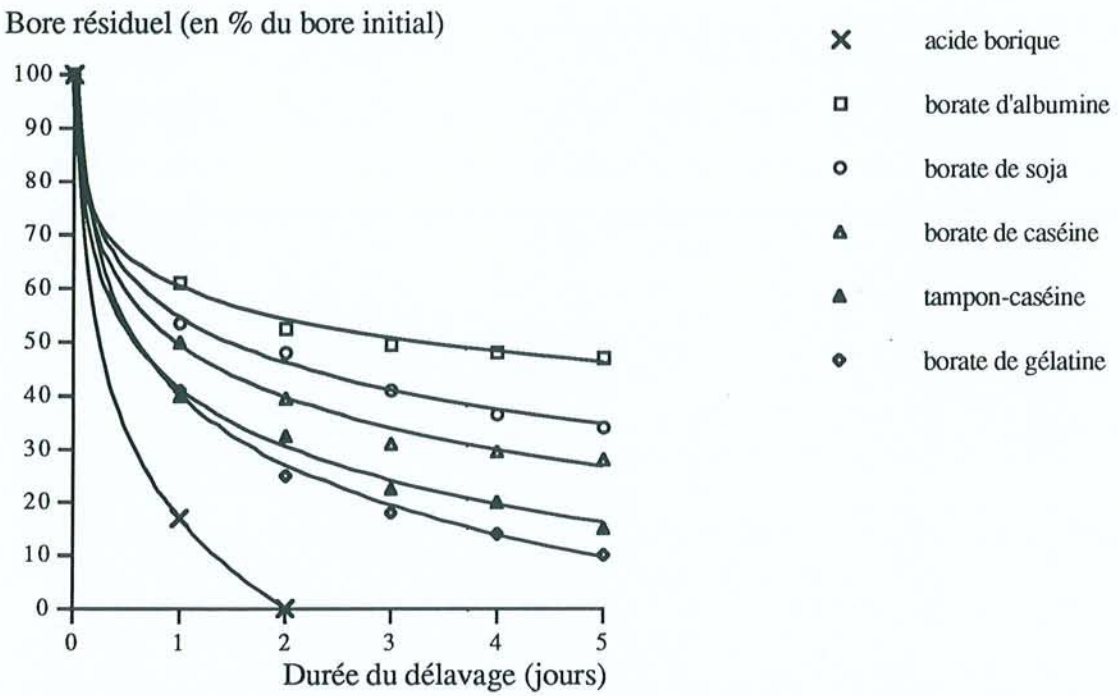


Figure 41. Bore résiduel (en % du bore initial) après délavage d'éprouvettes traitées avec de l'acide borique seul ou des borates de protéine. Le bore a été dosé par titration.

L'acide borique utilisé seul, même à 5% est totalement absent du bois après 48 h ; comportement tout à fait commun pour cet élément (Kirita et al., 1994).

Les associations entre acide borique et protéine retardent le lessivage du bore à partir du bois traité, le degré de rétention de cet élément étant fonction de la protéine utilisée.

Le borate d'ovalbumine est le système le plus performant. Après 24 h de délavage, la quantité de bore retenue dans le bois tend vers un équilibre qui peut être représenté selon la relation :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 62{,}30 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}198} \qquad \text{(Equation 2)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}996$.

Cette relation reflète un lessivage plus important du bore à partir des coagulums formés dans le bois, qu'à partir d'un coagulum formé en solution aqueuse (dans un bécher), les ratios acide borique/ovalbumine étant identiques par ailleurs (cf Equation 1). En effet, lorsque l'ovalbumine est imprégnée dans le bois, elle s'y disperse. Elle présente ainsi, une surface de réaction spécifique vis à vis de l'acide borique différente de celle observée lors de la formation d'un seul coagulum en solution aqueuse uniquement. Par ailleurs, dans le bois, on n'obtient pas un seul coagulum, mais plusieurs dont la taille est limitée par le volume du lumen des cellules du bois.

A l'opposé, le borate de gélatine est le plus mauvais des systèmes protéiques envisagés. En réalité, bien que nous ayons toujours employé le terme "gélatine", il faut préciser qu'il s'agit d'une gélatine obtenue par hydrolyse du collagène, sous forme de sels de sodium. Cette gélatine, contient en mélange divers polypeptides et peptides, beaucoup plus petits que les chaînes protéiques du collagène dont elle est issue. En refroidissant après l'imprégnation dans le bois, elle ne pourra pas engendrer un véritable réseau polymère tridimensionnel, mais un "pseudo-gel", d'autant plus qu'elle est utilisée à 1%, concentration critique entre une solution dite "diluée" et une solution dite "semi-diluée" (Djabourov, 1991).

Lors du délavage, le bois traité est placé dans un environnement aqueux à 20°C. Il semble que dans ces conditions, la gélatine ne lessive pas dans l'eau, mais le "pseudo-gel" qu'elle forme n'est pas capable de retenir le bore. Il est aussi possible qu'une partie de l'acide borique ait réagit avec les sels de sodium. Après 24 h de lessivage du bore, ce comportement protéique se traduit par la relation suivante :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 43{,}06 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}846} \qquad \text{(Equation 3)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}983$.

Les deux associations comportant caséines et bore présentent deux comportements distincts. Dans les deux cas, le pH de la solution d'imprégnation a été porté à 8,5, afin de dissocier les micelles de caséines. A ce pH, éloigné du pHi des caséines, on observe une excellente solubilité, facilitant l'imprégnation du bois (Cheftel et al., 1985).

Le mélange acide borique 5%-caséine 1% est porté à pH alcalin par une solution de soude. On aura donc en solution :

- des caséines α_{s1}, α_{s2}, β, κ, venant de la dissociation des micelles de caséines ;
- de la soude dissociée ;
- de l'acide borique.

A cette concentration, et dans ces conditions de pH, l'acide borique va se dissocier, mais va aussi donner naissance à plusieurs types de polyborates (voir figure 37). Ces composés borés peuvent : soit s'associer avec les protéines, soit être neutralisés par la soude (donnant alors des sels de sodium). Ce type de compétition fait qu'une certaine partie du bore, non liée aux protéines, sera facilement lessivable. Lorsque ce mélange est imprégné dans le bois, on peut supposer que le pH plutôt acide du bois (entre 3 et 5, d'après Marra, 1992), aura tendance à abaisser le pH de la solution de borate de caséine. On se rapprocherait d'autant plus du pHi des caséines (4,6). Or, lorsqu'une solution de caséines est chauffée (au dessus de 100°C), l'agrégation protéique est d'autant plus importante que l'on se rapproche du pHi (Cheftel et al., 1985). Brown (1988) a pu constater des agrégations de micelles lors du chauffage à 100°C d'une solution de caséines à pH 6,8. Sans savoir exactement quelles sont les conditions de température et de pH dans le bois traité, on peut toutefois penser que l'on s'approche

suffisamment de ces conditions pour avoir un certain degré d'agrégration protéique, capable de retenir partiellement le bore. Après 1 jour de lessivage, la rétention du bore par les caséines peut-être représenté par :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 49{,}85 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}377} \qquad \text{(Equation 4)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}977$.

Par contre, lorsque le bois est traité par une solution de tampon borate (acide borique 0,2 M et borax 0,05 M en mélange) contenant les caséines, on n'a plus de phénomène d'acidification lors de l'imprégnation dans le bois. De plus, le tampon contient non seulement de l'acide borique, mais aussi un sel de sodium : le borax. Ces deux faits concourent à une moins bonne réaction du bore avec les caséines dissociées, mais aussi à une agrégation protéique minime. Il n'est alors pas surprenant d'observer d'aussi piètres rétentions de bore au cours du délavage. A l'issue de 24 h de lessivage, le bore retenu par les caséines en solution dans le tampon borate est représenté par l'équation suivante :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 43{,}24 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}598} \qquad \text{(Equation 5)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}943$.

Il faut cependant remarquer qu'aucune protéine n'a été détectée dans les eaux de lessivage. Aussi, même si elles ne s'agglutinent pas de manière optimales dans le bois, les caséines n'ont pas tendance à en ressortir par simple diffusion. Cet effet est peut être dû à leur très forte hydrophobicité. Il est aussi possible qu'un phénomène d'adsorption se passe entre caséines et polysaccharides et/ou autres constituants de la matrice bois.

Le borate de soja est un cas particulièrement intéressant. Il apparaît avoir un comportement intermédiaire entre le borate d'ovalbumine et le borate de caséine, quoique légèrement plus proche du borate de caséine. Ce phénomène provient peut-être de la composition de la farine de soja, contenant à la fois des albumines et des globulines (Guegen & Certelli, 1994). La teneur en globulines étant de 90%, ce sont leurs propriétés qui régissent essentiellement les propriétés fonctionnelles de la farine de soja. La solubilité des protéines de soja est minimale dans une zone de pH comprise entre 4,2 et 4,6. La solution de borate de soja étant à 5,1, on peut supposer que l'on se rapproche de la plage de solubilité minimale lors de l'imprégnation dans le bois. L'effet d'une température supérieure à 70°C, engendre alors la formation d'un gel irréversible, stabilisé par des ponts disulfures, des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène. Tout comme dans le cas de l'ovalbumine, ce gel présente une hydrophobicité certaine (Guegen & Certelli, 1994). La rétention du bore par la farine de soja, après 24 h de délavage, se traduit par la relation :

Bore retenu (%) = 54,26 temps de délavage (en jours)$^{-0,270}$ (Equation 6)

coefficient de corrélation $r^2 = 0,994$.

Nous avons utilisé une farine de soja délipidée dans laquelle il reste environ 15% de polysaccharides. L'acide borique est capable de former des complexes avec les polyols (Lloyd, 1990), donc tout ce qui sera fixé au niveau des polysaccharides ne pourra pas être retenu dans le bois par les protéines de soja. Il devrait être intéressant de réaliser ce même type d'expérience avec des farines de soja débarrassées de leurs polysaccharides.

Pour chacune des associations acide borique/protéine envisagées, la relation mathématique (Equations 2, 3, 4, 5, 6) décrivant la rétention du bore au cours du temps de délavage (après 24 h de lessivage) permet de traduire l'efficacité du système protéique mis en oeuvre. On peut alors établir le classement suivant, par ordre croissant de rétention du bore : borate de gélatine (pH : 4,47) < caséine dans du tampon borate (pH : 8,5) < borate de caséine (pH : 8,5) < borate de soja (pH : 5,1) < borate d'ovalbumine (pH : 4,85).

2.2.3. Essais biologiques accélérés

Les résultats biologiques étaient relativement prévisibles : plus la teneur en bore restant dans les échantillons est élevée, et mieux le bois est protégé des attaques fongiques. La quantité probable d'acide borique restant dans les éprouvettes, après délavage, est indiquée dans le tableau 8. Les résultats des tests biologiques accélérés, c'est à dire les pertes de masse moyennes corrigées des éprouvettes soumises à l'action de champignons Basidiomycètes, sont donnés dans le tableau 9.

A ces résultats, il faut ajouter que les éprouvettes traitées avec une solution de soude (pH 8,5, par comparaison avec les systèmes mettant en oeuvre les caséines), ont été dégradées tout autant que les témoins. Le pH des solutions d'imprégnation à 8,5 n'induit donc pas d'inhibition fongique.

Les éprouvettes témoins, placées dans les boîtes de Pétri avec les éprouvettes traitées, étaient toutes totalement recouvertes de mycélium à l'issue des 4 semaines d'incubation. Les éprouvettes témoins, les éprouvettes traitées au borate d'ovalbumine et lessivées, et les éprouvettes traitées au borate de gélatine et lessivées, en fin d'éssai biologique, sont montrés sur les figures 42, 43 et 44 respectivement.

Tableau 8. Quantité probable d'acide borique (exprimée en BAE : Boric Acid Equivalent) restant dans le bois après lessivage.

Traitement	Acide borique restant dans le bois (kg BAE/m^3)
acide borique	0
borate d'ovalbumine	11,11
borate de soja	5,15
borate de caséine	7,24
caséine-tampon borate	1,50
borate de gélatine	2,56

Tableau 9. Pertes de masse moyennes corrigées (%) des éprouvettes traitées avec des borates de protéine, de l'acide borique seul ou du CCA. Les éprouvettes ont été lessivées avant les essais fongiques accélérés.

Traitement	*Coniophora puteana*	*Gloeophyllum trabeum*	*Poria placenta*
témoins	11,0 ± 1,2	14,0 ± 1,3	13,0 ± 0,9
acide borique	10,0 ± 1,04	12,1 ± 1,4	11,5 ± 1,0
borate d'ovalbumine	0,9 ± 0,07	0,8 ± 0,10	0,1 ± 0,18
borate de soja	2,5 ± 0,8	2,7 ± 0,4	2,7 ± 0,6
borate de caséine	2,3 ± 0,3	2,6 ± 0,4	1,8 ± 0,5
tampon-caséine	essais non validés : développement de moisissures		
borate de gélatine	2,7 ± 1,06	2,8 ± 0,95	2,7 ± 1,10
CCA	0,04 ± 0,01	0,24 ± 0,05	0,32 ± 0,02

Les éprouvettes traitées à l'acide borique seul, ne contiennent plus de biocide, et sont dégradées de la même manière que les témoins.

Dans les boîtes de Pétri, les éprouvettes témoins placées avec les éprouvettes traitées sont toutes recouvertes de mycélium et autant dégradées que les témoins de virulence. Ainsi, dans les boîtes de Pétri, les souches fongiques sont bien actives.

Les échantillons traités par les mélanges protéine 1%-acide borique 5% sont tous bien préservés, car malgré les taux de lessivage, la quantité de bore restant est toujours supérieure aux seuils fongitoxiques (Drysdale, 1994). Même dans le cas du borate de gélatine, système

protéique le moins performant, la quantité d'acide borique résiduelle à l'issue du lessivage (2,56 kg BAE/m^3) suffit à protéger le pin sylvestre des attaques des trois Basidiomycètes utilisés. Ces éprouvettes traitées et lessivées sont peu colonisées par les champignons (figure 44), ce qui est corrélé avec les faibles pertes de masse enregistrées. Il faut souligner que les échantillons traités au borate d'ovalbumine et lessivés, sont extrêmement bien préservés (figure 43). Ils peuvent aisément rivaliser avec les éprouvettes traitées au CCA, dans ces conditions d'expérimentation particulières.

Dans le cas de la caséine solubilisée dans le tampon borate, des moisissures se sont développées dans toutes les boîtes de Pétri. L'essai biologique n'a pas été validé. Il resterait environ 1,5 kg BAE/m^3, dans le bois, ce qui est, bien souvent, insuffisant à la protection du matériau face aux champignons Basidiomycètes (Drysdale, 1994). Donc, si les boîtes n'avaient pas été contaminées, il est fort peu probable que le pin ait été protégé des dégradations fongiques.



Figure 42. Aspect des éprouvettes témoins (dites "témoins de virulence"), à la fin des 4 semaines d'exposition aux champignons Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri.

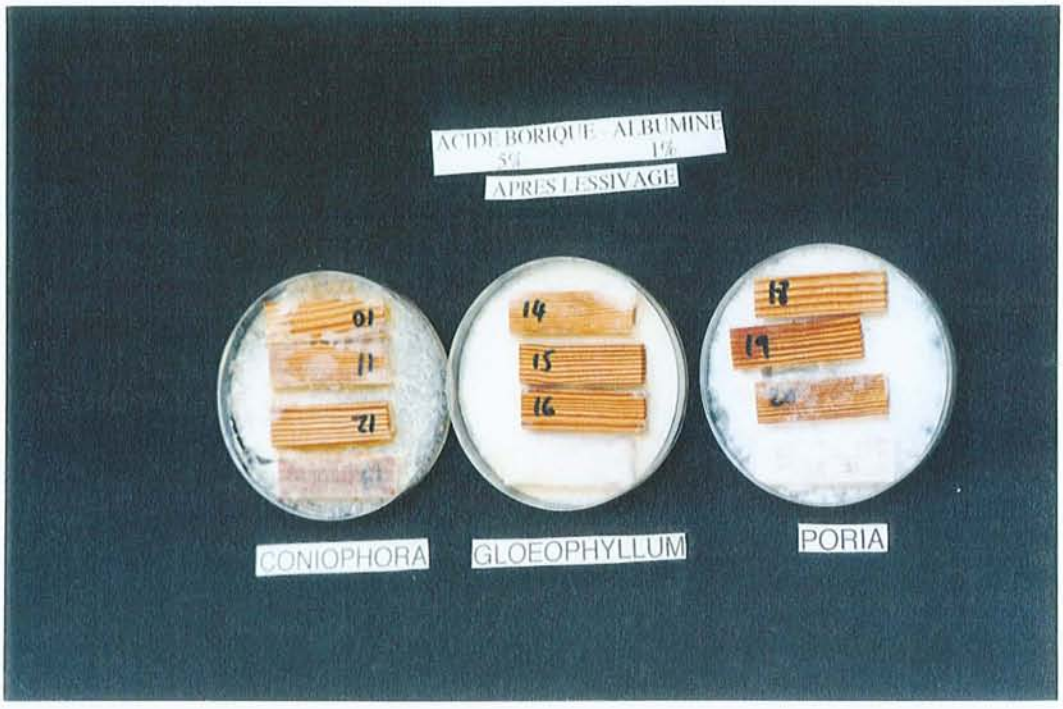


Figure 43. Aspect des éprouvettes traitées au borate d'ovalbumine et lessivées, à la fin des 4 semaines d'exposition aux champignons Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri. Les éprouvettes témoins (1 par boîte) sont entièrement recouvertes de mycélium.



Figure 44. Aspect des éprouvettes traitées au borate de gélatine et lessivées, à la fin des 4 semaines d'exposition aux champignons Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri. Les éprouvettes témoins sont entièrement recouvertes de mycélium.

2.3. Lot de bois n°4 : associations entre acide borique, protéines et tanins condensés

Au vu des résultats précédents, nous nous sommes interrogés sur d'éventuelles améliorations de ces formulations. Les résultats obtenus avec les borates de caséine et de soja, tiennent d'une part à la composition spécifique des systèmes protéiques, et sont par ailleurs, très nettement influencés par le pH. Une amélioration de ces associations demanderait un travail de purification des systèmes protéiques, une large étude de l'influence combinée de la température et du pH, entre autres investigations.

L'association acide borique-gélatine (en réalité, gélatine sous forme de sels de sodium) semble pouvoir être rendue plus efficace par l'addition de tanins condensés dans la solution de traitement du bois. A défaut d'obtenir un véritable gel (impossible avec cette gélatine, constituée d'un mélange de chaînes polypeptidiques plus ou moins courtes), il est possible de rendre le pseudo-gel plus résistant à l'eau, et de réduire ainsi le lessivage du bore.

Les tanins condensés sont bien connus pour leur affinité envers les protéines, et en particulier envers celles riches en proline et hydroxy-proline, comme la gélatine (Goldstein & Swain, 1965 ; Zucker, 1983). Cette propriété a été très largement utilisée pour le tannage des peaux notamment.

Nous avons donc traité un lot de bois avec du borate de gélatine additionné de tanins condensés, espèrant améliorer ainsi les performances du système. A titre comparatif, le borate d'ovalbumine a également été employé en présence de tanins condensés.

2.3.1. Traitement du bois

La masse volumique des éprouvettes utilisées est de 474 $\pm$ 47 kg/m^3. Les rétentions des divers produits de traitement du bois sont indiquées sur la figure 45. A titre comparatif, nous avons ré-indiqué les résultats obtenus avec l'acide borique utilisé seul (lot de bois n°3).

Ces traitements ont été réalisés en une seule étape d'imprégnation. Les tanins condensés ont été ajoutés au dernier moment aux solutions de borates de protéine. Mis en oeuvre à 1%, ces tanins ne précipitent pas les protéines, mais ont tout de même la propension à rendre les solutions plus visqueuses. Bien que nous n'ayons pas mesuré la viscosité des solutions d'imprégnation, la solution de borate de gélatine-tanins semble plus visqueuse que la solution de borate d'ovalbumine-tanins. Cette viscosité peut éventuellement expliquer les différences observées au niveau des rétentions d'acide borique. Plus la solution est visqueuse, moins l'acide borique aura tendance à pénétrer dans le bois. Ce type d'observation a été rapporté par

Grace & Yamamoto (1994b), lesquels remarquaient des rétentions en BAE (Boric Acid Equivalent) moins élevées pour une solution de disodium octaborate tétrahydrate (DOT) dans l'éthylène glycol, par rapport à une solution aqueuse de DOT. De plus, He et al (1997) ont montré qu'une solution aqueuse de DOT à 40% BAE générait des rétentions proportionnellement moins importantes qu'une solution de DOT à 20% BAE, du fait de sa viscosité. Ainsi, pour les solutions de traitement utilisées, on aura : acide borique < borate d'albumine-tanins < borate de gélatine-tanins par ordre croissant de viscosité, et l'exact inverse en termes de rétention d'acide borique.

La rétention des protéines est aussi affectée par la présence de tanins, par comparaison avec le lot de bois n°3 (associations acide borique-protéine uniquement).

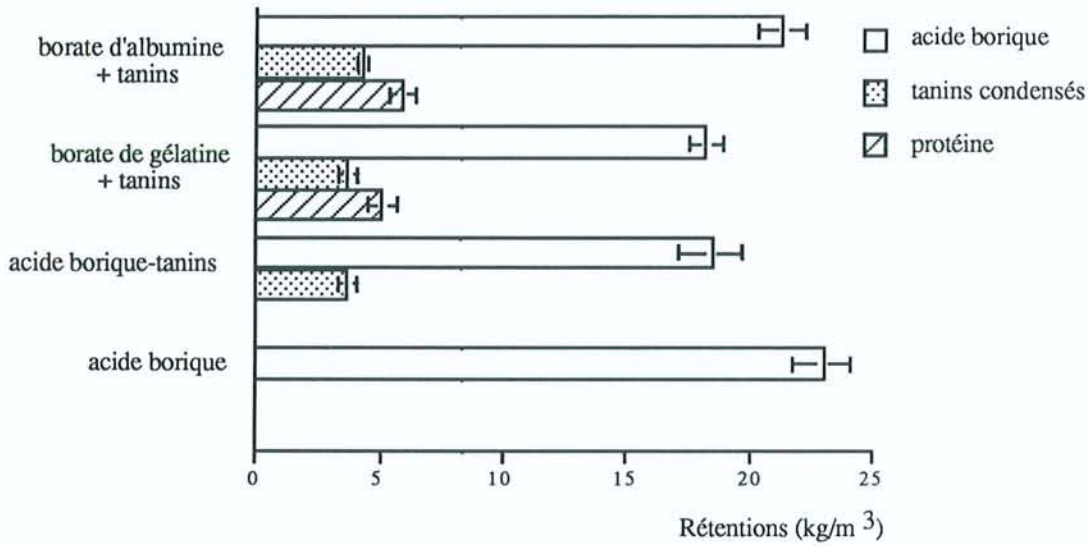


Figure 45. Rétentions des produits entrant dans les formulations du type borate de protéine-tanins condensés lors du traitement d'éprouvettes de pin sylvestre.

2.3.2. Délavage du bois traité

Le comportement du bore lors du délavage du bois traité par des solutions d'acide borique, de protéines et de tanins condensés en mélange, est représenté en figure 46. Chaque valeur est la moyenne de 12 éprouvettes. Les écarts-types (non représentés car trop petits) sont toujours inférieurs à 2,8%. Les résultats avec l'acide borique utilisé seul ont été rappelés pour comparaison.

La présence de protéines n'a pas été mise en évidence dans les eaux de lessivage.

Les tanins n'ont pas été détectés dans les eaux de délavage du bois traité par les solutions de borate de protéine-tanins. Pour le traitement acide borique-tanins, il reste 97,2% des tanins initialement imprégnés dans le bois, après 5 jours de délavage.

Les eaux de délavage d'éprouvettes témoins n'ont pas révélé la présence de tanins, ni de protéines, ni de bore.

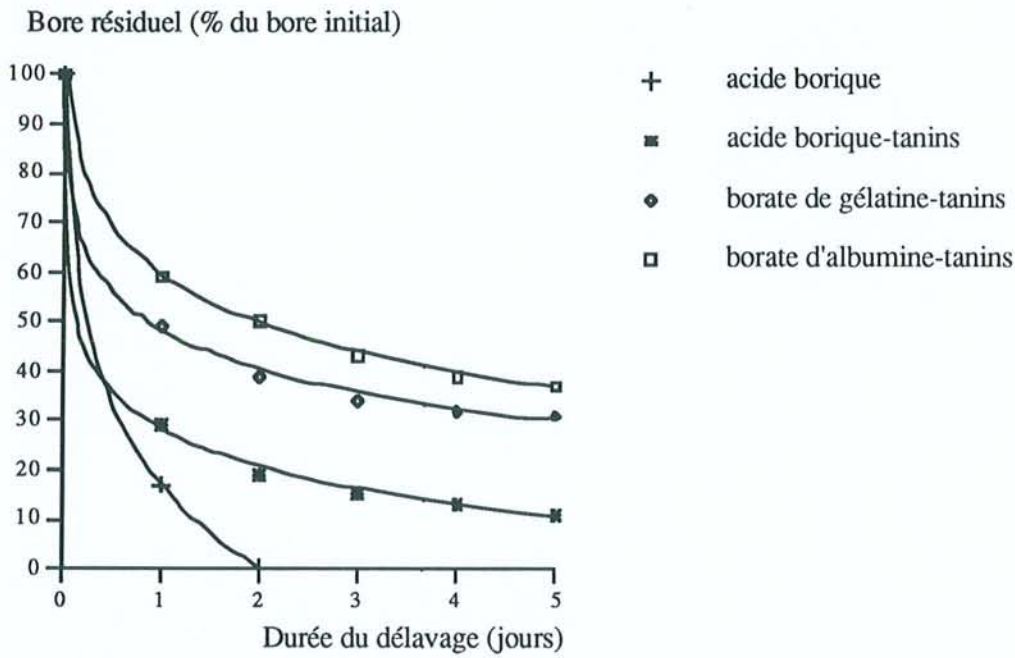


Figure 46. Bore résiduel (en % du bore initial) après délavage d'éprouvettes traitées par des associations borate de protéine-tanins. Le bore a été dosé par titration.

Le traitement acide borique-tanins, en une seule imprégnation, semble améliorer légèrement la rétention de l'acide borique dans le bois traité, par rapport au lot de bois n°1 (associations acide borique-tanins condensés). Mais ces constatations ne sont vraisemblablement qu'un leurre. Dans le lot de bois n°1, les rétentions d'acide borique étaient de l'ordre de 10 kg/m^3, alors qu'elles sont au moins du double pour ce nouveau lot de bois. Au regard de l'allure de la courbe relative à ce traitement, il n'est pas déraisonnable de penser que la déplétion du bore à partir du bois traité risque d'être quasi totale si l'on poursuit plus longtemps le lessivage. Après 24 h de délavage, la quantité de bore retenue dans le bois (au cours du temps de lessivage) peut être représentée par :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 28{,}90 \ \text{temps de délavage (en jours)}^{-0{,}593} \qquad \text{(Equation 7)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}999$.

L'amélioration la plus notable quant à la rétention du bore dans le bois, est constatée pour le traitement borate de gélatine-tanins. La capacité de cette association à retenir le bore est presque 4 fois plus élevée que celle du borate de gélatine seul, et la rétention du bore après 24 h de lessivage tend vers un équilibre qui peut désormais être traduit par la relation :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 48{,}26 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}292} \qquad \text{(Equation 8)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}986$.

Dans le cas du mélange acide borique-gélatine, la protéine réagit avec l'acide borique pour former un sel. Mais, ce type de gélatine donne un pseudo-gel, thermo-réversible, stabilisé par des liaisons hydrogène, et très peu résistant à l'eau (Triboulot et al., 1996). Lorsque des tanins condensés sont additionnés au borate de gélatine, le bore est beaucoup mieux retenu dans le bois, les tanins et les protéines ne sont pas lessivés.

Afin d'expliquer ces phénomènes, on peut avancer certaines hypothèses. Les tanins condensés présentent une forte affinité pour la gélatine, protéine riche en proline et en hydroxy-proline (Zucker, 1983). Ils se lient à cette protéine, essentiellement en établissant des liaisons hydrophobes avec la proline et l'hydroxy-proline, ce type de liaison étant indépendant du pH (Coupois-Paul, 1993). Les tanins peuvent former de nombreuses liaisons ioniques avec les groupements aminés ionisés (figure 47). Ce mécanisme, mis en évidence par Pichelin et al. (1998), est notamment à l'origine de la formation d'un pseudo-gel consistant lorsque des tanins condensés sont mis en solution avec de l'hexaméthylènetétramine. Ce phénomène a lieu à température ambiante, dans une large plage de pH (4,5 à 7), avec des groupements amines primaire et secondaire. Ce type de liaison ionique doit certainement se former dans le bois lors de l'imprégnation du mélange borate de gélatine-tanins condensés. Ces tanins condensés établissent aussi des liaisons hydrogène avec les divers résidus acides aminés en présence.

Ainsi, les tanins condensés établissent de nombreuses liaisons non covalentes avec les chaînes peptidiques de gélatine en présence. Ces liaisons contribuent à rendre le pseudo-gel plus consistant, et plus résistant à l'eau (Coupois-Paul, 1993 ; Yamaguchi et al., 1994 ; Pichelin et al., 1998)

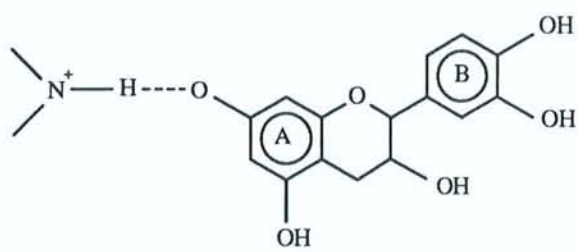


Figure 47. Liaison ionique se formant entre tanins condensés d'écorces de pin et groupement aminé (d'après Pichelin et al., 1998).

Par ailleurs, nous avons séché les éprouvettes imprégnées à 103°C pendant 4 h. D'après nos conditions expérimentales, il est cependant fort peu probable qu'une réticulation des tanins fixant alors l'acide borique ait lieu (Pizzi & Baecker, 1996).

On peut aussi signaler que les ions sodium, provenant de la gélatine, peuvent s'associer à l'acide borique, privant alors ce composé de fixation sur la chaîne peptidique.

Les tanins ne sont pas du tout lessivés car ils sont retenus au niveau des protéines. D'après les résultats de lessivage des tanins, obtenus pour le traitement acide borique-tanins, on peut aussi concevoir qu'une partie des tanins reste fixée du fait de leurs affinités pour les protéines et les polysaccharides des parois cellulaires du bois (Zucker, 1983 ; Bariska & Pizzi, 1986 ; Pizzi & Cameron, 1986).

La gélatine fixant le bore, ne lessive pas car elle est complexée par les tanins, et du fait de leur présence, le pseudo-gel qu'elle forme est rendu plus résistant à l'eau.

On pourrait donc avoir, dans le bois, un système assez inextricable de complexations et de liaisons diverses, permettant finalement une bonne rétention du bore dans le bois (figure 48).

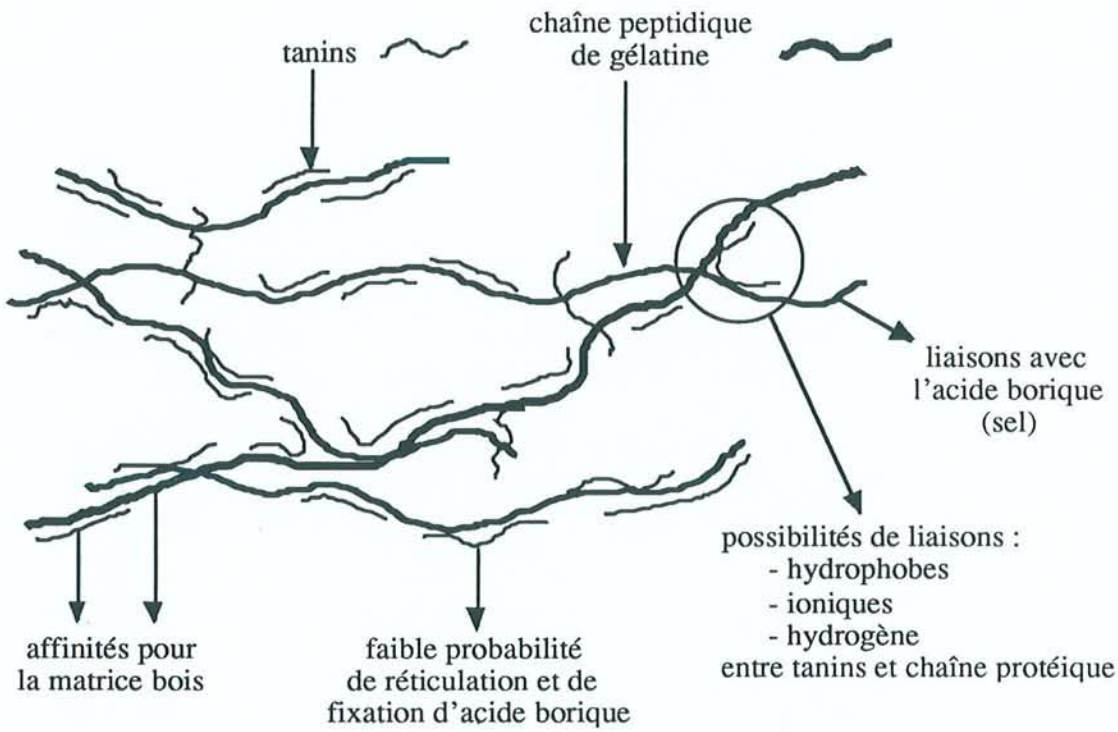


Figure 48. Schéma des hypothétiques types de liaisons ayant lieu dans le bois imprégné par une solution aqueuse du mélange acide borique-gélatine-tanins condensés.

Dans le cas de l'association borate d'ovalbumine-tanins, la rétention en bore est légèrement moins importante que lorsque les tanins sont absents (lot de bois n°3). Au bout d'un jour de lessivage, la rétention du bore au niveau de l'ovalbumine coagulée est représentée par :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 59{,}81 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}299} \qquad \text{(Equation 9)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}992$.

Les tanins condensés ne lessivent pas à partir du bois traité. En plus de leurs affinités pour les constituants des parois cellulaires, ils sont certainement essentiellement liés au niveau de l'ovalbumine. Yamaguchi et al. (1991) ont montré que les tanins condensés précipitent des protéines du type "albumine" (utilisation de la sérum albumine bovine dans le cadre de leurs essais).

Etant donné le nombre de liaisons que peuvent former les tanins avec l'ovalbumine, on peut imaginer que l'encombrement créé par ces tanins "perturbe" la formation du coagulum d'ovalbumine, d'où une rétention du bore un peu moins efficace que dans le cas du mélange acide borique-ovalbumine.

Les résultats obtenus avec le système borate de gélatine-tanins sont encourageants en termes de diversification possible des borates de protéine en tant que produits de préservation du bois peu toxiques. Il suffit d'avoir : de l'acide borique, une protéine et un agent permettant la gélification, la coagulation ou la complexation protéique. Ici, l'addition de tanins au borate de gélatine semble suffisante à renforcer la consistance d'un pseudo-gel et à le rendre plus résistant à l'eau, d'où une meilleure rétention du bore sur la protéine.

Toutefois, comparée au borate d'ovalbumine seul, cette formulation comprend trois produits et les tanins donnent une coloration brune au bois, ce qui n'est pas toujours souhaité par le consommateur. Cette association, bien qu'efficace, s'avère moins intéressante d'un point de vue technique et économique.

2.3.3. Essais biologiques accélérés

Les quantités probables d'acide borique restant dans les éprouvettes de pin à l'issue de délavage, sont indiquées dans le tableau 10. Les résultats des tests biologiques sont donnés dans le tableau 11.

On notera une virulence modérée de *Poria placenta* pour les témoins. Toutes les éprouvettes témoins placées avec les éprouvettes traitées étaient entièrement recouvertes de mycélium après 4 semaines d'incubation. Les éprouvettes lessivées et traitées avec le mélange acide borique-tanins, et acide borique-gélatine-tanins, à la fin de l'essai biologique sont présentées sur les figures 49 et 50, respectivement.

Tableau 10. Quantité probable d'acide borique (exprimée en BAE : Boric Acid Equivalent) restant dans le bois après lessivage.

Traitement	Acide borique restant dans le bois (kg BAE/m^3)
acide borique-tanins	1,9
borate de gélatine-tanins	5,5
borate d'ovalbumine-tanins	7,9

Tableau 11. Pertes de masse moyennes corrigées des éprouvettes traitées avec des borates de protéine additionnés de tanins condensés. Les éprouvettes ont été lessivées avant les essais fongiques.

Traitement	*Coniophora puteana*	*Gloeophyllum trabeum*	*Poria placenta*
témoins	15,7 ± 1,1	14,4 ± 0,8	6,7 ± 2,1
acide borique-tanins	3,5 ± 2,1	4,7 ± 1,7	6,7 ± 0,5
borate de gélatine-tanins	1,8 ± 0,7	2,8 ± 0,4	1,8 ± 1,05
borate d'ovalbumine-tanins	1,2 ± 0,9	2,7 ± 0,2	2,1 ± 0,7

Tout comme pour le lot précédent, les résultats biologiques sont fonction de la quantité de bore restant dans le bois.

Les éprouvettes traitées avec l'association acide borique-tanins condensés présentent des pertes de masse relativement importantes lorsqu'elles sont soumises à l'attaque de *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum*. Dans le cas de l'essai avec *Poria placenta*, cette perte de masse est identique à celle des témoins. La colonisation fongique des éprouvettes (figure 49) est corrélée à une dégradation certaine du bois par les champignons ligivores. La quantité de bore restant dans le bois (0,3% BAE p/p) est dans les limites du seuil fongitoxique (0,2%-0,9% BAE) pour la protection du bois face aux Basidiomycètes (Drysdale, 1994).

Les éprouvettes traitées avec les systèmes borate de protéine-tanins sont plutôt bien préservées des attaques fongiques. Le bois traité avec le mélange borate de gélatine-tanins présente des quantités résiduelles de bore suffisantes pour être peu dégradé par les Basidiomycètes. Le bois traité par le mélange borate d'ovalbumine-tanins protégé des attaques fongiques, présente cependant des pertes de masse beaucoup plus conséquentes que le bois préservé par le borate d'ovalbumine seul (tableaux 9 et 11), la quantité d'acide borique restant dans le bois étant plus réduite (réduction d'environ 2/3) (tableaux 8 et 10).



Figure 49. Aspect des éprouvettes traitées avec le mélange acide borique-tanins et lessivées, à la fin des 4 semaines d'exposition aux Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri.



Figure 50. Aspect des éprouvettes traitées avec le mélange borate de gélatine-tanins et lessivées, à la fin des 4 semaines d'exposition aux champignons Basidiomycètes cultivés en boîtes de Pétri. Les éprouvettes témoins (1 par boîte) sont entièrement recouvertes de mycélium.

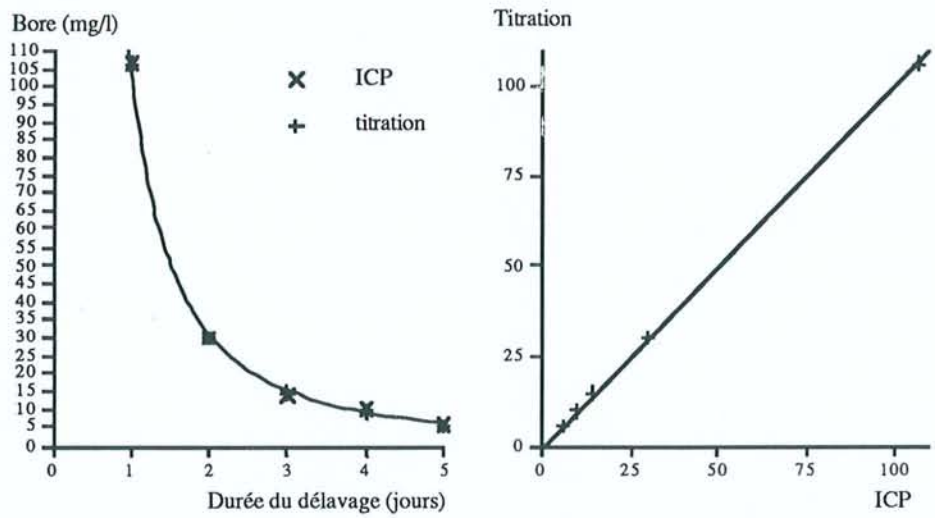
2.3.4. Comparaison des méthodes de dosage du bore

De manière un peu annexe, nous avons comparé le dosage du bore par titration au D(-) mannitol, et le dosage avec une torche à plasma (Inductively Coupled Plasma : ICP). Nous avons utilisé les eaux de lessivage des éprouvettes traitées par le système borate d'ovalbumine-tanins. Pour chaque prélèvement, les mesures sont repétées deux fois. Une moyenne est faite à partir des eaux de lessivage de 12 éprouvettes.

Les résultats sont présentés en figure 51. Les deux courbes de dosage sont superposées (figure 51a) lorsque l'on représente la quantité de bore dosée dans les eaux de délavage en fonction du temps. Si l'on trace la courbe de ces deux méthodes de dosage l'une en fonction de l'autre (figure 51b), on obtient une droite d'équation : $y = 1{,}004\ x - 0{,}331$; coefficient de corrélation $r^2 = 1{,}000$.

Les deux méthodes sont extrêmement bien corrélées. Il faut souligner que l'on ne descend pas en deçà de 5 ppm, seuil de détection du bore par titration (Peylo, 1993). Nous avons utilisé les eaux de lessivage du système borate d'ovalbumine-tanins pour réaliser ces comparaisons. Il s'agit d'un système qui retient bien le bore, et la quantité de bore récupérée dans les eaux de délavage est relativement faible. C'est avec les systèmes borate d'ovalbumine que les erreurs sont potentiellement les plus à craindre. Or, en comparant les méthodes, on constate que la titration est une méthode fiable pour le dosage de ces eaux de lessivage.

Si l'on réalise des lots de bois avec des rétentions en bore plus faibles et/ou des lessivages plus poussés, le dosage par ICP sera préférable, du fait de sa plus grande sensibilité.



(a) (b)

Figure 51. Comparaison des dosages du bore par titration et par ICP. (a) : Bore dosé par titration et par ICP dans les eaux de lessivage des éprouvettes traitées par le système borate d'ovalbumine-tanins. (b) : Corrélation entre les méthodes de dosage du bore.

2.4. Lot de bois n°5 : sel entre acide borique et ovalbumine

2.4.1. Traitement du bois

La masse volumique des éprouvettes utilisées est de 474 ± 47 kg/m^3. Nous avons traité le bois par le sel "pré-formé" entre acide borique et ovalbumine (Thévenon et al., 1997). Cependant, à titre comparatif, nous rappelerons les résultats obtenus avec le mélange acide borique-ovalbumine (lot de bois n°3).

Les rétentions de produits entrant dans les formulations sont donnés dans la figure 52.

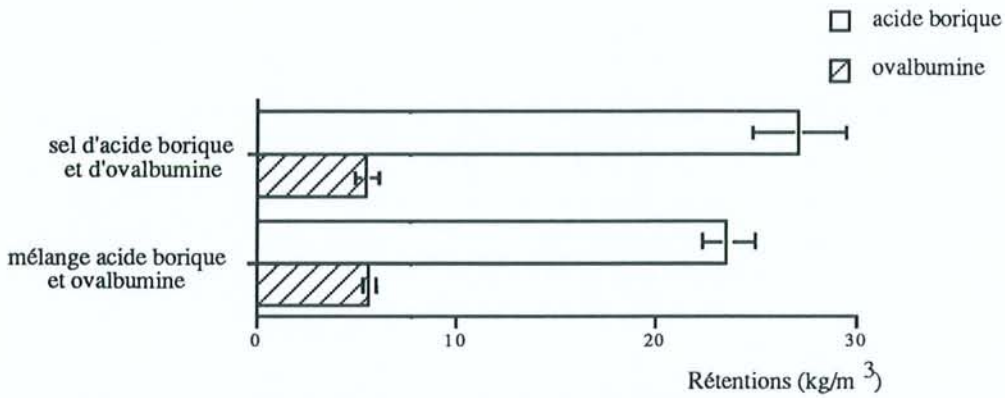


Figure 52. Rétentions d'acide borique et d'ovalbumine lors du traitement d'éprouvettes de pin sylvestre par le sel ou le simple mélange acide borique-ovalbumine.

Les rétentions en acide borique et en ovalbumine ne sont pas significativement différentes pour les deux systèmes étudiés. Il faut toutefois signaler que dans le cas du sel "pré-formé", les rétentions des deux produits seront tout à fait indissociables, étant donné qu'ils ont déjà réagit ensemble.

2.4.2. Délavage du bois traité

Le comportement du bore lors du délavage du bois traité par l'acide borique et l'ovalbumine en mélange ou sous forme de sel "pré-formé", est présenté en figure 53. Chaque valeur est la moyenne de 12 éprouvettes. Les écarts-types (non représentés car trop petits) sont toujours inférieurs à 2,5%.

La présence de protéines n'a pas été mise en évidence dans les eaux de lessivage.

L'analyse des eaux de lessivage d'éprouvettes témoins n'ont pas révélé la présence de bore, ni de protéines.

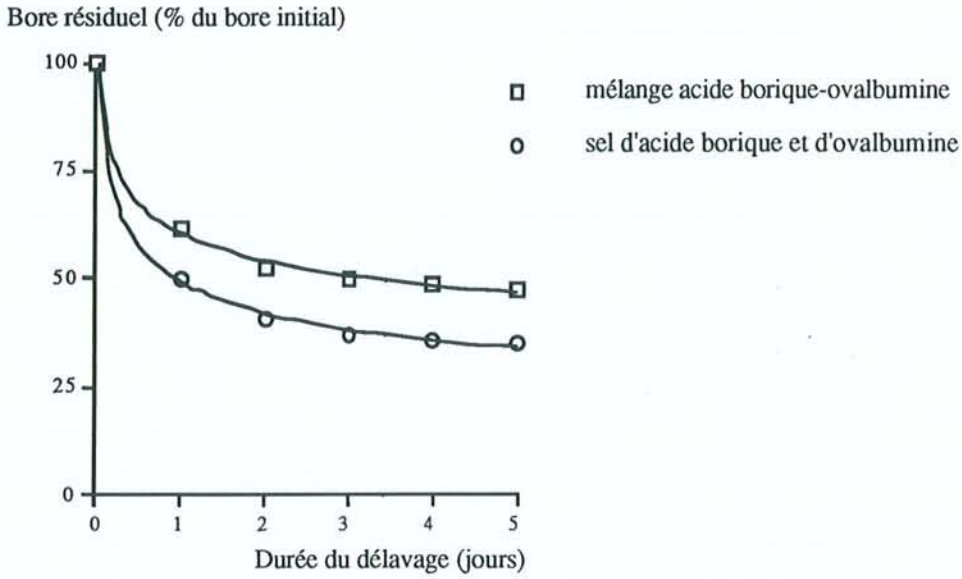


Figure 53. Bore résiduel (en % du bore initial) dans des éprouvettes traitées par l'acide borique et l'ovalbumine en mélange, ou sous forme de sel préformé. Le bore a été dosé par titration.

Dans les deux cas, le lessivage du bore est diminué (le bore seul étant totalement lessivé après 2 jours de délavage du bois traité) (figure 41). Cependant, les courbes de lessivage du bore à partir du bois traité indiquent que le mélange acide borique-ovalbumine est plus performant que le sel (véritable borate d'ovalbumine, au sens propre du terme).

Après 24 h de délavage, le lessivage du bore au cours du temps tend vers un équilibre qui peut être représenté par la relation suivante, pour le mélange acide borique-ovalbumine :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 62{,}30 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}198} \qquad \text{(Equation 2)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}996$;

et pour le sel "pré-formé" d'acide borique et d'ovalbumine :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 48{,}90 \text{ temps de délavage (en jours)}^{-0{,}237} \qquad \text{(Equation 10)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}971$.

D'après ces résultats, il semble que le passage par une étape de pré-formation du sel ne soit pas nécessaire lorsque les formulations à base d'acide borique et d'ovalbumine sont utilisées.

L'acide borique et l'ovalbumine mis en solution aqueuse, sont facilement imprégnés dans le bois. La protéine fixe l'acide borique, et, sous l'action de la chaleur, sa thermo-dénaturation engendre la formation d'un coagulum capable de retenir le bore au cours du délavage du bois traité. Ce système permet de retarder très largement le lessivage du bore, et d'assurer une protection à long terme du matériau face aux attaques biologiques.

Il n'est donc pas nécessaire de passer par une étape préliminaire de formation du sel, ajoutant des contraintes techniques et économiques.

2.4.3. Essais biologiques accélérés

Les quantités résiduelles probables d'acide borique dans les éprouvettes de pin à l'issue de délavage, sont indiquées dans le tableau 12. Les résultats des tests biologiques sont donnés dans le tableau 13.

Tableau 12. Quantité probable d'acide borique restant dans le bois traité par l'acide borique et l'ovalbumine en mélange, ou sous forme de sel préformé, après délavage.

Traitement	Acide borique restant dans le bois (kg BAE/m^3)
acide borique-ovalbumine en mélange	11,11
sel d' acide borique et d'ovalbumine	9,3

Tableau 13. Pertes de masse moyennes corrigées des éprouvettes traitées avec de l'acide borique et de l'ovalbumine en mélange ou sous forme de sel préformé. Les éprouvettes ont été lessivées avant les essais fongiques.

Traitement	*Coniophora puteana*	*Gloeophyllum trabeum*	*Poria placenta*
témoins	11,0 ± 1,2	14,0 ± 1,3	13,0 ± 0,9
acide borique-ovalbumine en mélange	0,9 ± 0,07	0,8 ± 0,1	0,1 ± 0,18
sel d' acide borique et d'ovalbumine	1,9 ± 0,4	2,2 ± 0,7	2,2 ± 0,3

Pour les deux types d'associations, les éprouvettes de bois sont bien protégées par l'acide borique résiduel après délavage. Lorsque le bois est traité avec le sel préformé, les pertes de masse des échantillons sont supérieures aux pertes de masse observées pour le bois traité par le simple mélange ovalbumine-acide borique. Il est vrai qu'il reste dans les éprouvettes moins de biocide, mais la quantité de bore est tout de même nettement supérieure au seuil fongitoxique (Drysdale, 1994). On peut supposer que cette différence provient d'une différence de distribution : le sel pré-formé est peut être distribué de manière moins homogène dans le bois traité.

2.5. Lot de bois n°6 : association entre acide borique, ovalbumine et hexaméthylènediamine (HMDA)

Nous avons traité ce lot de bois afin de savoir si l'ajout d'un agent dénaturant chimique permet d'améliorer la rétention du bore dans le cas du borate d'ovalbumine.

2.5.1. Traitement du bois

La masse volumique des éprouvettes utilisées est de 474 ± 47 kg/m^3. Les rétentions des divers produits entrant dans la formulation sont données dans le tableau 14.

Les rétentions en acide borique et en ovalbumine sont très similaires aux rétentions obtenues pour les lots de bois précédents.

Tableau 14. Rétentions des produits pour des éprouvettes de pin sylvestre traitées avec une solution borate d'ovalbumine-HMDA.

Produit	Rétentions en kg/m^3
ovalbumine	5,3 ± 0,6
hexaméthylènediamine HMDA	3,7 ± 0,4
acide borique	26,3 ± 3,3

2.5.2. Délavage du bois traité

Les résultats du lessivage du bore à partir d'éprouvettes traitées sont donnés en figure 54. Les valeurs sont les moyennes de 12 éprouvettes, et les écarts-types sont toujours inférieurs à 2,2%. Le dosage des protéines n'a pas été effectué pour ce lot d'éprouvettes.

Lors d'essais préliminaires, nous avons ajouté de l'HMDA à une solution aqueuse de borate d'ovalbumine. A 1%, et sous l'action du chauffage, l'amine provoquait une prise en masse de toute la solution dans le bécher, conduisant à la formation d'un gel clair et plutôt translucide. Aussi, nous avons gardé ces proportions pour traiter le bois. Mais, dans le bois, cette association ne permet pas d'éviter la déplétion du bore lors du lessivage. Après 1 jour de lessivage, la rétention du bore au cours du temps de délavage se traduit par la relation :

$$\text{Bore retenu (\%)} = 31{,}19 \ \text{temps de délavage (en jours)}^{-0{,}782} \qquad \text{(Equation 11)}$$

coefficient de corrélation $r^2 = 0{,}996$.

L'ajout de l'HMDA [NH_2-$(CH_2)_6$-NH_2] contribue à augmenter le pH de la solution (ici, pH 11,2) et agit comme un agent dénaturant sur l'ovalbumine. Si son action est similaire à celle de l'urée, alors elle affecte les liaisons ioniques, de Van der Waals et hydrogène, et réduit en général les interactions hydrophobes (Volkin & Klibanov, 1990 ; Koning & Visser, 1991). Il est aussi probable la protéine soit partiellement hydrolysée, par l'action combinée du pH fortement basique et de la chaleur (Volkin & Klibanov, 1990).

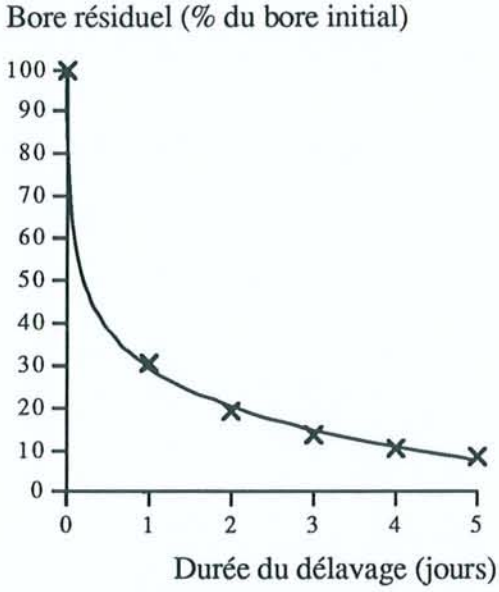


Figure 54. Bore résiduel (en % du bore initial) après lessivage d'éprouvettes de pin sylvestre traitées avec le système borate d'ovalbumine-HMDA. Le bore a été titré par torche à plasma.

Etant donnée la teneur en bore résiduel des éprouvettes de bois (2,8 kg BAE/m^3), les essais biologiques n'ont pas été réalisés sur ce lot. Cette teneur en bore est normalement suffisante pour observer une bonne protection du matériau.

2.6. Conclusion

Ces essais préliminaires nous ont aidé à faire des choix pour les expérimentations suivantes, mais ont aussi révélé certaines limites dans nos méthodes.

Il est facile de préparer des solutions aqueuses de borates de protéine pour traiter le bois. L'imprégnation du bois sec est aisément réalisée à l'aide d'un cycle vide/pression classique. Les

rétentions en biocide ne sont pas affectées par la présence des protéines, d'où des ajustements possibles pour satisfaire toute spécification.

Les protéines sont capables de fixer le bore sous forme d'acide borique, via les groupements aminés de leurs liaisons peptidiques essentiellement. La rétention du bore dans le bois (lors d'un délavage), dépend ensuite : (1) de la capacité de gélification ou de coagulation des protéines en fonction des conditions expérimentales (ratio acide borique/protéine, pH, température,...), (2) de la stabilité du gel ou coagulum, et (3) du comportement du gel ou coagulum vis à vis de l'eau.

Du point de vue des formulations, nous avons choisi d'utiliser l'acide borique à 5%. Cette quantité nous a permis de bien voir les comportements des différentes associations lors du délavage du bois traité. Nous aurions pu continuer le délavage plus longtemps, jusqu'à ce qu'il ne reste plus du tout de bore dans le bois. Cependant, lorsque le bore est utilisé seul, il est totalement lessivé au bout de 2 jours. Aussi, un délavage de 5 jours nous est apparu comme un bon compromis pour un test accéléré. A l'issue de ce lessivage accéléré, la quantité de bore dans les éprouvettes était la plupart du temps au dessus des seuils fongitoxiques, d'où des résultats biologiques peu tranchés.

Le fait d'introduire des protéines dans le bois ne semble pas problématique tant que la quantité de bore qu'elle retient est supérieure ou égale aux seuils de toxicité des organismes lignivores.

Nous n'utiliserons plus les essais accélérés en boîtes de Pétri avec les champignons Basidiomycètes dans la suite de notre travail. Cependant, nous pouvons faire quelques remarques à propos de ces derniers afin d'apporter d'éventuelles améliorations.

Lorsque nous avons utilisé les associations acide borique-tanins, toutes les éprouvettes étaient largement dégradées par les champignons, ce qui n'a pas révélé les limites de ces tests. D'après les résultats biologiques obtenus avec les associations du type borates de protéine, nous pouvons faire quelques suggestions. Les témoins de virulence, qui nous servent de base comparative (Wazny, 1995) présentent des pertes de masse entre 10 et 15%, dans la plupart des cas, ce qui est plus faible que les recommandations des essais normalisés. Pour ces témoins, ainsi que pour toutes les autres éprouvettes, on pourrait modifier le milieu de culture et utiliser un milieu eau-agar (et non malt-agar) afin d'avoir une dégradation plus proche des conditions réelles (Hirmke et al., 1998). Il serait aussi certainement bénéfique d'utiliser une grille plastifiée entre le mycélium et le bois, au moins pour *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum*, sensibles à la trop grande teneur en eau du bois, *Poria placenta* étant indifférent (Kleist et al., 1998). Cette mesure permettrait aussi de prévenir la diffusion des produits de préservation dans

la gélose. Il est aussi possible d'envisager des tests avec un plus grand nombre d'éprouvettes par traitement et par champignon, et un temps d'exposition plus long.

Nous avons déjà comparé les performances des formulations envisagées, aussi, nous avons décidé de retenir le borate d'ovalbumine pour tous les essais ultérieurs. Nous réaliserons des essais normalisés avec des champignons Basidiomycètes et des termites, et quelques essais accélérés en champ.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Chapitre III

Efficacité du borate d'ovalbumine en préservation du bois

Essais normalisés avec des Basidiomycètes et des termites

Essais en champ

D'après les essais préliminaires, le borate d'ovalbumine semble être une formulation capable de retenir le bore afin d'assurer une protection à long terme du bois. Mais, nous n'avons réalisé que des tests biologiques accélérés avec des Basidiomycètes et ne pouvons en aucune manière nous baser sur ces derniers pour affirmer que cette formulation est véritablement efficace.

Nous avons donc utilisé le borate d'ovalbumine pour réaliser des essais normalisés avec des Basidiomycètes et des termites. Cette formulation a aussi été mise à l'épreuve dans des tests en champ, en contact avec le sol.

1. Essais normalisés avec des champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé

Ces essais ont été basés sur la norme EN 350-1 (1994), avec des éprouvettes traitées et lessivées ou non (cf Matériels et Méthodes, figure 20, § II, 3.). Le délavage s'est fait selon la norme EN 84 (1979) (cf Matériels et Méthodes, figure 21, § II., 3., 3.2.) Afin d'essayer de mieux cerner le seuil d'efficacité de la formulation, l'acide borique a été utilisé à 3 concentrations différentes (5%, 3%, 1%).

Les champignons Basidiomycètes sont les micro-organismes lignivores caractéristiques de la classe de risques 3 (bois non couvert, sans contact avec le sol). Tous les produits de préservation (préventifs) n'ayant que le bore comme principe actif, sont recommandés pour des classes de risques 2 au maximum (bois couvert, au dessus du sol), ou éventuellement pour une classe de risques 3 avec l'ajout d'une finition (Schoeman & Lloyd, 1998). Nous espérons donc que ces essais seront suffisamment satisfaisants pour que l'on puisse envisager l'emploi du borate d'ovalbumine dans une classe de risques 3 au minimum.

1.1. Traitement du bois

Les éprouvettes de bois utilisées sont de l'aubier de pin sylvestre, de dimensions 50mm x 25mm x 15mm. Toutes les éprouvettes des essais normalisés (EN 350-1 et EN 117) sont issues du même lot de bois.

La masse volumique moyenne des échantillons et la rétention des produits de préservation sont données dans le tableau 15.

Tableau 15. Rétentions obtenues pour des éprouvettes de pin sylvestre traitées avec des borates d'ovalbumine.

Traitement	Rétentions		
	ovalbumine (kg/m³)	acide borique (kg/m³)	% BAE (p/p)
acide borique 5% - ovalbumine 1%	6,9 ± 0,6	35,8 ± 2,6	6,7
acide borique 3% - ovalbumine 1%	6,9 ± 0,9	20,7 ± 2,8	3,9
acide borique 1% - ovalbumine 1%	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6	1,3
Masse volumique des éprouvettes 534 ± 41,6 kg/m³			

1.2. Essais biologiques

A l'issue de 16 semaines d'exposition aux champignons Basidiomycètes, on évalue la perte de masse corrigée des éprouvettes traitées et témoins (10 éprouvettes/traitement/champignon). Les pertes de masse relatives aux éprouvettes non lessivées et lessivées sont données dans les tableaux 16 et 17 respectivement.

Les résultats des essais biologiques sont donnés en fonction des directives de Van Acker et al. (1998). On ne donnera pas la valeur moyenne des pertes de masse, et la classe de durabilité du bois sera déterminée directement par les pertes de masse des échantillons.

En effet, dans la norme EN 350-1, on détermine la classe de durabilité du bois en calculant la valeur x selon :

$$x = \frac{\text{perte de masse moyenne corrigée des éprouvettes traitées}}{\text{perte de masse moyenne des éprouvettes de référence}}$$

Cette valeur de x est très dépendante de la perte de masse enregistrée pour les éprouvettes témoins, et donc un nombre identique devrait être utilisé à chaque test. Même dans ces conditions, les échantillons de référence sont facilement à l'origine de disparités importantes dans les résultats obtenus. Ces auteurs prescrivent une méthode plus simple et plus fiable pour établir la durabilité du bois face aux Basidiomycètes : utiliser les éprouvettes de références comme témoins de virulence, et calculer la classe de durabilité directement en fonction de la perte de masse des éprouvettes traitées (pas d'utilisation de la valeur de x). De plus, l'utilisation de la valeur médiane sera préférrée à celle de la valeur moyenne pour les pertes de masse. Statistiquement, la médiane est le nombre répartissant les termes d'une série numérique, rangée par ordre de grandeur, en deux groupes de même fréquence. La valeur médiane est un outil permettant une meilleure évaluation de la durabilité du bois, et réduit l'hétérogénéité des résultats d'un même test entre plusieurs instituts.

Tableau 16. Valeurs médianes des pertes de masse d'éprouvettes de pin sylvestre traitées, non délavées, et classes de durabilité correspondant aux éprouvettes traitées.

Organisme lignivore	Traitement					
	acide borique 1% ovalbumine 1%		acide borique 3% ovalbumine 1%		acide borique 5% ovalbumine 1%	
	témoin	traité	témoin	traité	témoin	traité
Coniophora puteana	48,69 durable, classe 2	8,57	42,49 durable, classe 2	6,57	30,42 très durable, classe 1	2,03
Gloeophyllum trabeum	39,95 moyen. durable, classe 3	13,05	20,40 très durable, classe 1	4,06	32,01 très durable, classe 1	2,22
Poria placenta	37,13 moyen. durable, classe 3	12,69	24,85 très durable, classe 1	4,96	31,40 très durable, classe 1	3,13
Coriolus versicolor					29,0 très durable, classe 1	2,3
Pycnoporus sanguineus					13,4 très durable, classe 1	2,8
Lentinus squarrosulus					26,9 très durable, classe 1	2,9
Antrodia sp.					62,3 très durable, classe 1	2,0

Tableau 17. Valeurs médianes des pertes de masse d'éprouvettes de pin sylvestre traitées et délavées, et classes de durabilité correspondant aux éprouvettes traitées.

Organisme lignivore	Traitement					
	acide borique 1% ovalbumine 1%		acide borique 3% ovalbumine 1%		acide borique 5% ovalbumine 1%	
	témoin	traité	témoin	traité	témoin	traité
Coniophora puteana	62,82 non durable, classe 5	65,63	64,28 moyen. durable, classe 3	13,56	54,04 durable, classe 2	5,64
Gloeophyllum trabeum	37,17 peu durable, classe 4	25,50	42,01 durable, classe 2	6,41	35,23 très durable, classe 1	4,74
Poria placenta	23,03 peu durable, classe 4	28,69	34,04 moyen. durable, classe 3	11,48	41,78 durable, classe 2	6,56

Avant de commenter les résultats obtenus, il nous semble intéressant de préciser la distinction entre classe de durabilité et classe de risques.

Selon ses propriétés intrinsèques et/ou selon le traitement qui lui est appliqué, le bois sera plus ou moins dégradé lorsqu'il sera soumis à l'attaque d'organismes lignivores. Moins il sera dégradé, et plus il sera considéré comme durable. A l'issue des essais biologiques, on affectera le bois dans une classe de durabilité selon le barème donné dans le tableau 18 (barème valide pour nos essais). Pour chaque type de test biologique pratiqué sur du bois, la classe de durabilité du bois sera évaluée différemment (EN 350-1, 1994).

Tableau 18. Classe de durabilité du bois exposé aux champignons Basidiomycètes lignivores cultivés sur milieu gélosé (d'après Van Acker et al., 1998).

Classe de durabilité	Description	Perte de masse (PM) en %
1	très durable	$PM \leq 5$
2	durable	$5 < PM \leq 10$
3	moyennement durable	$10 < PM \leq 15$
4	légèrement durable	$15 < PM \leq 30$
5	non durable	$PM > 30$

Selon que le bois est plus ou moins durable (= résistant) face aux attaques biologiques, il pourra être placé dans des situations où les risques d'attaques biologiques sont plus ou moins élevés (= classes de risques biologiques). Ces classes de risques biologiques sont définies d'après la norme EN 335-1 (1992) (cf Introduction, § I, 3.).

Dans tous les essais pratiqués, les éprouvettes témoins d'aubier de pin sylvestre se révèlent être non durables, ou peu durables dans quelques cas.

Le bois traité au borate d'ovalbumine et non délavé, s'avère durable face aux attaques de champignons Basidiomycètes. Il a tendance à être plutôt moyennement durable lorsque la concentration en acide borique de la formulation est seulement de 1%. Ce résultat est assez inattendu car une rétention supérieure à 0,4% BAE (p/p) est en général considérée comme suffisante pour prévenir de la dégradation de ces micro-organismes (Drysdale, 1994). Toutefois, il est parfois nécessaire d'atteindre 0,9% BAE (p/p) pour ne plus observer de perte de masse au niveau d'éprouvettes de pin soumises à l'action de *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum* (Drysdale, 1994).

Les résultats fournis par les éprouvettes lessivées sont tout à fait intéressants. Lorsque l'acide borique est à 1% dans la formulation, la quantité de biocide après lessivage n'est plus à même de protéger le bois, ce qui n'est pas surprenant si l'on considère les résultats des éprouvettes non lessivées pour le même traitement. Les éprouvettes soumises aux dégradations de *Coniophora puteana* et de *Poria placenta* présentent des pertes de masse plus importantes que les témoins. S'il n'y a plus de bore dans le bois, par contre l'ovalbumine y est certainement restée. Elle pourrait agir comme un facteur attractif pour les micro-organismes car elle représente une source d'azote assimilable, la teneur en azote dans le bois étant naturellement très faible (Levy & Dickinson, 1981). Il faudra donc être très vigilant quant à la quantité de bore à intégrer dans les formulations.

Pour les deux autres formulations, plus la concentration en bore est élevée avant le délavage, et plus le bois est durable. Le borate d'ovalbumine contenant de l'acide borique à 5% protège le bois de façon efficace contre ces 3 champignons Basidiomycètes, parmi lesquels *Coniophora puteana* et *Poria placenta* sont extrêmement représentatifs des dégradations causées aux résineux (Van Acker et al., 1998).

Peylo & Willeitner (1995a) ont montré que pour des éprouvettes de pin de dimensions 50mm x 25mm x 15mm, délavées par simple trempage (50 ml d'eau/éprouvette/jour), la déplétion du bore est totale au bout de 8 jours pour des concentrations initiales allant jusqu'à 10% BAE (p/p). Nos formulations, en particulier le mélange acide borique 5%-ovalbumine 1%, améliorent significativement la rétention du bore dans le bois traité, d'autant plus que notre mode de lessivage est plus draconien.

Nous avons voulu suivre les courbes de lessivage du bore au cours du temps lors de la réalisation de la norme EN 84. Les échantillons préparés pour les essais biologiques ont été délavés collectivement, étant donné leur nombre. Nous avons aussi lessivé individuellement 5 éprouvettes par traitement. Indépendamment du traitement, nos analyses indiquent qu'il ne reste pas de bore dans le bois après 14 jours de lessivage, selon cette méthode normalisée. Ces résultats sont en totale contradiction avec les résultats biologiques, exception faite de la formulation contenant de l'acide borique à 1%. Il semblerait que cette méthode ne provoque pas les mêmes effets dans le cas où plusieurs éprouvettes sont délavées ensemble. De plus, la norme EN 84 n'apparaît pas comme une méthode adaptée aux produits de préservation à base de bore (Schoeman & Lloyd, 1998). Elle est particulièrement drastique, et ne reflète pas le véritable taux de lessivage du bore (Baines & Davis, 1998). Une méthode de délavage par trempage ou par aspersion du bois (Orsler & Holland, 1993), plus "proche de la réalité", permettrait d'affiner les concentrations d'acide borique à intégrer dans la formulation du borate d'ovalbumine.

Ainsi, l'emploi du borate d'ovalbumine en préservation du bois ne s'avérerait pas être une utopie. Les résultats des essais normalisés avec des champignons Basidiomycètes cultivés

sur milieu gélosé indiquent fortement que le borate d'albumine pourrait protéger efficacement un bois destiné à une classe de risque 3. Aussi, afin de vérifier cette hypothèse, nous aurions pu mettre en place des tests en extérieur au dessus du sol ("L-joint test"). Mais nous avons préféré diversifier nos essais en testant nos formulations avec des termites (méthodes de laboratoire et de champ) et en faisant des tests en champ en contact avec le sol, pour pouvoir comparer les résultats de ces tests dont la sévérité est différente (De Groot, 1994).

2. Essais normalisés avec des termites

L'échantillonnage, le traitement du bois et les rétentions des divers produits de préservation sont identiques à ceux des essais normalisés contre les champignons Basidiomycètes selon la norme EN 350-1 (tableau 15).

Ces essais normalisés avec des termites ont été réalisés selon la norme EN 117 (1981). Après 8 semaines d'exposition aux insectes, un examen visuel permet d'affecter une cotation à chaque éprouvette, selon le barème : cotation 0 aucune attaque ;
cotation 1 tentative d'attaque ;
cotation 2 attaque légère ;
cotation 3 attaque moyenne ;
cotation 4 attaque forte à destruction totale.
Les résultats sont donnés dans le tableau 19, où les cotations moyennes et la classe de durabilité du bois traité (estimée selon la norme EN 350-1) sont indiquées. Des éprouvettes témoins présentent toutes une cotation 4 à l'issue de l'essai.

Dans tous les cas, les éprouvettes traitées n'ayant pas subi de lessivage sont résistantes à l'attaque des termites. Si le bois est protégé des termites, il sera sans conteste aussi protégé contre les autres insectes nidificateurs et xylophages (Potter, 1997).

Par contre, après délavage, toutes les éprouvettes sont sensibles à la dégradation causée par les temites. On note toutefois une légère amélioration au niveau des cotations pour les éprouvettes imprégnées du mélange acide borique 5%-ovalbumine 1%. Malgré cela, le bois reste toujours affecté à la même classe de durabilité (sensible).

Grace (1997) rapporte, dans une large revue consacrée à l'utilisation des borates en protection du bois contre les termites, qu'une concentration comprise entre 0,3% et 0,6% BAE (p/p) est nécessaire à la protection du matériau contre la dégradation due au genre *Reticulitermes*. Schoeman & Lloyd (1998) indiquent aussi qu'une rétention de 5,8 kg BAE/m^3

est suffisante pour protéger le pin contre cette espèce de termites. Dans le cas d'éprouvettes traitées et non délavées, les rétentions en BAE sont toujours nettement supérieures à ce seuil, d'où un bois considéré comme durable.

Par contre, le fait de pratiquer un lessivage sévère selon la norme EN 84 entraîne des déplétions en biocide telles que l'on passe alors en deçà du seuil de toxicité. Pour le bois traité avec le borate d'ovalbumine contenant l'acide borique à 5%, on peut avancer l'hypothèse qu'il ne reste pas moins de 0,6% BAE (p/p) dans le bois car : (1) selon la norme EN 117, la cotation moyenne est 3 (avec une seule cotation 2), (2) selon la norme EN 350-1, le bois est durable face aux Basidiomycètes.

Une concentration de 0,96% à 1,7% BAE (p/p) suffit, en général, à protéger le bois des attaques de termites du genre *Heterotermes* (Grace, 1997). Par ailleurs, le pin contenant 6 kg BAE/m^3 est préservé des dégradations de *Heterotermes indicola* (Schoeman & Lloyd, 1998), ce qui explique les résultats obtenus lors de nos essais.

Tableau 19. Cotations moyennes d'éprouvettes traitées par des borates d'ovalbumine, lessivées ou non, à l'issue de la réalisation de la norme EN 117.

	Examen visuel des éprouvettes			
	cotation minimale	cotation moyenne	cotation maximale	classe de durabilité
	termites : *Reticulitermes santonensis* (5 éprouvettes/essai)			
acide borique 1% - ovalbumine 1%				
sans délavage	0	0,4	1	durable
délavage	4	4	4	sensible
acide borique 3% - ovalbumine 1%				
sans délavage	0	0,2	1	durable
délavage	4	4	4	sensible
acide borique 5% - ovalbumine 1%				
sans délavage	0	0	0	durable
délavage	2	3	4	sensible
	termites : *Heterotermes indicola* (10 éprouvettes/essai)			
acide borique 5% - ovalbumine 1%				
sans délavage	0	0,5	1	durable

3. Essais en champ avec des termites

3.1. Traitement du bois

La masse volumique des éprouvettes et les rétentions des divers produits de préservation sont données dans le tableau 20.

Les rétentions des produits de préservation ne sont pas affectées par le changement d'essence, le hêtre étant très facilement imprégnable, bien que plus dense que le pin. L'acide borique en solution est capable d'imprégner même des essences réputées réfractaires. Il était donc prévisible que sa rétention reste équivalente dans le bois. L'ovalbumine semble se comporter de manière constante, d'un point de vue de sa rétention, lorsque l'on passe d'un résineux à un feuillu, malgré les changements anatomiques et de densité du bois.

Tableau 20. Rétentions obtenues pour des éprouvettes de pin et de hêtre traitées au borate d'ovalbumine.

	Masse volumique (kg/m^3)	Rétentions		
		ovalbumine (kg/m^3)	acide borique (kg/m^3)	% BAE (p/p)
Pin sylvestre	542 ± 41	$4,3 \pm 0,5$	$21,8 \pm 2,3$	4,06
Hêtre	591 ± 58	$5,0 \pm 0,4$	$24,8 \pm 2,7$	4,20

3.2. Analyse des eaux de lessivage

La moitié des éprouvettes traitées ont été lessivées avant d'être placées dans un site d'expérimentation peuplé de diverses colonies de termites. Le lessivage du bore est représenté sur la figure 55. Chaque valeur est la moyenne de 7 éprouvettes pour le pin et de 10 éprouvettes pour le hêtre. Dans les deux cas, les écarts-types sont très réduits et toujours inférieurs à 2,7.

Les analyses pratiquées n'ont pas révélé la présence de protéines dans les eaux récupérées.

Les eaux de délavage d'éprouvettes témoins ne contiennent ni bore, ni protéines.

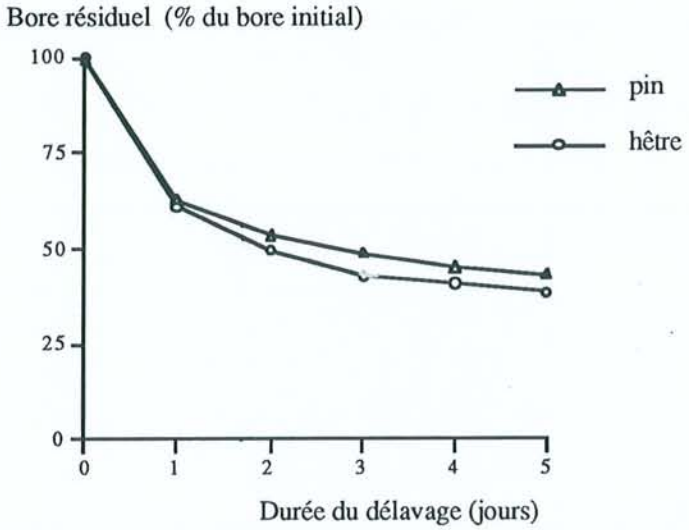


Figure 55. Bore résiduel (en % du bore initial) dans des éprouvettes de pin et de hêtre traitées au borate d'albumine, à l'issue d'un délavage. Le bore a été dosé par torche à plasma.

Le lessivage du bore à partir de bois traité au borate d'ovalbumine semble indépendant de l'essence de bois utilisée pour les tests. Dans les 2 cas, les résultats sont très similaires, et (pour le pin en particulier), tout à fait comparables à ceux obtenus avec les éprouvettes de pin sylvestre de dimensions 50mm x 5mm x 15mm (essais accélérés contre les Basidiomycètes en boîtes de Pétri, lot de bois n°3). Pour ce lot de bois, comme pour le pin traité au borate d'ovalbumine (lot de bois n°3), le bore retenu dans le bois tend vers un équilibre, après 24 h de lessivage du bois traité. Ce phénomène peut être représenté par des relations très similaires :

- pour les échantillons de pin sylvestre (50mm x 5mm x 15mm)

Bore retenu (%) = 62,30 temps de délavage (en jours)$^{-0,198}$ (Equation 2)

coefficient de corrélation $r^2 = 0,996$;

- pour les échantillons de pin sylvestre (100mm x 10mm x 10mm)

Bore retenu (%) = 62,38 temps de délavage (en jours)$^{-0,233}$ (Equation 12)

coefficient de corrélation $r^2 = 0,999$;

- pour les échantillons de hêtre (100mm x 10mm x 10mm)

Bore retenu (%) = 60,33 temps de délavage (en jours)$^{-0,295}$ (Equation 13)

coefficient de corrélation $r^2 = 0,993$.

Les quelques différences peuvent être dues aux faits suivants :

- les éprouvettes de dimensions 50mm x 5mm x 15mm sont placées globalement dans 67 fois leur volume d'eau. Le rapport de la surface dans le plan transversal à la surface totale de

l'éprouvette est de 7% ("end-grain surface") (plus ce rapport est important et plus la diffusion longitudinale est favorisée), et le ratio surface/volume est égal à 0,57 ;

- les échantillons de dimensions 100mm x 10mm x 10mm, sont délavés dans 250 fois leur volume d'eau au total. Le rapport de la surface dans le plan transversal à la surface totale de l'éprouvette est de 4,8%, et le ratio surface/volume est égal à 0,42.

D'après ces indications, il semble que le lessivage du bore à partir d'un bois traité ait un comportement peu variable en fonction de la taille de l'éprouvette (dans cette gamme de dimensions, en tous cas). Il apparaît fort probable que le lessivage du bore à partir de pièces de bois de gros volume soit réduit par rapport aux valeurs trouvées dans ces essais. En effet, pour les pièces de bois volumineuses (utilisées en structure notamment), le ratio surface/volume est beaucoup plus réduit que dans les éprouvettes utilisées pour les essais biologiques accélérés (où ce ratio est volontairement augmenté).

3.3. Tests accélérés en champ avec des termites

Les éprouvettes sont laissées 9 mois sur un site infesté de plusieurs colonies de termites, où *Coptotermes formosanus* est l'espèce la plus représentée. A l'issue du test, les éprouvettes sont récupérées et soumises à un examen visuel. Une cotation est affectée à chaque échantillon selon le barème :

cotation 0	pas d'attaque ;
cotation 1	destruction de 1 à 10% de l'éprouvette ;
cotation 2	destruction de 11 à 30% de l'éprouvette ;
cotation 3	destruction de 31 à 50% de l'éprouvette ;
cotation 4	destruction de 51 à 80% de l'éprouvette ;
cotation 5	destruction de 81 à 100% de l'éprouvette.

La perte de masse est aussi estimée pour chaque éprouvette. Les résultats sont donnés dans le tableau 21. Nous avons calculé des moyennes à partir des cotations, mais, la méthode n'étant pas normalisée, nous avons aussi indiqué les valeurs relatives à chaque éprouvette.

Les éprouvettes témoins de pin sylvestre et de hêtre (10 échantillons/essence) ont été totalement détruites lors de ce test (100% de pertes de masse).

Tableau 21. Cotations et pertes de masse d'éprouvettes traitées au borate d'ovalbumine, à l'issue d'un test accéléré en champ (9 mois), avec des termites.

Traitement : acide borique 5% - ovalbumine 1%							
Pin sylvestre				Hêtre			
sans délavage		délavage		sans délavage		délavage	
cotation	perte de masse %	cotation	perte de masse %	cotation	perte de masse %	cotation	perte de masse %
1	12,6	5	100	5	87,6	1	11,9
2	22,8	1	10,0	1	13,6	1	12,8
1	3,6	1	9,7	1	24,3	5	100
0	6,5	5	80,2	1	19,5	5	100
1	6,1	1	9,9	1	24,2	1	15,4
1	6,5	1	9,7	1	17,1	1	11,1
1	7,0	4	68,9	1	17,1	5	90,4
				1	18,5	3	20,4
				0	12,6	5	100
				1	16,3	1	10,9
Moyenne							
1	9,4	2,6	42,1	1,3	24,4	2,8	44,7

Comparer ces résultats en champ aux résultats obtenus en laboratoire est assez révélateur, même si les termites en présence ne sont pas toutes d'un seul et unique genre. Il faut rappeler que les échantillons placés sur le site sont en contact avec le sol, et sont soumis à un délavage plus ou moins constant pendant 9 mois (comprenant la saison pluvieuse).

Les résultats des tests en champ confirment le fait qu'un bois traité au borate d'ovalbumine (contenant de l'acide borique à 5%) et non délavé est bien protégé contre les attaques des termites. Lorsque le bois a été lessivé, les résultats indiquent qu'il est moyennement durable, plutôt que véritablement sensible (comme montré par les tests en laboratoire). De nombreuses séries de tests ont montré que des concentrations allant de 0,43% à 1,18% BAE (p/p), et, de 1,24% à 1,34% BAE (p/p) étaient suffisantes pour prévenir de l'attaque de *Coptotermes formosanus*, en laboratoire et en champ, respectivement (Grace, 1997). Or, à l'issue du délavage, il reste 1,6% BAE (p/p) dans le hêtre et 1,7% BAE (p/p) dans le pin. Ces concentrations résiduelles en bore peuvent expliquer les valeurs des cotations.

Dans certains cas, alors que la cotation est faible, la perte de masse qui y est corrélée est importante : il est alors vraisemblable que la perte de masse soit essentiellement due à des dégradations fongiques. Il n'est pas rare de voir ces deux types de dégradations associées. En

effet, de nombreuses espèces de termites ingèrent le bois, lequel, après un passage très rapide dans le tube digestif, est excrété sous forme de mylosphères. L'accumulation de ces mylosphères constitue une meule, sur laquelle des champignons lignivores se développent. Ces champignons servent ensuite de nourriture aux insectes à divers stades de leur développement (Grassé, 1985). Ainsi, termites et champignons lignivores se cotoient très souvent, et leurs attaques peuvent être combinées.

Les résultats obtenus lors d'essais biologiques avec des termites sont très dépendants du type de test appliqué, et malgré de très nombreuses études en laboratoire et en champ, les résultats restent toujours controversés (Drysdale, 1994). En laboratoire, les essais sont souvent tels que les termites n'ont pas le choix de leur source nutritionnelle : il s'agit uniquement du bois traité. C'est le cas pour la norme EN 117. Zabel & Morrell (1992) soulignent que ces tests en laboratoire sont éloignés de la réalité et s'interrogent sur leur validité.

En champ, les sources trophiques à disposition des termites sont plus diversifiées. Ainsi, Grace (1997) rapporte que des échantillons de Douglas traités avec des borates se sont avérés très résistants à l'attaque de termites lors d'essais en champ. Lorsque le bois est accessible à plusieurs colonies d'insectes, chaque colonie ne génère que peu de dégradation sur ce bois. Après 40 semaines d'essai, il restait dans le bois environ 1,92% BAE (p/p), la dégradation due aux termites était particulièrement faible et la perte de masse des échantillons égale à 3,1%.

Les modes d'action des borates vis à vis des termites ne sont pas encore totalement élucidés. Le bore contribue d'une part à réduire le nombre de protozoaires symbiotiques contenus dans l'appareil digestif des insectes, mais il possède aussi une action toxique au niveau cellulaire (Grace, 1997). Le bore n'a pas d'effet répulsif vis à vis des termites, et il en résulte que les termites doivent ingérer un peu de bois traité au bore avant de mourir. Il en va de même pour les formulations sur base aqueuse, comme le CCA par exemple. Avant de constater une mortalité significative au niveau d'une colonie, les termites devront consommer une certaine quantité de bois traité, et la mortalité ne sera observée qu'après un certain temps du fait du mode d'action du bore (Tsunoda et al., 1998). Bien que le degré de destruction soit plus important avec un bois traité au bore qu'avec un bois traité au CCA (Grace, 1997), cette dégradation reste bien souvent d'ordre esthétique et est sans danger pour les structures (Lloyd, 1998).

La fonction traditionnelle des borates pour la protection contre les termites est de le protéger pour une très courte période de temps (pendant un transport, par exemple) ou d'apporter un contrôle supplémentaire au bois placé en situation, au dessus du sol (Potter, 1997). Il ne paraît donc pas déraisonnable d'envisager l'utilisation du borate d'ovalbumine pour

ce type d'emploi, d'autant plus que les résultats obtenus avec les champignons Basidiomycètes suggèrent qu'il pourrait être utilisé en classe de risques 3.

4. Essais en champ en contact avec le sol

4.1. Essais accélérés

Lorsque nous avons réalisé les essais accélérés en boîtes de Pétri avec des Basidiomycètes, le borate d'ovalbumine à 5% d'acide borique conduisait à des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus avec le traitement au CCA. Cette similarité est à considérer dans le cadre des conditions expérimentales de ce test. Cependant, nous nous sommes interrogés sur la capacité du borate d'ovalbumine à protéger le bois en extérieur et en contact avec le sol.

Ces essais en champ sont généralement très longs, mais sont nécessaires à l'evaluation de la véritable efficacité des formulations. Les essais en laboratoire sont destinés à évaluer des seuils de toxicité. Ils sont pratiqués dans un environnement extrêmement bien défini et statique au cours du temps d'essai. Or, le bois préservé est destiné à être mis en oeuvre dans un environnement dynamique où de nombreux facteurs interviennent, de manière souvent imbriquée (Morris & Rae, 1995 ; De Groot & Evans, 1998). Ces derniers sont : les facteurs abiotiques inhérents au site ; la durabilité naturelle du bois ; les interactions bois-site ; la taille des échantillons ; les interactions produit de préservation-site ; l'efficacité du produit de préservation ; les interactions bois-produit de préservation ; le lessivage du produit de préservation en fonction du temps.

Nous avons choisi de réaliser des essais de champ, en contact avec le sol, de manière accélérée, afin de savoir s'il était opportun d'en réaliser d'autres sur une période de temps plus longue. Pour observer des résultats assez rapidement, les éprouvettes de bois sont de petites dimensions et les concentrations respectives de chaque produit sont réduites. Nous avons réalisé ces essais de manière indépendante, sans nous conformer à la norme EN 252 (1989). Par ailleurs, tous les paramètres intervenant dans ce type d'essai n'ont pas été étudiés. Nous nous sommes restreints à l'évaluation du pH du sol (Wang et al., 1998), et aux données climatologiques pour la période d'essai, les facteurs saisonniers (températures et précipitations combinées) étant très importants (Scheffer, 1971 ; Link & De Groot, 1990 ; Viitanen, 1997).

4.1.1. Traitement du bois et conditions d'essai

Les rétentions des éprouvettes traitées au borate d'ovalbumine sont présentées dans le tableau 22.

Les rétentions en acide borique et en ovalbumine sont très faibles, elles sont notamment inférieures à celles observées lorsque des échantillons de pin sylvestre (50mm x 25mm x 15mm) sont traités par le mélange acide borique 1%-ovalbumine 1%. Cet effet était recherché, afin de voir plus rapidement le comportement de ces éprouvettes en contact avec le sol.

Tableau 22. Rétentions d'éprouvettes de hêtre traitées au borate d'ovalbumine.

Masse volumique	Rétentions		
(kg/m³)	ovalbumine (kg/m³)	acide borique (kg/m³)	% BAE (p/p)
591 ± 58	1,46	5,91	1,0

Après imprégnation et séchage à l'étuve (pour coaguler l'ovalbumine), les éprouvettes ont tout simplement été enfouies sur les 3/4 de leur hauteur dans une pelouse à graminées. Le pH du sol est 5,38 (détermination à l'eau distillée). Les éprouvettes n'ont pas été abritées des intempéries.

Le test a débuté en mars 1996 et s'est terminé en décembre 1996. La figure 56 indique les données météorologiques sur cette période de temps, au niveau du site d'essai (Epinal, 88). Au total, les éprouvettes ont reçu 1162 mm de précipitations pendant la durée du test.

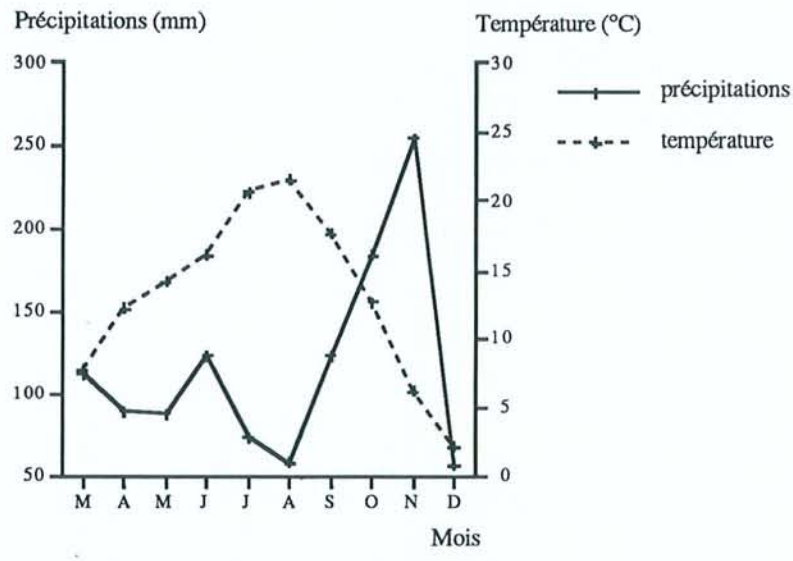


Figure 56. Données climatologiques du site d'Epinal-Dogneville (88) entre mars et décembre 1996 (données Météo France).

4.1.2. Comportement des éprouvettes en contact avec le sol

Les résultats des pertes de masse moyennes des éprouvettes traitées et témoins (10 échantillons/cas), après 10 mois en champ, en contact avec le sol, sont donnés dans le tableau 23.

Tableau 23. Pertes de masse moyennes d'éprouvettes traitées au borate d'albumine et témoins placées en champ, en contact avec le sol, après 10 mois d'exposition.

Pertes de masse (%)	
éprouvettes traitées	éprouvettes témoins
21,5 ± 2,6	30,9 ± 3,9

Les éprouvettes traitées sont moins dégradées que les éprouvettes témoins, leur perte de masse moyenne représentant environ 3/4 de la perte de masse des témoins. Les éprouvettes traitées contenaient peu de bore au départ, et sont délavées du fait des précipitations. Elles sont placées dans un environnement où de très nombreux organismes lignivores sont présents (dont les pourritures molles) et doivent faire face à de nombreuses successions écologiques.

Avant d'émettre une conclusion vis à vis de ces résultats, il faut considérer que le bois traité : contient très peu de borate d'ovalbumine, et est soumis à un délavage important et plus ou moins constant, en extérieur. Il faut donc relativiser les pertes de masse obtenues. Ces pertes de masse correspondraient à ce que l'on pourrait obtenir avec un borate d'ovalbumine (acide borique 5%-ovalbumine 1%), après de nombreuses années en contact avec le sol.

Afin de pouvoir trancher à propos de l'utilisation du borate d'ovalbumine en contact avec le sol, d'autres tests sont nécessaires, avec diverses concentrations de produits, dans différents types de sol, sur des périodes de temps plus longues.

4.2. Essais en champ avec des poteaux

Ces essais ont été réalisés afin de connaître le comportement à long terme de bois traité avec de fortes concentrations de borates d'ovalbumine, et de vérifier que le traitement du bois au borate d'ovalbumine était applicable à des morceaux de bois ronds de type poteaux. Des poteaux de petites dimensions (longueur 1 m, diamètre 12 à 15 cm) ont été traités avec des borates d'ovalbumine contenant 3% ou 5% d'acide borique.

4.2.1. Traitement du bois

Les rétentions des produits de préservation sont données dans le tableau 24.

Les rétentions respectives des produits sont importantes, même si elles sont moins élevées que celles trouvées pour les éprouvettes de petite taille. Le pin noir (*Pinus nigra*) est une essence imprégnable, mais lorsque l'on traite le bois, il n'est pas anhydre (comme les petites éprouvettes), et il contient aubier et duramen.

Tableau 24. Rétentions de borates d'ovalbumine par des poteaux de pin.

Traitement	N° poteau	Humidité %	Rétentions (kg/m³)	
			Ovalbumine	Acide borique
ovalbumine 1% +	1	13	3,17	9,51
acide borique 3%	2	13	3,10	9,29
ovalbumine 1% +	3	11,5	4,42	19,56
acide borique 5%	5	11,5	3,43	15,11
	8	11,5	3,98	17,61
	9	11,5	3,73	18,65

4.2.2. Macro-distribution des produits de préservation

A partir du poteau n°3, nous avons découpé des morceaux de 20 cm de long et avons évalué la macro-distribution du bore et des protéines dans le bois.

Sur des sections de poteaux témoins, les méthodes colorimétriques n'ont mis en évidence ni la présence de bore, ni la présence de protéines.

Au niveau de toutes les sections du poteau n° 3, la méthode au curcumin a révélé la présence de bore dans l'aubier, mais aussi dans le duramen (coloration aussi intense). Les protéines ont été mises en évidence essentiellement dans l'aubier. Elles pénètrent parfois légèrement dans le duramen, grâce à de petits fendillements. La figure 57 montre une coloration type obtenue sur une section de ce poteau.



Figure 57. Photographie de sections de poteau traité au borate d'albumine. La coloration rose met en évidence le bore (section de droite), et la coloration bleue reflète la présence de protéines (section de gauche).

Il n'est pas surprenant de trouver du bore dans toute la section du poteau : c'est un élément qui imprègne très bien le bois avec un système vide/pression classique. La couleur fuschia révèle la présence de bore entre 0,15 et 0,2% BAE (p/p) (Schoeman et al., 1998). D'après la coloration très intense, on peut affirmer que l'on a au moins 0,15% BAE (p/p) dans toute la section du poteau.

On peut estimer que la couleur bleue ne met en évidence que l'ovalbumine, le témoin n'étant pas coloré. Sur gel, lors de l'electrophorèse des protéines, le seuil de détection de cette coloration est de 10µg de protéines (Bollag & Edelstein, 1991). Dans le bois, ce seuil de détection doit être certainement beaucoup plus élevé du fait de la moins grande accessibilité des protéines. Néanmoins, il est visible que l'aubier est imprégné d'ovalbumine de manière uniforme.

Dans l'aubier, ces deux produits ne sont pas du tout dissociés. Ils pourront donc réagir ensemble et protégeront le bois en retardant le lessivage du bore. Par contre, au niveau du duramen, seul le bore est véritablement présent. Il faudra donc être vigilant quand des pièces de bois traité seront découpées, en veillant à la bonne protection des sections.

4.2.3. Comportement des poteaux en champ

Le bois a été placé en champ en décembre 1997. La figure 58 indique les données météorologiques de décembre 1997 à octobre 1998, au niveau du site d'essai (Epinal, 88).

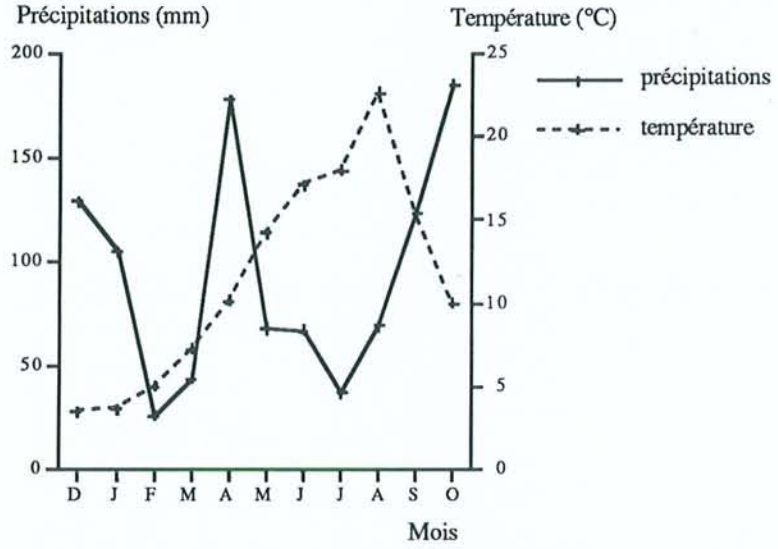


Figure 58. Données climatologiques du site d'Epinal-Dogneville (88) entre décembre 1997 et octobre 1998 (données Météo France).

La partie visible des poteaux est examinée tous les mois et les observations faites sont données dans le tableau 25. En fait, les attaques les plus importantes ont lieu au niveau de la ligne de sol. Il est impossible d'observer se qui s'y passe, et nous devront attendre la rupture de ces pièces de bois afin de connaître l'efficacité dans le temps de ces formulations.

Une étude d'écotoxicité au niveau du sol pourrait aussi être menée en parallèle, afin de mesurer la déplétion du biocide et sont éventuelle action sur les biocénoses du sol.

Tableau 25. Examen visuel des poteaux témoins et traités, en champ (partie examinée au dessus du sol).

Traitement	Déc. 1997-Mars 1998	Avril-Juillet 1998	Août-Octobre 1998
témoins	-	signes de discolorations et moisissures	pas d'autres signes de colonisation
borate d'ovalbumine avec			
acide borique 3%	-	-	-
acide borique 5%	-	-	-

5. Conclusion

Tous ces essais nous ont permis de constater que :

- le borate d'ovalbumine, pour des concentrations en acide borique comprises entre 3% et 5%, s'avère efficace contre les champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé, et ce, même après un lessivage drastique selon la norme EN 84 ;

- ces mêmes produits assurent une protection efficace contre les termites lorsque le bois n'est pas délavé. Lorsque les éprouvettes sont délavées, la résistance aux termites dépend du type de lessivage et du type de test. Le lessivage selon la norme EN 84, suivi du test en laboratoire selon la norme EN 117, donnent des résultats médiocres, même pour les plus fortes concentrations d'acide borique. Par contre, après un lessivage par trempage/diffusion et un test en champ (en contact avec le sol, d'où un délavage supplémentaire), conditions plus proches de la réalité, les éprouvettes traitées s'avèrent beaucoup plus résistantes aux attaques de termites ;

- des pièces de bois volumineuses peuvent être traitées avec des borates d'ovalbumine en utilisant un équipement classique d'imprégnation vide/pression. Il faut un séchoir pour chauffer et sécher le bois traité, et les installations servant à la fixation du CCA pourraient parfaitement servir à la thermo-dénaturation du borate d'ovalbumine ;

- la macro-distribution des produits dans l'aubier de poteaux est uniforme et indissociée. Mais, l'acide borique pénètre à coeur, alors que l'ovalbumine se confine à l'aubier.

Globalement, ces résultats indiquent qu'une utilisation industrielle est parfaitement viable d'un point de vue technologique. Les pièces de bois traitées au borate d'ovalbumine pourraient certainement être destinées à une classe de risques 3 (bois en extérieur, sans contact avec le sol). L'association entre ovalbumine et acide borique permettant de retarder largement le lessivage du bore au cours du temps, on pourrait envisager l'utilisation de cette formulation pour protéger le bois en situation dans une classe de risques 3, sans ajout de finitions. Ceci serait une nette amélioration par rapport aux utilisations actuelles de composés borés en préservation du bois. Afin de confirmer ou d'infirmer ce postulat, de nombreux autres tests devront être pratiqués sur le bois traité, et en particulier des tests à long terme, en champ, sans contact avec le sol ("L-joint test").

En ce qui concerne l'utilisation de ces formulations pour protéger le bois en contact avec le sol, la résistance aux pourritures molles devra être estimée. D'autres tests en champ (court et long termes) permettraient l'evaluation de l'efficacité réelle de ces produits de préservation.

Conclusion

L'objectif de ce travail était de formuler un produit de préservation efficace contre les organismes lignivores et peu toxique pour l'environnement et les organismes non-cibles. Notre choix s'est porté sur l'utilisation du bore sous forme d'acide borique, lequel sera associé, soit à des tanins condensés, soit à des protéines, pouvant constituer un réseau polymère capable de retenir le biocide dans le bois traité.

Les essais mettant en oeuvre les tanins condensés d'écorces de pin (*Pinus radiata*) et l'acide borique ne se sont pas révélés concluants en termes de réduction du lessivage du bore. Les mécanismes de réticulation de ces tanins en présence d'acide borique se font dans des conditions trop extrêmes pour être appliquées au traitement du bois à grande échelle.

Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence une réduction des attaques fongiques sur des éprouvettes traitées avec ces associations tanins condensés-acide borique, et lessivées.

Les essais utilisant l'acide borique en présence de protéines se sont avérés beaucoup plus fructueux et ont été étudiés plus en détail.

Afin de caractériser les réactions entre acide borique et protéines, nous avons étudié le comportement du mélange ovalbumine et acide borique en solution aqueuse. Lorsque l'ovalbumine est thermo-dénaturée en présence d'acide borique, elle forme un coagulum retenant le bore. Ces composés se lient via les groupements aminés des liaisons peptidiques, et forment un sel. Toutefois, selon les proportions respectives de ces deux composés et selon les conditions de pH, on peut constater la formation de véritables complexes, plus ou moins stables. Les agrégats d'ovalbumine obtenus par thermo-dénaturation en présence d'acide borique, sont capables fixer le bore, et de le laisser diffuser de manière très graduelle lors d'un délavage dans l'eau distillée (Thévenon et al., 1998a ; 1998b).

Ces systèmes ont ensuite été testés sur le bois. L'ovalbumine, la farine de soja, les caséines et la gélatine ont été associées à l'acide borique pour le traitement du bois. Toutes les solutions d'imprégnation sont des solutions aqueuses, excluant ainsi tout problème lié aux solvants, sources de pollution (Van Eetvelde, 1998). Ces solutions appelées "borates de protéine" peuvent être imprégnées dans le bois par un cycle classique de vide/pression.

Afin de former un réseau polymère protéique insoluble retenant l'acide borique dans le bois, les protéines doivent être gélifiées ou coagulées. Dans le cas de l'ovalbumine, la farine de soja et les caséines, ceci peut être obtenue par chauffage lors du séchage du bois. Dans le cas de la gélatine, le gel s'obtient lors du séchage à l'air libre du bois traité.

Le délavage du bois traité a montré des comportements divers selon les protéines. Toutes les associations acide borique-protéine améliorent la rétention du bore, par rapport à un bois traité avec l'acide borique seul. L'ovalbumine se révèle être la protéine la plus performante, suivie par la farine de soja, les caséines et la gélatine. Il semble que, plus la protéine est gélifiée

ou coagulée, et, plus le réseau protéique est résistant à l'eau, mieux le bore est retenu (Thévenon et al., 1997 ; 1998a). Ainsi, l'ajout de tanins condensés au mélange acide borique-gélatine permet de rendre la protéine plus résistante l'eau, ce qui se traduit par une diminution du lessivage du bore (Thévenon et al., 1998c).

Les essais biologiques accélérés avec des Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé (en boîtes de Pétri) ont montré qu'un bois traité par l'association acide borique-protéine et lessivé est beaucoup mieux protégé qu'un bois traité à l'acide borique seul et lessivé. Les "borates de protéine" sont tels qu'ils retiennent le bore dans le bois lorsque celui-ci est soumis à de fortes humidités, mais le biocide reste suffisamment mobile pour être efficace lors d'attaques fongiques.

Le borate d'ovalbumine étant le système le plus prometteur, il a été mis en oeuvre, par conséquent, dans des essais normalisés (Thévenon et al., 1998d).

Le borate d'ovalbumine constitué du mélange ovalbumine 1%-acide borique 5% protège efficacement le bois contre les attaques de champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé (pendant 16 semaines) (EN 113, 1980 ; EN 350-1, 1994), même après un lessivage particulièrement sévère (EN 84, 1979). A l'issue de ces essais, le bois est considéré comme durable ou très durable (selon les micro-organismes employés).

Lors des essais avec les termites, le bois traité (ovalbumine 1%-acide borique 5%) et lessivé (EN 84, 1979) , s'avère sensible à l'attaque des termites lors d'essais en laboratoire (EN 117, 1981). Par contre, lorsqu'il est employé dans des conditions plus proches de la réalité (lessivage par trempage/diffusion, et essais en champ avec des termites), le bois se révèle relativement bien protégé de l'attaque des insectes. Il faut souligner que lors du test en champ, le bois est en contact avec le sol pendant 9 mois (comprenant la saison de mousson humide sur la côte est Sud Africaine) ; il est donc délavé dans de larges mesures et attaqué par de nombreuses colonies de termites.

D'après ces résultats, on peut affirmer que l'ovalbumine (thermo-dénaturée) associée à l'acide borique permet de réduire de manière conséquente le lessivage du bore. Il en résultera donc une protection à long terme du matériau traité. La formulation employée est efficace contre les champignons Basidiomycètes. D'après les résultats obtenus avec les termites, cette formulation devrait protéger le bois des autres insectes xylophages et nidificateurs (les termites provoquant les pires dégradations) (Potter, 1997). La protection vis à vis des termites est aussi améliorée par rapport à un bois traité avec l'acide borique seul.

Ces résultats encourageants nous font penser que du bois traité par le borate d'ovalbumine (ovalbumine 1%-acide borique 5%) puisse être utilisé dans une classe de risques 3 (bois en extérieur, sans contact avec le sol). Etant donné les réductions de déplétion du biocide, il n'est pas déraisonnable d'envisager son emploi, sans l'ajout d'une finition sur le bois traité. Une application idéale serait des ouvrages de type menuiseries extérieures, car le borate d'ovalbumine ne change pas (à l'oeil nu) l'aspect du bois. Bien évidemment, d'autres essais

sont indispensables avant d'affirmer définitivement ces prédictions : les tests en champ, sans contact avec le sol seront donc cruciaux.

Nous avons effectué quelques essais avec du bois traité au borate d'ovalbumine, placé en champ, en contact avec le sol. Les rétentions des produits étaient intentionnellement faibles, afin de pratiquer un test accéléré. De ce fait, après 10 mois d'exposition, les pertes de masse (bien qu'inférieures à celles des témoins) étaient relativement élevées. D'autres essais biologiques doivent encore être réalisés avant de savoir si ce produit peut être utilisé pour la protection du bois dans ce type de situation : des essais contre des pourritures molles en laboratoire, des essais accélérés sur sols, des essais en champ en contact avec le sol, avec différentes concentrations de borate d'ovalbumine.

Une des particularités de ce produit est que l'on introduit dans le bois une source azotée. L'azote est faiblement présent dans le bois, et est un facteur limitant à la croissance des micro-organismes.

Dans le cas de l'ovalbumine, tant que la protéine maintient la quantité de bore au dessus du seuil fongitoxique, le bois restera protégé des dégradations biologiques. Cette protection sera plus longue dans le temps que lorsque le bois n'est traité qu'avec l'acide borique (l'ovalbumine réduisant le lessivage du bore). Par contre, dès que l'on se trouvera en deçà du seuil fongitoxique, l'ovalbumine ne sera plus protégée et sa présence contribuera à une dégradation plus rapide du bois (comme schématisé ci-après). Il reste à déterminer le temps de protection effectif du bois par le borate d'ovalbumine, par le biais de tests en champ.

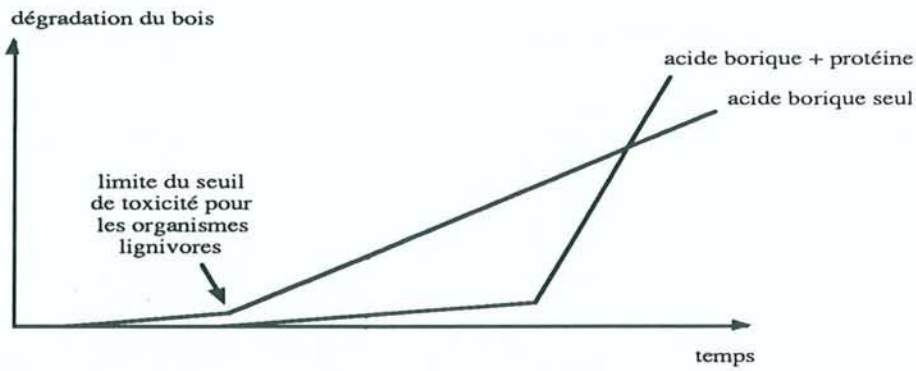


Schéma du comportement hypothétique du bois traité par l'association acide borique-protéine, au cours du temps.

Une alternative au problème soulevé précédemment serait d'utiliser le blanc d'oeuf dans sa totalité, plutôt que l'ovalbumine seule. Etant donné que l'ovalbumine constitue la majeure partie de ce blanc d'oeuf, les mécanismes mis en évidence lors de la fixation et du lessivage du

bore ne devraient pas être affectés, d'autant que les autres constituants sont des protéines (seulement 0,5% de sucres et des lipides sous forme de traces) (Thapon & Bourgeois, 1994). Parmi les autres protéines, certaines ont des propriétés anti-microbiennes. Le lysozyme (3,5% des protéines totales) est un excellent anti-microbien, capable de réaliser la lyse des parois des bactéries Gram+. On peut aussi citer : l'ovotransferrine et l'avidine, anti-microbiennes ; l'ovomucoïde, inhibiteur trypsique, l'ovoinhibiteur et la cystatine, inhibiteurs de protéases ; l'ovomucine, capable d'hémagglutination virale (Thapon & Bourgeois, 1994). Le blanc d'oeuf a d'ailleurs déjà été utilisé comme base potentielle de formulations contre les micro-organismes provoquant des discolorations sur le bois (Abraham et al., 1997). Aussi, il semble donc que le blanc d'oeuf agirait comme un inhibiteur de croissance microbienne, plutôt que comme une source d'azote potentielle.

Dans le cas où l'on utiliserait le blanc d'oeuf entier, les conditions de dénaturation protéiques seraient à étudier dans le détail, afin de trouver des conditions n'inhibant pas les facteurs anti-microbiens.

A signaler aussi, la présence de lectines et d'inhibiteurs de trypsine dans les farines de soja, en vue de la diversification des borates de protéine (Guegen & Certelli, 1994).

Utiliser la totalité du blanc d'oeuf serait aussi un avantage certain en termes de viabilité économique. En effet, si l'on parle du coût du produit, l'acide borique n'est pas le facteur limitant. Le surcoût provient de l'emploi de l'ovalbumine.

Lorsque l'on en achète une tonne, le coût d'un kilogramme d'ovalbumine est 390 francs, alors que celui du blanc d'oeuf (qualité standard contenant toutes les protéines) n'est que de 40 francs. De plus, en achetant par conteneur (20 tonnes), le prix du blanc d'oeuf est habituellement diminué de 20% (données provenant des entreprises IGRECA, Beaucouzé, France et BELOVO, Bastogne, Belgique). Intégrer ce coût dans le prix final du produit ne semble pas trop problématique, car on utilise très peu d'ovalbumine, et les proportions proposées dans notre travail peuvent être affinées lors de la réalisation d'autres essais biologiques.

En termes de viabilité économique et technologique, deux solutions sont à envisager : le traitement du bois sec et le traitement du bois vert.

Nous avons montré à l'échelle pilote que le bois sec peut être traité par des solutions de borate d'ovalbumine, en utilisant un autoclave d'imprégnation et un cycle classique de vide/pression. Cette opération peut donc être réalisée sur n'importe quel site de traitement du bois sans changement de matériel. Les deux produits (acide borique et ovalbumine ou blanc d'oeuf) sont sous forme de poudre (facilité de stockage) et sont mélangés dans l'eau au moment de la préparation de la solution de traitement. Il faut signaler aussi les propriétés anti-corrosives du bore, non négligeables en termes d'entretien du matériel.

Une fois imprégné, le bois doit être séché à haute température afin de dénaturer et de coaguler la protéine. Les équipements servant à la fixation du CCA peuvent tout à fait servir à sécher le bois.

Il serait intéressant de considérer le traitement du bois vert. En effet, quand les grumes sont abattues, transportées et séchées à l'air libre, il est souvent recommandé de les asperger de solutions de borates afin d'éviter le développement de moisissures, champignons de discoloration et même Basidiomycètes (Schoeman et al., 1997). On considére que le séchage à haute température est aussi un moyen de détruire les micro-organismes présents dans le bois vert (Miric & Willeitner, 1984 ; More-Chevalier, 1993 ; Currie, 1997). Les Basidiomycètes se développant sur les ouvrages en bois, en extérieur, au dessus du sol, sont bien souvent déjà présents dans le bois vert (Wilcox & Dietz, 1997). On peut imaginer le processus suivant :

- le bois vert est imprégné par une solution de borate d'ovalbumine (avec utilisation de la pression). Le bore diffuse dans le bois vert, mais il reste à connaître le comportement de l'ovalbumine dans ces conditions (problèmes de pression hydrostatique possibles) ;
- le bois désormais imprégné est ensuite séché, d'où une dénaturation de la protéine et une élimination totale des micro-organismes éventuellement présents dans le bois ;
- le bois obtenu serait donc préservé par le borate d'ovalbumine. Il serait aussi suffisamment sec pour être destiné aux industries de transformation.

En termes d'équipements, les équipements en place sur les sites de traitement du bois sont suffisants : autoclave d'imprégnation, séchoir ou étuve (utilisé pour la fixation du CCA). Il n'y a donc pas d'investissement au niveau du matériel et les coûts de production ne devraient pas être fondamentalement différents. Il faut aussi considérer que ces solutions n'étant que très faiblement toxiques, il n'y a aucun besoin d'aménagements particuliers sur le site de traitement. Traiter de bois au borate d'ovalbumine est sans danger pour les manipulateurs. Le bois mis en service sera préservé à long terme du fait de la réduction du lessivage du bore, sans danger pour l'environnement ou les organismes non cibles. En fin de vie, le bois n'est pas un déchet problématique : il peut être brûlé, réduit en copeaux (pour constituer des litières,...), être employé comme source d'amendement des sols,...

En conclusion, les formulations que nous avons envisagées, basées sur l'association entre l'acide borique et un type de protéines, et en particulier acide borique-ovalbumine, sont des produits de préservation du bois innovants. Ces produits sont très faiblement toxiques, sans danger pour l'environnement et les mammifères. Ces systèmes permettent une protection préventive du bois à long terme car ils réduisent efficacement le lessivage du bore à partir d'un bois traité.

Bibliographie

L. Abraham, C. Breuil, D. E. Bradshaw, P. I. Morris & T. Byrne (1997)
Proteinase as potential targets for new generation anti-sapstain chemicals.
Forest Products Journal, 47(9), 57-62.

R. M. Albuquerque & S. M. Gragg (1995)
Evaluation of impact of CCA-treated wood on the marine environment.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 223-236.

J. Aloisi de Larderel (1993)
Trends in environmental management in industry. Implications for wood preservation activities.
Proceedings *2nd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 486-493.

Y. An, J. N. R. Ruddick & P. I. Morris (1998)
CCA component distribution in heartwood of treated lodgepole pine and white spruce.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30173.

S. E. Anagnost & W. B. Smith (1997)
Hygroscopicity of decayed wood : implications for weight loss determinations.
Wood and Fiber Science, 29(3), 299-305.

S. Andersen & G. Rasmussen (1998)
Mobility and bioavaibility of wood preservation chemicals in soil. Actual field measurements.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 119-126.

K. Archer, D. D. Nicholas & T. P. Schultz (1995)
Screening of wood preservatives : comparison of the soil-block, agar-block and agar-plate tests.
Forest Products Journal, 45(1), 86-89.

E. F. Baines & S. J. Davis (1998)
Environmental assessment of preservative treated wood.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation,* Cannes-Mandelieu, France, 221-245.

M. Balasundaran & R. Gnanaharan (1990)
Laboratory evaluation of preservative treated rubberwood against fungi.
Journal of Tropical Forest Science, 2(4), 303-306.

W. J. Baldwin, E. A. Pasek & P. D. Osborne (1996)
Sediment toxicity study of CCA-C-treated marine piles.
Forest Products Journal, 46(3), 42-50.

W. B. Banks (1990)
Protection of wood products. Some thoughts on the way ahead.
Journal of the Institute of Wood Science, 12(2), 107-110.

R. D. Bardgett, T. W. Speir, D. J. Ross, G. W. Yeates & H. A. Kettles (1994)
Impact of pasture contamination by copper, chromium, and arsenic timber preservatives on soil microbial properties and nematodes.
Biology and Fertility of Soils, 18(1), 71-79.

M. Bariska & A. Pizzi (1986)
The interaction of polyflavonoid tannins with wood cell-walls.
Holzforschung, 40(5), 299-302.

H. M. Barnes & L. H. Williams (1988)
Pressure treatment of a partially seasoned domestic hardwood with a polyborate.
Forest Products Journal , 38(10), 37-38.

H. M. Barnes, T. L. Amburgey, L. H. Williams & J. J. Morrell (1989)
Borates as wood preservatives : the status of research in the United States.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 89-3542.

H. M. Barnes, R. W. Landers Jr & L. H. Williams (1993)
Thermal treatment of southern pine timbers with borates.
Forest Products Journal , 43(3), 31-34.

H. M. Barnes & R. J. Murphy (1995)
Wood preservation : the classics and the new age.
Forest Products Journal , 45(9), 16-26.

G. Basset (1997)
Getting the vapours.
Timber Trades Journal, 2, 16-18.

A. A. W. Beacker, W. H. Schnippenkoetter, G. D. Shelver & U. L. Scherer (1991)
The antimicrobial effect of tannins in wood and their lack of effect on CCA efficacy.
Material und Organismen, 26(4), 269-285.

A. A. W. Beacker (1997)
Communication personnelle.

The Beatles (1965)
Norwegian wood.
Apple, EMI records Ltd.

G. Becker (1966)
Termiten-abschrecken Wirkung von Kiefernholz.
Holz Roh-Werkstoff, 24, 429-432.

M. Bernard (1990)
Cours de chimie minérale.
Bordas, Paris.

G. Bézert, P. Chappe, A. Mourey & B. Loubinoux (1996)
Utilisation de l'arme biologique en préservation du bois.
Proceedings *4ème colloque Sciences et Industries du Bois, ARBOLOR*, Nancy, France, 187-193.

N. Boix (1996)
Traitement anti-termites : prévenir plutôt que guérir.
Revue du bois, 3, 32-33.

D. M. Bollag & S. J. Edelstein (1991)
Protein methods.
Weiss Liss, New York.

M. J. Boonstra, B. F. Tjeerdsma & H. A. C. Groeneveld (1998)
Thermal modification of non-durable wood species. 1 : The PLATO technology : thermal modification of wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-40123,

B. Boullard (1988)
Dictionnaire de botanique.
Editions Marketing, Paris.

S. Brazolin, M. Tomazello & I. H. Schoenlein-Crusius (1998)
Soft-rot in *Tabeluia sp.* wood used in water cooling tower : identification and degradation capacity of the fungi.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10253.

R. J. Brown (1988)
Milk coagulation and protein denaturation.
Dans : *Fundamentals of diary chemistry*, Van Nostrand Reinhold, New York, 583-608.

R. J. Brown & C. A. Ernstrom (1988)
Milk-clotting enzymes and cheese chemistry. Part 1 : Milk-clotting enzymes.
Dans : *Fundamentals of diary chemistry*, Van Nostrand Reinhold, New York, 609-633.

J. Carey (1998)
How best to specify retentions of preservative treatments : kg/m^3 or % (m/m).
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-20151,

D. L. Cassens & E. L. Schmidt (1998)
Use of borate compounds to prevent insect damage to furniture hickory rounds with the bark intact.
Forest Products Journal , 48(3), 36-37.

J. C. Cheftel, J. L. Cuq & D. Lorient (1985)
Protéines alimentaires.
Lavoisier, Paris.

P. Y. S. Chen, M. E. Puettman, L. H. Williams & D. D. Stokke (1997)
Treatment of 8/4 hardwood lumber with borate preservatives.
Forest Products Journal , 47(6), 63-68.

C. L. Christ & H. Harder (1975)
Boron.
Dans : *Handbook of geochemistry*, Springer Verlag, Berlin, 1969-1974.

R. Cockcroft & J. F. Levy (1973)
Bibliography on the use of boron compounds in the preservation of wood.
Journal of the Institute of Wood Science, 6(3), 28-37.

L. J. Cookson, D. K. Scown & K. Mc Carthy (1998)
Boron treatment methods for lyctid susceptible hardwoods growing in Tasmania.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30168.

I. Coupois-Paul (1993)
Contribution à l'étude des associations tanno-protéiques. Application aux composés polyphénoliques du thé (*Camellia sinensis*).
Thèse, Spécialité : Biotechnologies et Industries Alimentaires, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France.

D. Coutrot (1997)
Le bois et ses industries.
Que sais-je?, Presses Universitaires de France, Paris.

S. C. Croan (1994)
Effect of thickened boron in preventing conidial germination of sapwood-inhabiting fungi.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 94-30059.

W. E. Currie (1997)
The environmental advantages of using diffusable preservatives.
Proceedings *2nd International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives and Pesticides*, Forest Product Society, Madison, USA, 38-41.

R. C. De Groot (1994)
Comparison of laboratory and field methods to evaluate durability of preservative-treated shakes.
Wood and Fiber Science, 26(3), 306-314.

R. C. De Groot & J. W. Evans (1998)
Patterns of long-term performances. How well are they predicted from accelerated tests and should their evaluations consider parameters other than averages?
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-20130,

R. C. De Groot & C. C. Felton (1998)
Distribution of borates around point source injections in dry wood members.
Holzforschung, 52(1), 37-45.

T. K. Dhamodaran & R. Gnanaharan (1994)
Commercial scale trial of an economical schedule for boron impregnation treatment of green rubber wood.
Holz Roh- Werkstoff, 52, 323-324.

D. J. Dickinson (1990)
Remedial treatment : *in situ* treatments and treatments of historical structures.
Proceedings *1st International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives*, Forest Products Society, Madison, USA, 87-90.

Directive Européenne 89/677/EEC (1989)
Marketing and Use Restriction. 8th amendment on arsenic.
Bruxelles, Belgique.

Directive Européenne 91/173/EEC (1991)
Marketing and Use Restriction. 9th amendment on pentachlorophenol.
Bruxelles, Belgique.

Directive Européenne 92/C157/05 (1992)
Marketing and Use Restriction. 13th amendment on creosote.
Bruxelles, Belgique.

D. Dirol (1988)
Borate diffusion in wood from rods and liquid product. Application to laminated beams.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP/ 3482.

D. Dirol & J. P. Guder (1989)
Capacité de diffusion de bâtonnets boraciques dans des extrémités de poteaux.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP/ 3518.

D. Dirol & S. Mouras (1996)
Remedial treatments of glulam : diffusion of active ingredients through glue lines from solid wood diffusable preservatives.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 96-30117.

M. Djabourov (1991)
Structural and dynamic properties of gelatin solutions and gels.
Proceedings *Symposium on Protein Interactions, 201st Annual Meeting of the American Chemical Society*, Atlanta, USA, 313-326.

E. Doi, N. Kitabatake, H. Hatta & T. Koseki (1989)
Relationship of SH groups to functionality of ovalbumin.
Dans : *Food proteins*, The American Oil Chemists'Society, Champaing, 252-266.

J. A. Drysdale (1994)
Boron treatment for the preservation of wood. A review of efficacy data for fungi and insects.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 94-30037.

L. Duchez & R. Guyonnet (1998)
Principles and applications of wood retification.
Proceedings *5th World Conference on Timber Engineering*, Montreux, Suisse, 2, 648-653.

R. A. Eaton & M. D. C. Hale (1993)
Wood : decay, pests and protection.
Chapman & Hall, London.

M. Efransjah (1988)
Contribution à l'étude de la préservation du bois : amélioration de l'imprégnabilité de l'épicéa (*Picea sp.*) par un pré-traitement bactérien et caractérisation du comportement du bois par utilisation des ultrasons.
Thèse, Spécialité : Sciences du Bois, Université de Nancy I, France.

G. Elbez (1991)
Adhésifs.
Dans : *Le collage du bois*, Document Centre Technique du Bois et de l'Ameublement, Paris, 19-65.

B. Egelandsdal (1980)
Heat-induced gelling in solutions of ovalbumin.
Journal of Food Science, 45, 570-581,

M. Erlandsson, K. Odden & M. L. Edlund (1992)
Environmental consequences of various materials in utility poles. A life cycle analysis.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP/ 92-3726.

P. Esser & E. Van der Voet (1998)
Proposal for a method aiming at the quantification of the impact of wood extraction in life cycle assessment.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50113.

L. Etiegni, R. L. Mahler, A. G. Campbell & B. Shafi (1991)
Evaluation of wood ash and disposal on agricultural land. II : potential toxic effects on plant growth.
Communication in Soil Science and Plant Analysis, 22(3/4), 257-267.

F. C. Evans (1995)
Harmonisation of technical requirements of treated wood in Europe. What can we learn from the experience in the Nordic countries?
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 275-282.

C. C. Felton & R. C. De Groot (1996)
The recycling potential of preservative-treated wood.
Forest Products Journal , 46(7/8), 37-46.

G. W. Froning (1988)
Nutritional and functional properties of egg proteins.
Dans : *Developments in food proteins*, Elsevier applied science, London, 6, 1-34.

J. S. Gifford, P. N. Mc Farlane, M. C. Judd & S. M. Anderson (1995)
PCP in aquatic environments arising from historic contamination at wood processing and preservation sites.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 210-222.

R. D. Gillard & S. H. Laurie (1988)
Metal-protein interaction.
Dans : *Developments in food proteins*, Elsevier applied science, London, 6, 259-298.

R. J. Gillespie, D. A. Humphreys, N. C. Baird & E. A. Robinson (1986)
Chemistry.
Allyn and Bacon Inc, Boston.

R. Gnanaharan & T. K. Dhamodaran (1993)
A pilot plant investigation of boron treatment of rubber wood : arriving at an economical treatment schedule.
Holz Roh- Werkstoff, 51, 279-282.

J. L. Goldstein & T. Swain (1965)
The inhibition of enzymes by tannins.
Phytochemistry, 4, 185-192.

J. W. Goodrich-Mahoney, P. Murarka, L. J. Holcombe & M. E. Horn (1993)
Pentachlorophenol-treated wood poles and crossarms : toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) results.
Environment International, 19(6), 535-542.

J. K. Grace & R. T. Yamamoto (1992)
Termicidal effects of a glycol borate wood surface treatment.
Forest Products Journal , 42(11/12), 46-48.

J. K. Grace, R. T. Yamamoto & M. Tamashiro (1992)
Resistance of borate-treated Douglas-fir to the Formosan subterranean termites.
Forest Products Journal , 42(2), 61-65.

J. K. Grace & R. T. Yamamoto (1994a)
Repeated exposure of borate-treated Douglas-fir lumber to Formosan subterranean termites in an accelerated field test.
Forest Products Journal , 44(1), 65-67.

J. K. Grace & R. T. Yamamoto (1994b)
Simulation of remedial borate treatments intended to reduce attack on Douglas-fir lumber by the Formosan subterranean termites (Isoptera : Rhinotermitidae).
Journal of Economical Entomology, 87(6), 1547-1554.

J. K. Grace, D. M. Ewart & C. H. M. Tome (1996)
Termite resistance of wood species grown in Hawaii.
Forest Products Journal , 46(10), 57-60.

J. K. Grace (1997)
Review of recent research on the use of borates for termite prevention.
Proceedings *2nd International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives and Pesticides*, Forest Products Society, Madison, USA, 73-78.

J. K. Grace, A. H. H. Wong & C. H. M. Tome (1998)
Termite resistance of Malaysian and exotic woods with plantation potential : laboratory evaluation.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10280.

E. Graf, P. Manser & B. Lanz (1998)
Water-based wood preservatives for curative treatment of insect-infested spruce constructions.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30171.

P. P. Grassé (1985)
Abrégé de zoologie. 1 : Invertébrés.
Masson, Paris.

H. Greaves, C. W. Chin & J. B. Watkins (1985)
Improved PEC preservatives with added biocides.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 3322.

V. Y. Grinberg, T. V. Burova, N. V. Grinberg & A. Y. Mashkevich (1993)
On the effect of the denaturation degree of food proteins on their functional properties.
Dans : *Food proteins : structure and functionality*, VCH Publishers, Weinheim, 40-47.

J. Guegen & P. Certelli (1994)
Proteins of some legume seeds : soybean, pea, fababean and lupin.
Dans : *New and developing sources of food proteins*, Chapman & Hall, London, 145-194.

A. Haizoun (1997)
Le bore en physiologie et les utilisations thérapeutiques de l'acide borique, des borates et de quelques boranes.
Thèse, Spécialité : Pharmacie, Université de Nancy I, France.

J. P. Haluk & C. Roussel (1998)
Durabilité naturelle du Red Cedar et application des biotechnologies végétales dans le domaine de la préservation du bois.
Communication *2èmes Journées Scientifiques Bois-Forêt*, Epinal, France.

W. He, W. J. Simonsen, H. Chen & J. J. Morrell (1997)
Evaluation of the efficacy of selected thermal boron treatments in eliminating pests in freshly peeled Douglas-fir logs.
Forest Products Journal , 47(3), 66-70.

H. Hertel (1995)
Delayed repellency of bait block insecticides.
Material und Organismen, 29(2), 119-132.

T. L. Highley & T. C. Scheffer (1991)
In place treatment for preventing decay in water-front structures.
Material und Organismen, 26(1), 1-11.

W. Hillier, R. J. Murphy, D. J. Dickinson & J. N. Bell (1995)
LCA examination of preservative treated timber products and alternatives. Initial results.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 57-63.

T. Hirata, M. Inoue & Y. Fukui (1993)
Pyrolysis and combustion toxicity of wood treated with CCA.
Wood Science and Technology, 47(1), 27-35.

M. Hirmke, K. Messner, J. Fellner, A. Teischinger & R. Wimmer (1998)
Influence on felling time on the natural durability of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.).
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10250.

W. J. Homan & H. Militz (1995)
Influence of a surface coating on the leachability of boric acid and bifluorides from spruce wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-50050.

A. S. Hughes & M. Connell (1998)
Occupational exposure risk assessment at a commercial treatment plant using copper azole preservative.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 161-171.

Y. L. Hsien & J. M. Regenstein (1992)
Modeling gelation of egg albumen and ovalbumin.
Journal of Food Science, 57(4), 856-861.

R. Jeness (1988)
Composition of milk.
Dans : *Fundamendals of dairy chemistry*, Van Nostrand Reinhold, New York, 1-38.

L. Jin & A. F. Preston (1993)
Depletion of preservatives from treated wood : results from laboratory, fungus cellar and field tests.
Proceedings *2nd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 110-119.

P. Job (1928)
Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution et sur leur stabilité.
Annales de Chimie, 9, 113-199.

J. Kakaras & E. Voulgaridis (1997)
Experimental results on wood impregnation during the last 15 years in Greece.
Proceedings *3rd International Conference on the development of Forestry and Wood Science/Technology*, Belgrade, Yougoslavie, 1, 451-460.

D. P. Kamden, W. Ma, J. Zhang & J. Zyskowski (1998)
Recovery of copper chromium and arsenic from old CCA treated commodities.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50118.

S. M. Kazemi, D. J. Dickinson & R. J. Murphy (1998)
The influence of gaseous oxygen concentration on fungal growth rates, biomass production and wood decay.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10283.

K. M. F. Kazi & P. A. Cooper (1998)
Solvent extraction of CCA-C from out-of-service wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50107.

Y. S. Kim & A. P. Singh (1998)
Degradation features of waterlogged archaelogical compression wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10258.

S. Kirita, K. Tsunoda & M. Takahashi (1994)
Influence of boric acid addition on the biological resistance of wood-inorganic material composites by double diffusion treatment.
Wood Research, 81, 25-27.

N. Kitabatake, A. Shimizu & E. Doi (1988)
Preparation of heat-induced transparent gels from egg white by the control of pH and ionic strength of the medium.
Journal of Food Science, 53(4), 1091-1095.

P. Klein & J. Bauch (1981)
Studies concerning the distribution of inorganic wood preservatives in cell wall layers based on LAMMA.
Analytical Chemistry, 308, 283-286.

G. Kleist, L. M.T & R. D. Peek (1998)
Effects of the specimen position on fungal colonization and wood decay by EN 113 test fungi.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-20136.

A. Koch (1998)
Communication personnelle.

M. M. G. Koning & H. Visser (1991)
Protein interactions : an overview.
Proceedings *Symposium on Protein Interactions, 201st Annual Meeting of the American Chemical Society*, Atlanta, USA, 1-24.

R. Kumar & M. Singh (1984)
Tannins : their adverse role in ruminant nutrition.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32, 447-453.

S. Kumar & J. J. Morrell (1990)
Treatments of western softwoods with boron-amended inorganic preservatives.
Forest Products Journal , 40(3), 25-29.

S. Kumar, S. C. Pant & J. K. Bagga (1991)
Borated copper-chrome-arsenic composition : a new broad spectrum wood preservative.
Journal of the Timber Development Association of India, 37(2), 9-18.

A. Kundzewicz & J. Wazny (1992)
Determination methods of phytotoxic effect of wood preservatives.
Forestry and Wood Science Technology, 43, 115-119.

M. Kuo, D. Adams, D. Myers, D. Curry, H. Heemstra, J. L. Smith & Y. Bian (1998)
Properties of wood/agricultural fiberboard bonded with soybean-based adhesives.
Forest Products Journal , 48(2), 71-75.

T. Künniger & K. Richter (1995)
Life cycle analysis of utility poles. A Swiss case of study.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 71-81.

T. Künniger & K. Richter (1998)
Comparative life cycle assessment of Swiss railroad sleepers.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50117.

G. Labat (1998)
Alternative technologies for wood wastes recycling.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 205-220.

A. K. Lahiry (1995)
Sterilization of Mango wood (*Mangifera indica* L.) without heat.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-30065.

A. K. Lahiry (1998a)
A discussion on causes, effects and remedies of arsenic pollution of groundwaters in Bangladesh.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50102.

A. K. Lahiry (1998b)
Non leachability of arsenic, copper and chromium from 15 years old CCA-C treated southern pine poles used in brackish water as jetty piles in Bangladesh.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50103.

P. E. Laks (1987)
Flavonoid biocides : phytoalexin analogues from condensed tannins.
Phytochemistry, 26(6), 1617-1621.

P. E. Laks & A. McKaig (1988)
Flavonoid biocides : wood preservatives based on condensed tannins.
Holzforschung, 42(5), 209-306.

P. E. Laks (1991)
Wood preservation as tree do it.
Scottish Forestry, 45(4), 275-284.

P. E. Laks, C. G. Park & D. L. Richter (1993)
Anti-sapstain efficacy of borates against *Aureobasidium pullulans*.
Forest Products Journal , 43(1), 33-34.

A. L. Lambuth (1994)
Protein adhesives for wood.
Dans : *Wood adhesives. Chemistry and technology*, Marcel Dekker, New York, 2, 1-29.

R. Larrère & O. Nougarède (1993)
L'homme et la forêt.
Découvertes Gallimard, Gallimard, Paris.

S. T. Lebow & J. J. Morrell (1989)
Penetration of boron in Douglas-fir and western hemlock lumber.
Forest Products Journal , 39(1), 67-70.

J. F. Levy & D. J. Dickinson (1981)
Microbial deterioration : wood.
Dans : *Economic microbiology*, Academic Press, London, 6, 19-60.

Y.-G. Li, G. Tanner & P. Larkin (1996)
The DMACA-HCl protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes.
Journal of Science and Food Agriculture, 70, 89-101.

C. L. Link & R. C. De Groot (1990)
Predicting effectiveness of wood preservatives from small sample field trials.
Wood and Fiber Science, 22(1), 92-108.

X. Liu, P. E. Laks & M. S. Pruner (1994)
A preliminary report on the wood preservative properties of phenylboronic acid.
Forest Products Journal , 44(6), 46-48.

J. D. Lloyd, D. J. Dickinson & R. J. Murphy (1990)
The probable mecanisms of action of boric acid and borates as wood preservatives.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 1450.

D. J. Lloyd (1993)
The mechanisms of action of boron-containing wood preservatives.
Thèse, Spécialité : Biologie, Imperial College of Science, Technology and Medecine, London, UK.

J. D. Lloyd (1998)
Borates and their biological applications.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30178.

U. Lund & A. Fobian (1991)
Pollution of two soils by arsenic, chromium, and copper, Denmark.
Geoderma, 49(1/2), 83-103.

S. Mc Cutcheon, G. M. Smith, J. W. Palfreyman & P. Durrant (1996)
Effects of boron treatments on partially decayed oak and pitch pine heartwood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 96-30106.

M. McDonald, I. Mila & A. Scalbert (1996)
Precipitation of metal ions by plants polyphenols : optimal conditions and origin of precipitation.
Journal of Agricultural and Food Chemistry , 44, 599-606.

A. Mc Neill (1990)
Leaching of pesticides from treated timber. A source of pollution.
Journal of the Institution of Water and Environmental Management, 4(4), 330-334.

M. E. Mankowski & J. J. Morrell (1993)
Resistance of dampwood termites to preservative-treated wood.
Forest Products Journal , 43(9), 58-60.

P. Marchal, P. Vasseur & G. Ozanne (1995)
Environmental impact of PCP and NaPCP in the aquatic and atmospheric compartment. Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 83-95.

P. Marchal & C. Martin (1998)
Environmental behaviour of treated wood in (semi) permanent contact with fresh water. Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 247-262.

A. A. Marra (1992)
Composition and characteristics of adhesives.
Dans : *Technology of wood bonding*, Van Nostrand Reinhold, New York, 66-103.

E. Masson, A. Merlin & A. Pizzi (1996a)
Comparative kinetics of induced radical autocondensation of polyflavonoid tannins. Part I : Modified and non modified tannins.
Journal of Applied Polymer Science, 60, 263-269.

E. Masson, A. Pizzi & A. Merlin (1996b)
Comparative kinetics of the induced radical autocondensation of polyflavonoid tannins. Part II : Flavonoid units effects.
Journal of Applied Polymer Science, 60, 1655-1664.

B. Matthews (1997)
The use of reclaimed timber.
Proceedings *3rd International Conference on the development of Forestry and Wood Science/Technology*, Belgrade, Yougoslavie, 1, 548-554.

N. Meikleham, A. Pizzi & A. Stephanou (1994)
Induced accelerated autocondensation of polyflavonoid tannins for phenolic polycondensates. Part I.
Journal of Applied Polymer Science, 54, 1827-1845.

A. Merlin & A. Pizzi (1996)
An RPE study of the silica-induced autocondensation of polyflavonoid tannins.
Journal of Applied Polymer Science, 59, 945-952.

K. Messner & S. Böhmer (1998)
Evaluation of fungal remediation of creosote treated wood.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 321-331.

T. Mester, R. Sierre-Alvarez & J. D. Field (1998)
Peroxydase and aryl metabolite production by the white rot fungus *Bjerkandera sp.* strain BOS55 during solid state fermentation of lignocellulosic substrate.
Holzforschung, 52(4), 351-358.

H. Militz & W. J. Homan (1994)
Bioassaying combinaisons of wood preservatives and tannins with *Poria placenta* and *Aspergillus niger.*
Holz Roh- Werkstoff, 52, 28-32.

M. Miric & H. Willeitner (1984)
Lethal temperature for some wood destroying fungi with respect to eradication by heat treatment.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 1229.

M. Mitchoff-Puettman & L. H. Williams (1992)
Treatment of log-home logs with thickened boron.
Forest Products Journal , 42(11/12), 30-32.

T. Mitsunaga, I. Abe, M. Kontani, H. Ono & T. Tanaka (1997)
Inhibitory effects of bark pronanthocyanidins on the activities of glucosyltransferases of *Streptococcus sobrinus.*
Journal of Wood Chemistry and Technology, 17(3), 327-340.

S. Molnar (1997)
Performance of preservative-treated wood exposed out of ground contact.
Thèse, Spécialité : Biologie, Imperial College of Science, Technology and Medecine, London, UK.

I. Momohara (1998)
Screening of lignin peroxidase from white-rot fungi.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10274.

F. More-Chevalier (1993)
Wood kiln drying : simple process of material or soft method of preservation ?
Proceedings *2nd International Wood Preservation Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, 215-227.

J. J. Morrell, C. M. Sexton & A. F. Preston (1990)
Effect of moisture content of Douglas-fir heartwood on longitudinal diffusion of boron from fused borate rods.
Forest Products Journal , 40(4), 37-40.

J. J. Morrell, M. A. Newbill & C. M. Sexton (1991)
Basidiomycete colonization of Douglas-fir poles after polyborate treatment.
Forest Products Journal , 41(6), 28-30.

J. J. Morrell & S. T. Lebow (1991)
Borate treatment of seasoned western hemlock and Douglas-fir lumber.
Forest Products Journal , 14(1), 27-29.

J. J. Morrell, C. M. Sexton & K. Archer (1992)
Diffusion of boron from fused borate rods through selected woods.
Forest Products Journal , 42(7), 41-44.

J. J. Morrell, P. G. Forsyth & M. A. Newbill (1994)
Distribution of biocides in Douglas-fir poles 42 months after application of groundline preservative systems.
Forest Products Journal , 44(6), 24-26.

J. J. Morrell & C. M. Freitag (1995)
Effect of wood moisture content on diffusion of boron-based biocides through Douglas-fir and western hemlock lumber.
Forest Products Journal , 45(3), 51-55.

J. J. Morrell & P. F. Schneider (1995)
Performance of boron and fluoride based rods as remedial treatments in Douglas-fir poles.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-30070.

P. I. Morris & S. Rae (1995)
What information can we glean from field testing ?
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-20057.

P. I. Morris, A. Byrne & D. R. Minchin (1996)
Achieving "shell" or "complete" penetration of western hemlock and pacific silver fir with borates by pressure/diffusion treatments.
Forest Products Journal , 46(3), 51-55.

P. I. Morris & A. Byrne (1997)
The effect of DDAC on the penetration of borates into western hemlock.
Forest Products Journal , 47(4), 71-73.

P. I. Morris, A. Byrne, J. P. G. Mackay & S. M. McFarling (1997)
The effect of steaming prior to pressure treatment on the penetration of borates into western hemlock.
Forest Products Journal , 47(3), 62-65.

S. Mouras, G. Labat & G. Deroubaix (1996)
Déchets de bois et adjuvants dans les industries de la transformation du bois : problématique et examen des solutions.
Proceedings *4ème colloque Sciences et Industries du Bois, ARBOLOR*, Nancy, France, 551-558.

J. M. Munson & D. P. Kamden (1998)
Reconstituted particleboards from CCA-treated red pine utility poles.
Forest Products Journal , 48(3), 55-62.

R. J. Murphy, H. M. Barnes & S. M. Gray (1995)
Decay and soil depletion studies with polymer/boron preservative systems.
Forest Products Journal , 45(9), 77-81.

H. C. Nagaveni, H. S. Ananthapadmanabha, G. Vijayalakshmi, M. N. Sharma & K. H. Shankaranarayana (1998)
Protection of rubberwood with modified creosote.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30165.

D. D. Nicholas & R. Cockcroft (1982)
Wood preservation in the USA.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 3215.

A. D. Nisbet, R. H. Saundry, A. J. G. Moir, L. A. Fothergill & J. E. Fothergill (1981)
The complete amino-acid sequence of hen ovalbumin.
European Journal of Biochemistry, 115, 335-345.

T. Nishimura, I. Momohara & M. Ishihara (1998)
Breakdow of cellulose derivatives by cellulolytic enzymes.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10281.

Norme Européenne EN 84 (1979)
Produits de préservation des bois. Epreuve de vieillissement accéléré des bois traités.
Epreuve de délavage.
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

Norme Européenne EN 113 (1980)
Produits de préservation des bois. Détermination du seuil d'efficacité contre les champignons Basidiomycètes lignivores cultivés sur milieu gélosé.
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

Norme Européenne EN 117 (1981)
Produits de préservation des bois. Détermination de l'efficacité contre *Reticulitermes santonensis* de Feytaud (méthode de laboratoire).
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

Norme Européenne EN 252 (1989)
Essai de champ pour déterminer l'efficacité protectrice relative d'un produit de préservation du bois en contact avec le sol.
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

Norme Européenne EN 350-1 (1994)
Durabilité du bois et des matériaux dérivés du bois. Durabilité naturelle du bois massif.
Partie 1 : Guide des principes d'essai et de classification de la durabilité naturelle du bois.
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

Norme Européenne EN 335-1 (1992)
Analyse des risques biologiques. Définition des classes.
Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, Belgique.

S. Ohara, K. Suzuki & T. Ohira (1994)
Condensed tannins from *Acacia mearnsii* and their biological activities.
Mokuzai Gakkaishi, 40(12), 1363-1374.

C. G. Ohlson, A. Andersen, F. G. Evans, S. Karlehagen & K. Nilsson (1995)
Cancer incidence among CCA exposed workers in the wood preserving industry.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 147-149.

R. J. Orsler & G. E. Holland (1993)
Assessment of losses of wood preservatives from treated wood by leaching into the environment.
Proceedings *2nd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 195-214.

G. Ozanne (1995a)
Pentachlorophenol : the non-emotional approach. First draft : a discussion document.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 97-116.

G. Ozanne (1995b)
Non agricultural biocide directive. Practical proposals of implementation in the case where biocides are wood preservatives.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 323-347.

P. Panayotov, H. Roussanov & S. Yankoulova (1997)
Fungus resistance of wood species common in Bulgaria.
Proceedings *3rd International Conference on the development of Forestry and Wood Science/Technology*, Belgrade, Yougoslavie, 2, 164-167.

P. Pascal (1961)
Nouveau traité de chimie minérale, Tome IV.
Masson, Paris.

B. C. Peters & P. J. Allen (1993)
Borate protection of hoop pine (*Araucaria cunninghamii*) sapwood from attack by subterranean termites (*Coptotermes spp.*, Isoptera : Rhinotermitidae).
Australian Forestry, 56(3), 249-256.

A. Peylo (1993)
Borbestimmung im Holz durch Extraktion mit Mannitol.
Holz Roh- Werkstoff, 51, 335-338.

A. Peylo & H. Willeitner (1995a)
The problem of reducing the leachability of boron by water repellents.
Holzforschung, 49(3), 211-216.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

A. Peylo & H. Willeitner (1995b)
Influence of hydrophobic agents on the leachability of boron.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-30064.

A. Peylo & H. Willeitner (1997)
Leaching of boron : more than 3 years field exposure.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 97-30143.

F. Pichelin, C. Kamoun & A. Pizzi (1998)
Hexamine hardener behaviour : effects on wood glueing, tannin and other wood adhesives.
Holz Roh- Werkstoff, à paraître.

A. Pizzi & F. A. Cameron (1986)
Flavonoid tannins. Structural wood components for drought-resistance mechanisms of plants.
Wood Science and Technology, 20(2), 119-124.

A. Pizzi, W. E. Conradie & M. Bariska (1986a)
Polyflavonoid tannins. From a cause of CCA soft-rot failure to the missing link between lignin and microdistribution theories.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 3359.

A. Pizzi, W. E. Conradie & A. Jansen (1986b)
Polyflavonoid tannins. A main cause of soft-rot failure in CCA treated timber.
Wood Science and Technology, 20, 71-81.

A. Pizzi (1993)
A new approach to non-toxic, wide-spectrum, ground-contact wood preservatives. Part II : Accelerated and long term field tests.
Holzforschung, 47(4), 343-348.

A. Pizzi, E. P. Von Leyser, J. Valenzuela & J. G. Clark (1993)
The chemistry and development of pine tannin adhesives for exterior particleboard.
Holzforschung, 47, 168-174.

A. Pizzi (1994)
Advanced wood adhesives technology.
Marcel Dekker, New York.

A. Pizzi & N. Meikleham (1995)
Induced accelerated autocondensation of polyflavonoid tannins for phenolic polycondensates. Part 3.
Journal of Applied Polymer Science , 55, 1265-1269.

A. Pizzi, N. Meikleham & A. Stephanou (1995)
Induced accelerated autocondensation of polyflavonoid tannins for phenolic polycondensates. Part 2.
Journal of Applied Polymer Science , 55, 929-933.

A. Pizzi & A. Beacker (1996)
A new boron fixation mechanism for environment friendly wood preservatives.
Holzforschung, 50(6), 507-510.

D. V. Plackett & D. R. Cronshaw (1989)
Wood surface pretreatments with metal tannates.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 3552.

S. Poole & J. C. Fry (1987)
High-performance protein foaming and gelation systems.
Dans : *Developments in food proteins*, Elsevier applied science, London, 5, 257-298.

J. Poppe & R. Vincent (1982)
La gélatine alimentaire.
Dans : *Protéines animales*, Lavoisier, Paris, 228-255.

M. F. Potter (1992)
What about the borates?
Pest Control, 2, 40-41.

M. F. Potter (1997)
Overview of diffusable preservative use by the U.S. pest control industry.
Proceedings *2nd International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives and Pesticides,* Forest Products Society, Madison, USA, 7-13.

M. A. Powell, T. Deldot & C. Mc Evoy (1998)
The effect of different concentrations of polysaver rods on the survival of selected decay fungi in liquid culture.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30166.

T. L. Presnell & D. D. Nicholas (1990)
Evaluation of combination of low hazard biocides in controlling mold and stain fungi on southern pine.
Forest Products Journal , 40(2), 57-61.

A. F. Preston (1994)
Wood preservative development : have we learnt anything, and where might it take us?
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 94-30054.

E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl & W. Simon (1989)
Tables of spectral data for structure determination of organic compounds, ^{13}C NMR, ^{1}H NMR, IR, MS, UV/Vis.
Springer-Verlag, Berlin.

M. E. Puettman & E. L. Schmidt (1997)
Boron diffusion treatment of aspen lumber stored under various relative humidity.
Forest Products Journal , 47(10), 47-50.

L. J. Putman, P. E. Laks & M. S. Pruner (1989)
Chemical constituents of black locust bark and their biocidal activity.
Holzforschung, 43(4), 219-224.

C. Radtke, W. S. Cook & A. Anderson (1994)
Factors affecting antagonism of the growth of *Phanerochaete chrysosporium* by bacteria isolated from soils.
Applied Microbiology and Biotechnology, 41, 274-280.

J. B. Rainer (1995)
Borates as wood preservatives. An environmental health and safety perspective.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 59-76.

W. Robinson, R. Barlow & G. Rambo (1996)
Borate foam : how deep it goes?
Pest Control Technology, 24(5), 66-68.

J. Romero, P. Vinden & J. Drysdale (1995)
Treatment of wood with boron esters.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-30087.

D. J. Roux, D. Ferreira, H. K. L. Hundt & E. Malan (1975)
Structure, stereochemistry, and reactivity of natural condensed tannins as basis for their extended industrial application.
Applied Polymer Symposium, 28, 335-353.

R. M. Rowell (1991)
Chemical modification of wood
Dans : *Wood and cellulose chemistry*, Marcel Dekker Inc, New York, 15, 703-756.

J. N. R. Ruddick & A. W. Kundzewicz (1992)
The effectiveness of fused borate rods in preventing or eliminating decay in ponderosa pine and Douglas-fir.
Forest Products Journal , 42(9), 42-46.

D. Sabourault & A. M. Bourdeaux (1985)
Biochimie.
Bréal, Paris.

T. Salthammer, H. Klipp & R. D. Peek (1995)
Emissions from the combustion of boron and fluoride containing wood.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 258-263.

J. L. Sandoz (1998)
Le bois : pour un vrai développement durable.
Proceedings *3èmes journées de la construction bois*, Epinal, France, Publication IBOIS 98:04, 103-115.

A. Scalbert, B. Monties & G. Janin (1989)
Tannins in wood : comparison of different estimation methods.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37, 1324-1329.

T. C. Scheffer & E. B. Cowling (1966)
Natural resistance of wood to microbial deterioration.
Annual Review of Phytopathology, 4, 147-170.

T. C. Scheffer (1971)
A climate index for estimating potential for decay in wood structures above ground.
Forest Products Journal , 21(10), 25-31.

M. W. Schoeman, D. J. Dickinson & J. D. Lloyd (1997)
Control of post-harvest deterioration of logs.
Proceedings *2nd International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives and Pesticides*, Forest Products Society, Madison, USA, 73-78.

M. W. Schoeman & J. D. Lloyd (1998)
International standardisation : a hypothetical case study with stand-alone borate wood preservatives.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-20147,

M. W. Schoeman, J. D. Lloyd & M. J. Manning (1998)
Movement of borates in a range of timber species at various moisture contents.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30181.

E. Schoffeniels (1981)
Les cahiers de biochimie.
Maloine, Paris.

T. P. Schultz, W. B. Harms, T. H. Fischer, J. M. McMurtrey & D. D. Nicholas (1995)
Durability of Angiosperm heartwood : the importance of extractives.
Holzforschung, 49(1), 29-34.

P. Segalen (1982)
Caséines et caséinates. Fabrication et utilisation.
Dans : *Protéines animales*, Lavoisier, Paris, 155-171.

A. L. Shigo (1984)
Compartmentalization : a conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves.
Annual Review of Phytopathology, 22, 189-214.

K. Shimada & S. Matsushita (1980)
Thermal coagulation of egg albumin.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 409-412.

A. P. Singh, Y. S. Kim, U. Schmitt & B. S. Dawson (1998a)
Ponding of radiata pine (*Pinus radiata*) . 1 : The effect of Bacteria on wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10265.

A. P. Singh, Y. S. Kim, U. Schmitt & B. S. Dawson (1998b)
Ponding of radiata pine (*Pinus radiata*). 2 : The effect of ponding on coating penetration into wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10249.

K. E. Skog & H. N. Rosen (1997)
United States wood biomass for energy and chemicals possible changes in supply, end uses and environmental impacts.
Forest Products Journal , 47(2), 63-69.

N. Slabbert (1992)
Complexation of condensed tannins with metal ions.
Proceedings *2nd North American Tannin Conference on Plant Polyphenols,* Houghton, Michigan, USA, Plenum Press, 1, 421-436.

D. N. Smith & A. I. Williams (1969)
Wood preservation by the boron diffusion process. The effect of moisture content on diffusion time.
Journal of the Institute of Wood Science, 4, 3-10.

P. K. Smith, R. I. Krohn, G. T. Hermanson, A. K. Mallia, F. H. Gartner, M. D. Provenzano, E. K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson & D.C. Klenk (1985)
Measurement of protein using bicinchoninic acid.
Analytical Biochemistry, 150, 76-85.

G. A. Smook (1989)
Handbook for pulp and paper technologist.
TAPPI & Canadian Pulp and Paper Association, Committees of the Pulp and Paper Industry, Atlanta.

J. Snow, P. Vinden & S. M. Read (1998)
Utilisation of carbohydrates by stain fungi in agar culture.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10248.

T. W. Speir, J. A. August & C. W. Feltham (1992)
Assessment of the feasability of using CCA (copper, chromium and arsenic)-treated and boric acid-treated sawdust as soil amendments. Plant growth and element uptake.
Plant and Soil, 142, 235-248.

U. Srinivasan, T. Ung & P. Cooper (1998)
Susceptibility of CCA treated North American hardwoods to *Chaetomium globosum* decay.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10278.

W. J. Stadelman, V. M. Olson, G. A. Shemweil & S. Pasch (1988)
Egg and poultry meat processing.
Dans : *Food science and technology*, Ellis Horwood Ltd, Chichester, 53-65.

R. V. Subramanian (1981)
The adhesive system.
Dans : *Adhesive bonding of wood and other structural materials*, Forest Products Laboratory, Forest Service, Madison, USA, 137-151.

H. E. Swaisgood (1992)
Chemistry of the caseins.
Dans : *Advanced dairy chemistry*, Elsevier applied science, London, 1, 63-110.

P. Sylvestre (1993)
Soil contaminated by the wood preserving industry.
Industry and Environment, 16(3), 26.

A. G. Tan (1991)
Boron compounds for rubberwood preservation.
Planter's bulletin - Rubber Research Institute of Malaysia, 206, 28-41.

J. L. Thapon (1982)
Blanc d'oeuf et produits dérivés du blanc d'oeuf.
Dans : *Protéines animales*, Lavoisier, Paris, 202-227.

J. L. Thapon & C. M. Bourgeois (1994)
L'oeuf et les ovoproduits.
Lavoisier, Paris.

The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation (1990)
Proceedings *1st International Symposium, The International Research Group on Wood Preservation*, Section 5, IRG Secretariat, Stockholm, Suède.

The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation (1993)
Proceedings *2nd International Symposium, The International Research Group on Wood Preservation*, Section 5, IRG Secretariat, Stockholm, Suède.

The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation (1995)
Proceedings *3rd International Symposium, The International Research Group on Wood Preservation*, Section 5, IRG Secretariat, Stockholm, Suède.

The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation (1998)
Proceedings *4th International Symposium, The International Research Group on Wood Preservation*, Section 5, IRG Secretariat, Stockholm, Suède.

M. F. Thévenon, A. Pizzi & J. P. Haluk (1997)
Non-toxic albumin and soja protein borates as ground-contact wood preservatives.
Holz Roh- Werkstoff, 55, 293-296.

M. F. Thévenon, A. Pizzi & J. P. Haluk (1998a)
Protein borates as non-toxic, long-term, wide-spectrum, ground-contact wood preservatives.
Holzforschung, 52(3), 241-248.

M. F. Thévenon, A. Pizzi & J. P. Haluk (1998b)
Albumin borate : a new non-toxic, wide-spectrum, long-term wood preservative.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-30167,

M. F. Thévenon, A. Pizzi & J. P. Haluk (1998c)
One-step tannin fixation of non-toxic protein borates wood preservatives.
Holz Roh- Werkstoff, 56, 90.

M. F. Thévenon, A. Pizzi & J. P. Haluk (1998d)
Normalised biological tests of protein borates wood preservatives.
Holz Roh- Werkstoff, 56, 162.

B. F. Tjeerdsma, M. Boonstra & H. Militz (1998)
Thermal modification of non-durable wood species. 2 : Improved wood properties of thermally treated wood.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-40124.

M. C. Triboulot, A. Garcet, M. A. Minart & A. Pizzi (1996)
Les colles animales : des colles anciennes à redécouvrir.
Proceedings *4ème colloque Sciences et Industries du bois, ARBOLOR*, Nancy, France, 177-186.

K. Tsunoda, A. Adachi, T. Yoshimura, T. Byrne, P. I. Morris & J. K. Grace (1998)
Resistance of borate-treated lumber to subterranean termites in the field.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10255.

P. Turner & D. Conradie (1995)
The development of new boron-based wood preservative.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 93-0085.

P. Turner & R. J. Murphy (1995)
Treatment of timber products with gaseous borate esters. Part 1 : Factors influencing the treatment process.
Wood Science and Technology, 29, 385-395.

P. Turner & R. J. Murphy (1998)
Treatment of timber products with gaseous borate esters. Part 2 : Process improvement.
Wood Science and Technology, 32, 25-31.

T. Umemura, K. Sai-Kato, A. Takagi, R. Hasegawa & Y. Kurokawa (1996)
Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet.
Fundamental and Applied Toxicology, 30, 285-289.

A. Uzzan (1988)
Vegetable protein products from seeds : technology and uses in food industry.
Dans : *Developments in food proteins*, Elsevier applied science, London, 6, 73-118.

J. Van Acker, M. Stevens, J. Carey, R. Sierra-Alvarez, H. Militz, I. Le Bayon, G. Kleist, & R.P. Peek (1998)
Criteria for Basidiomycete testing and ways of defining natural durability classes.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-20144.

J. Van Doorsselaere, H. Beeckman, M. Van Montagu & W. Boerjan (1998)
Genetic engineering in tree breeding.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10294.

G. Van Eetvelde (1998)
Préservation du bois : responsable vis à vis de l'environnement ?
Le Courrier du Bois, 1er trimestre, 7-8.

G. Van Eetvelde, S. De Geyter, P. Marchal & M. Stevens (1998)
Aquatic toxicity research of structural materials.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50114.

Z. Vassou, A. Satanakis, C. Koutsipoulus & J. Petinarakis (1998)
The rate of losses of creosote from power transmission poles during storage.
Proceedings *4th International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 311-320.

C. B. Vick, R. L. Geimer & J. E. Wood (1996)
Flakeboards from recycled CCA-treated southern pine lumber.
Forest Products Journal , 46(11/12), 89-91.

H. A. Viitanen (1997)
Modelling the time factor in the development of brown rot decay in pine and spruce sapwood. Effect of critical humidity and temperature conditions.
Holzforschung, 51(2), 99-106.

H. Viitanen, L. Paajanen, T. Nikkanen & P. Velling (1998)
Decay resistance of Siberian larch wood against brown rot fungi. Part 2 : The effect of genetic variation.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10287.

D. B. Volkin & A. M. Klibanov (1990)
Minimizing protein inactivation.
Dans : *Protein function : a practical approach*, IRL Press, Oxford, 1-24.

J. H. Wang, D. D. Nicholas, L. S. Sites & D. E. Pettry (1998)
Effect of soil chemistry and physical properties on wood preservatives leaching.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-50111.

J. Wazny (1995)
The proposal for optimization of the agar-block method for wood preservatives fungitoxic evaluation.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 95-20065.

G. Wegener & B. Zimmer (1998)
The ecological benefits of increased timber utilization.
Proceedings *5th World Conference on Timber Engineering*, Montreux, Suisse, 1, 656-663.

G. Weißmann & H. H. Dietrichs (1975)
Die termitizide Wirkung der Inhaltsstoffe von *Callitris* und ihre strukturellen Zusammenhänge.
Holz Roh- Werkstoff, 33(2), 54-56.

J. H. Weil (1990)
Biochimie générale.
Masson, Paris.

J. S. Weis and P. Weis (1992)
Transfer contaminants from CCA-treated wood to estuarine biota.
Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 161, 189-199.

J. S. Weis & P. Weis (1993)
Trophic transfer of contaminants from organisms living by chromated-copper-arsenate (CCA)-treated wood to their predators.
Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 168, 25-34.

R. Whitney (1988)
Proteins of milk.
Dans : *Fundamentals of dairy chemistry*, Van Nostrand Reinhold, New York, 81-170.

W. W. Wilcox & M. Dietz (1997)
Fungi causing above-ground wood decay in structures in California.
Wood and Fiber Science, 29(3), 291-298.

H. Willeitner (1995)
Less environmental impact of wood preservatives by considering the risk of attack in addition to the hazard class system.
Proceedings *3rd International Symposium. The Challenge : Safety and Environment in Wood Preservation*, Cannes-Mandelieu, France, 151-162.

L. Williams (1990)
Potential benefit of diffusable preservatives for wood protection : an analysis on building protection.
Proceedings *1st International Conference on Wood Protection with Diffusable Preservatives*, Forest Products Society, Madison, USA, 29-34.

L. H. Williams & T. L. Amburgey (1987)
Integrated protection against lyctid beetle infestations. IV : Resistance of boron-treated wood (*Virola spp.*) to insect and fungal attack.
Forest Products Journal , 37(2), 10-17.

L. H. Williams & B. R. Parresol (1991)
Borate diffusion into red oak sapwood lumber : an initial assessment.
Forest Products Journal , 41(5), 45-48.

A. H. H. Wong, J. K. Grace & L. G. Kirton (1998)
Termite resistance of Malaysian and exotic woods : field evaluation.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-10289.

D. J. Wright (1988)
The seeds globulins. Part 2.
Dans : *Developments in food proteins*, Elsevier applied science, London, 6, 119-178.

M. K. Yalinkilic, T. Yoshimura & M. Takahashi (1998a)
Enhancement of the biological resistance of wood by phenylboronic acid treatment.
Journal of Wood Science, 44, 152-157.

M. K. Yalinkilic, W. Dwianto, Y. Imamura & M. Takahashi (1998b)
A new process for *in-situ* polymerization of vinyl monomers in wood to delay boron leaching.
The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm, Suède, Doc IRG/WP 98-40110.

H. Yamaguchi, K. Miura, M. Higuchi & I. Sakata (1991)
Adsorption of protein by micro-spherical tannin resin.
Mokuzai Gakkaishi, 37(10), 950-953.

H. Yamaguchi, N. Tamura & M. Higushi (1994)
Upgrading of protein glue by complexation with tannins. Conditions for the formation of gelatin-tannin complex.
Mokuzai Gakkaishi, 40(10), 1085-1091.

J. H. Yoe & A. C. Jones (1944)
Determination of Fe with di-Na-1,2-dihidroxybenzene-3,5-sulfonate.
Industrial and Engineering Chemistry, Analytical edition, 16, 111-115.

R. A. Zabell & J. J. Morrell (1992)
Wood microbiology. Decay and its prevention.
Academic Press, San Diego.

W. V. Zucker (1983)
Tannins : does structure determine function? An ecological perspective.
The American Naturalist, 121(3), 335-365.

Liste des publications

Publications

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1997. Non-toxic albumin and soya protein borates as ground-contact wood preservatives. Holz als Roh- und Werkstoff, 55 : 293-296.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. One-step tannin fixation of non-toxic protein borates wood preservatives. Holz als Roh- und Werkstoff, 56 : 90.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Protein borates as non-toxic, long-term, wide-spectrum, ground-contact wood preservatives. Holzforschung, 52 (3) : 241-248.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk, A. Zaremski. 1998. Normalized biological tests of protein borates wood preservatives. Holz als Roh- und Werkstoff, 56 : 162.

Communications

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1997. Protein borates as non-toxic wood preservatives. Proceedings of the 3rd International Conference on the Development of Forestry and Wood Science/Technology. 29/09 - 03/10, Belgrade, Yugoslavia. Vol II : 374-382.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Albumin borate : A new non-toxic, wide-spectrum, long-term wood preservative. International Research Group on Wood Preservation, 14-19/06, Maastricht, The Netherlands, Doc IRG/WP 98-30167.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Non-toxic wood preservatives based on boric acid-protein associations. Proceedings of the 5th World Conference on Timber Engineering, 17-20/08, EPF, Lausanne, Switzerland. Vol 1 : 223-229.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Le borate d'ovalbumine : un nouveau produit de préservation du bois non toxique. 2èmes Journées Scientifiques Forêt Bois. 23-25/09, ENSTIB, Epinal, France.

Posters

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1997. Nouveaux produits de préservation du bois non toxiques à base d'associations acide borique-protéines. Premières Journées Scientifiques Forêt-Bois. 10-12/09, ENSTIB, Epinal, France.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Naissance d'un nouveau produit de préservation du bois : le borate d'albumine. Les Fibres d'Or. 24/01, Ecole Supérieure du Bois, Nantes, France.

M-F. Thévenon, A. Pizzi, J-P. Haluk. 1998. Condensed tannins and boric acid for new environment friendly wood preservatives. XIXth International Conference on Polyphenols, 1-4/09, Lille, France (à paraître dans les proceedings).

Table des matières

Introduction 4

Revue bibliographique 6
I Le bois : un écomatériau à préserver 7
1. Le bois : compartiment trophique et habitat 7
2. Composition chimique du bois 8
3. Le bois en service 11
4. Organismes caractéristiques destructeurs du bois 12
4.1. Bactéries 13
4.2. Moisissures 13
4.3. Champignons de discoloration 14
4.4. Basidiomycètes 14
4.5. Pourritures molles 15
4.6. Insectes 15
4.7. Térébrants marins 16
5. Successions écologiques 16
6. Essences naturellement durables 18
7. Préservation chimique traditionnelle du bois 19
7.1. Généralités 20
7.2. Créosote 21
7.2.1. Créosote, manipulateurs et sites de traitement 21
7.2.2. Bois créosoté 22
7.2.3. Perspectives 22
7.3. Pentachlorophénol 22
7.3.1. PCP, manipulateurs et sites de préservation 23
7.3.2. Bois traité au PCP 23
7.3.3. Perspectives 23
7.4. Systèmes à base de chrome-cuivre-arsenic 24
7.4.1. CCA, manipulateurs et sites de préservation 24
7.4.2. Bois traité au CCA et désordres écologiques 24
7.5. Cycle de vie des bois traités (Life-Cycle Assessment) 26
8. Alternatives 29
8.1. Nouvelles considérations en préservation du bois 29
8.2. Travaux d'approche 30
II Bore et protection du bois 32
1. Généralités 32
2. Toxicité 33
2.1. Toxicité aquatique 33
2.2. Toxicité vis à vis des végétaux 34
2.3. Toxicité vis à vis des mammifères 34
3. Composés borés en préservation du bois 35
4. Mécanismes d'action du bore dans le contrôle des bio-dégradations 36
5. Propriétés anti-bactériennes du bore 38
6. Propriétés insecticides du bore 38
7. Activités anti-fongiques du bore 39
7.1. Champignons de discoloration et moisissures 39
7.2. Basidiomycètes 40
7.3. Pourritures molles 40
8. Traitement du bois par des composés borés 41
8.1. Rétention et distribution du bore dans le bois 41
8.2. Traitement des essences réfractaires 42
8.3. Traitements préventifs 42
8.3.1. Traitement par trempage/diffusion 42
8.3.2. Traitement par vide/pression 43

8.3.3. Traitement par vaporisation 44
8.4. Traitements curatifs 44
8.4.1. Badigeonnage 45
8.4.2. Méthode des bâtonnets boraciques 46
8.4.3. Traitement par injection 46
8.4.4. Traitement par des mousses 47
9. Emplois annexes du bore 47
10. Risques liés au bois traité avec du bore 47
10.1. Sites de traitement 47
10.2. Bois traité mis en service 48
10.3. Déchets des bois traités au bore 48
11. Lessivage du bore 49
11.1. Bois traité au bore et classes de risques 49
11.2. Contrôle du lessivage du bore 49
III Nouveaux systèmes de préservation du bois à base de bore 51
III A Tanins 52
1. Origines et fonctions des tanins 52
2. Structure des tanins 53
2.1. Tanins hydrolysables 53
2.2. Tanins condensés 53
3. Les tanins en préservation du bois 54
3.1. Les tanins : principes actifs de solutions de préservation du bois 54
3.2. Associations entre tanins et métaux 55
3.3. Associations entre tanins et bore 56
III B Protéines 58
1. Composition et conformations protéiques 58
1.1. Acides aminés 58
1.2. Structure primaire 59
1.3. Structure secondaire 59
1.4. Structure tertiaire 60
1.5. Structure quaternaire 61
1.6. Conformations protéiques et dénaturation 61
2. Propriétés des protéines 61
2.1. Solubilité 62
2.2. Fixation de divers composés par les protéines 62
2.3. Gélification et coagulation 62
3. Etablissement d'un réseau polymère protéique dans le bois 63
4. Ovalbumine 63
4.1. Obtention et caractéristiques de l'ovalbumine 63
4.2. Solubilité et gélification de l'ovalbumine 64
4.3. Emplois de l'ovalbumine 64
5. Collagène et gélatine 65
5.1. Collagène 65
5.1.1. Nature du collagène 65
5.1.2. Mise en oeuvre du collagène 65
5.2. Gélatine 66
5.2.1. Obtention de la gélatine 66
5.2.2. Solubilité et gélification 66
5.2.3. Utilisations de la gélatine 67
6. Caséines 68
6.1. Obtention et structures 68
6.2. Solubilité, gélification et coagulation 68
6.3. Caséinates 69
6.4. Utilisations des caséines et caséinates 69
7. Farine de soja 70
7.1. Obtention et composition de la farine de soja 70
7.1.1. Procédés d'obtention 70
7.1.2. Composition 71

a) Albumines 71
b) Globulines 71
7.2. Solubilité de la farine de soja 72
7.3. Gélification 72
7.4. Emplois de la farine de soja 73

Objectif du travail 75

Matériels et Méthodes 76
I Caractérisation chimique de l'association entre ovalbumine et acide borique 77
1. Comportement de l'ovalbumine thermo-dénaturée en présence d'acide borique 77
2. Titrations acide/base 77
3. Spectrographie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 78
3.1. RMN du proton ^{1}H à l'état liquide 78
3.2. RMN du carbone ^{13}C à l'état solide 78
4. Microscopie électronique à balayage 78
5. Délavage d'un coagulum d'ovalbumine et d'acide borique 79
II Traitements du bois et évaluation de l'efficacité des formulations contre des organismes lignivores 79
1. Efficacité des formulations contre des champignons Basidiomycètes
Essais accélérés 79
1.1. Echantillonnage du bois 80
1.2. Séchage et détermination de la masse anhydre m_0 81
1.3. Imprégnation des éprouvettes 81
1.4. Délavage, séchage et conditionnement des éprouvettes 82
1.5. Cultures fongiques 82
1.6. Répartition des éprouvettes et exposition aux champignons 82
1.7. Examen des éprouvettes et évaluation de l'efficacité des traitements 83
1.8. Formulations 84
1.8.1. Lot 1 : association acide borique-tanins condensés 84
1.8.2. Lot 2 : ovalbumine utilisée seule 84
1.8.3. Lot 3 : association acide borique-protéines 85
1.8.4. Lot 4 : association acide borique-protéines-tanins condensés 86
1.8.5. Lot 5 : Sel entre acide borique et ovalbumine 86
1.8.6. Lot 6 : association acide borique-ovalbumine-hexaméthylènediamine.. 87
2. Efficacité du borate d'ovalbumine contre des organismes lignivores
Essais accélérés en champ 87
2.1. Traitement du bois 87
2.2. Essais accélérés en champ, en contact avec le sol : efficacité contre les pourritures molles 87
2.3. Essais accélérés en champ : efficacité contre des termites 88
2.3.1. Lessivage 88
2.3.2. Efficacité contre des termites 88
3. Efficacité du borate d'ovalbumine contre des champignons Basidiomycètes et des termites - Essais normalisés en laboratoire 88
3.1. Traitement du bois 90
3.2. Délavage normalisé 90
3.3. Essais normalisés avec des Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé 90
3.4. Essais normalisés avec des termites 91
III Analyse des surnageants et des eaux de lessivage 91
1. Détection des tanins condensés 91
1.1. Dosage spectrophotométrique des tanins condensés dans l'U.V. (280 nm) 91
1.2. Dosage spectrophotométrique des tanins condensés dans le visible par la méthode DMACA-HCl 92
2. Détection du bore 92
2.1. Détection du bore par titration 93
2.2. Détection du bore avec une torche à plasma 93
3. Détection des protéines par la méthode de l'acide bicinchoninique 93

IV Traitement de poteaux par le borate d'ovalbumine et essais en champ.....94
1. Echantillonage du bois 94
2. Solutions de traitement 94
3. Imprégnation 94
4. Séchage 95
5. Tests biologiques en champ, en contact avec le sol 95
6. Distribution des produits de traitement 95
6.1. Coloration au bleu de Coomassie 96
6.2. Coloration au curcumin 96

Résultats et Discussion.....98

Chapitre I Formulations à base d'associations entre acide borique et tanins condensés.....99
1. Traitement du bois.....100
2. Tests biologiques..... 103
3. Conclusion..... 105

Chapitre II Etude des associations entre acide borique et protéines..... 107
1. Etude chimique de l'association entre ovalbumine et acide borique..... 108
1.1. Détermination de la quantité de protéines à utiliser.....108
1.2. Caractérisation chimique et spectrale..... 109
1.3 Conclusion.....123
2. Efficacité de formulations à base d'acide borique et de protéines contre des champignons Basidiomycètes - Essais accélérés en boîtes de Pétri.....124
2.1. Préambule.....124
2.2. Lot de bois n° 3 : associations entre acide borique et protéines..... 126
2.2.1. Traitement du bois.....126
2.2.2. Délavage du bois traité.....127
2.2.3. Essais biologiques accélérés 131
2.3. Lot de bois n°4 : associations entre acide borique, protéines et tanins condensés..... 135
2.3.1. Traitement du bois.....135
2.3.2. Délavage du bois traité.....136
2.3.3. Essais biologiques accélérés 140
2.3.4. Comparaison des méthodes de dosage du bore.....143
2.4. Lot de bois n°5 : sel entre acide borique et ovalbumine.....144
2.4.1. Traitement du bois.....144
2.4.2. Délavage du bois traité.....144
2.4.3. Essais biologiques accélérés 146
2.5. Lot de bois n°6 : association entre acide borique, ovalbumine et hexaméthylènediamine (HMDA).....147
2.5.1. Traitement du bois.....147
2.5.2. Délavage du bois traité.....147
2.6. Conclusion.....148

Chapitre III Efficacité du borate d'ovalbumine en préservation du bois
Essais normalisés avec des Basidiomycètes et des termites et Essais en champ 151
1. Essais normalisés avec des champignons Basidiomycètes cultivés sur milieu gélosé.....152
1.1. Traitement du bois 152
1.2. Essais biologiques 153
2. Essais normalisés avec des termites..... 157
3. Essais en champ avec des termites.....159
3.1. Traitement du bois 159
3.2. Analyse des eaux de lessivage..... 159
3.3. Tests accélérés en champ avec des termites..... 161
4. Essais en champ en contact avec le sol..... 164
4.1. Essais accélérés.....164

4.1.1. Traitement du bois et conditions d'essai..... 164
4.1.2. Comportement des éprouvettes en contact avec le sol..... 166
4.2. Essais en champ avec des poteaux..... 166
4.2.1. Traitement du bois..... 167
4.2.2. Macro-distribution des produits de préservation..... 167
4.2.3. Comportement des poteaux en champ..... 169
5. Conclusion..... 170

Conclusion..... 171

Bibliographie..... 177

Liste des publications..... 204

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Mademoiselle THEVENON Marie-France

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY-1

en SCIENCES et TECHNOLOGIES INDUSTRIELLES

VU, APPROUVE ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 5 mars 1999 n° 190

Le Président de l'Université

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ NANCY 1 ☆ LE PRÉSIDENT

J. BURLET

3C-F9

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ · NANCY 1
24-30, rue Lionnois B.P. 3069 54013 Nancy cedex - Tél. 03 83 85 48 00 - Fax 03 83 85 48 48
Adresse électronique : _____ @uhp.u-nancy.fr

RESUME

Le bore, sous forme d'acide borique, est un fongicide et un insecticide faiblement toxique pour l'environnement et les mammifères. Sa solubilité naturelle le rend apte à traiter le bois, mais la protection apportée est de courte durée du fait de son lessivage. Le but de cette étude est de créer, dans le bois, un réseau polymère naturel et non toxique, capable de retenir le bore, sous forme d'acide borique. Des tanins condensés ont été associés à l'acide borique, mais n'ont pas diminué significativement la déplétion du bore lors du lessivage. Par contre, des protéines (ovalbumine, caséines, farines de soja, gélatine) réagissent véritablement avec le bore via leurs groupements peptidiques, et, en gélifiant, forment un réseau protéique retenant le biocide lors du délavage du bois traité. Parmi les systèmes protéiques étudiés, l'association entre ovalbumine et acide borique s'est révèlée très performante en termes de limitation de lessivage du biocide, et de durabilité du bois préservé face à des organismes lignivores (Basidiomycètes et termites). Cette formulation (nommée borate d'ovalbumine) peut être qualifiée de produit de préservation du bois de faible toxicité, à large spectre d'action et à long terme.

Mots clés : Bore, Toxicité, Tanins condensés, Protéines, Lessivage retardé, Essais biologiques

ABSTRACT

Boron is widely recognized to act both as a fungicide and an insecticide, and to be environmentally acceptable and safe for the mammals. Its natural solubility allows it to treat the wood, but this biocide provides only a short term protection. The aim of this work was to create a natural polymer network of low toxicity, able to retain the boron, in the form of boric acid, within the treated wood. Associations between condensed tannins and boric acid were shown to be unable to retard boron leaching. Proteins (ovalbumin, caseins, soja flour, gelatin) were also tested in association with boric acid. They were shown to react with boric acid through their peptidic groups, and when gelified within the timber, were able to prevent boron depletion. Amongst these systems, the association of boric acid with ovalbumin has shown great efficiency in terms of boron retention and biological durability of treated wood (against Basidiomycetes and termites). This formulation (namely ovalbumin borate) can be classified as low toxic, wide spectrum and long term wood preservative.

Key words : Boron, Toxicity, Condensed tannins, Proteins, Retarded leaching, Biological testing