



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/Mz 96133
UNIVERSITE DE METZ

THESE

présentée le 1 Mars 1996 pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de METZ

Mention : Toxicologie de l'environnement

ETUDE DES EMISSIONS DE FONGICIDES A PARTIR DE BOIS TRAITES. IMPACT SUR LES COMPARTIMENTS AQUATIQUE ET AERIEN.

Philippe MARCHAL

Membres du jury :

J.M. JOUANY, Université de Rouen (Rapporteur)

G. OZANNE, Centre Technique du Bois et de l'Ameublement

G. PERSOO

P. THOMAS

P. VASSEU

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 420579 1

VB 105795

S/M3 96/3



BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
- METZ

N° inv.	19960065
Cote	S/M3 96/3
Loc	Magasin

A mes parents et à ma soeur
A Véronique
A mes amis

Ce travail de recherche a fait l'objet d'un contrat Cifre entre le Centre Technique du Bois et de l'Ameublement (C.T.B.A., Paris), le Centre des Sciences de l'Environnement (C.S.E., Metz) et l'Association Nationale de la Recherche Technique (ANRT)

Les expérimentations ont été menées au C.T.B.A. et ont été dirigées par le Professeur P. Vasseur.

Je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de cette thèse.

Plus particulièrement, je tiens à remercier le Professeur Paule VASSEUR pour la confiance, le soutien et l'intérêt qu'il a porté à ce travail. Ses connaissances m'ont permis de guider efficacement les travaux de cette recherche.

Que soient aussi remerciés les professeurs Jean-Michel Jouany de l'université de Rouen et Guido Persoone de l'université de Gent. C'est un grand honneur pour moi qu'ils aient accepté de donner de leur temps pour juger ce travail et d'en être les rapporteurs.

Mes remerciements vont au directeur du C.T.B.A., Daniel Guinard qui m'a permis de réaliser ces travaux au Centre technique du Bois ainsi que de développer l'écotoxicologie au département BIOTEC.

Je remercie également Gérard OZANNE, responsable du département BIOTEC, qui a bien voulu me faire confiance pour la mise en place et le développement du laboratoire d'écotoxicologie dans son service. Merci à Gérard OZANNE d'avoir bien voulu faire partie du jury.

Je désire également remercier Danièle Dirol, responsable du laboratoire de mycologie pour son soutien moral tout au long de ce travail.

Il m'est également très agréable de remercier Paul Thomas, responsable du laboratoire d'écotoxicologie du Centre International de Toxicologie qui a bien voulu examiner cette thèse. Qu'il soit assuré de mon amicale sympathie.

Mes remerciements vont, sans les nommer individuellement, à toute l'équipe BIOTEC qui m'a permis de travailler dans une ambiance sympathique et plus particulièrement à l'équipe Mycologie et l'équipe Chimie qui m'ont fait part de leurs connaissances dans leur domaines respectifs. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon amitié.

Je tiens également à remercier la société KMG-Bernuth pour son soutien financier et pour la fourniture de produits de préservation du bois.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LA STRUCTURE DU BOIS	3
1. Généralités	3
2. Ultrastructure	3
2.1. Aspect macroscopique	3
2.2. Aspects microscopiques : les plans ligneux	4
3. Composition chimique	4
3.1. La cellulose	5
3.2. Les hémicelluloses	5
3.3. La lignine	6
3.4. Les composés extractibles	6
CHAPITRE 2 : PRINCIPE ET TYPE DE TRAITEMENT DES BOIS	8
1. Risques biologiques du bois en service	8
1.1. Dégradations biologiques	8
1.1.1. Dégradation de la lignine	8
1.1.2. Dégradation de la cellulose	9
2. Traitement du bois	9
2.1. Traitements physiques ou biologiques	9
2.2. Traitements chimiques	10
2.2.1. Quantité de produits chimiques utilisés et réglementation	10
2.3 Rôle et principes de la préservation du bois	10
a) Classe de risque	10
b) Durabilité	11
3. Type de traitement	11
3.1. Procédés ne faisant pas intervenir la pression	12
3.2. Procédés faisant intervenir la pression	12
3.3. Types de formulations et principes actifs utilisés	12

CHAPITRE 3 : METHODES D'ÉVALUATION DE L'IMPACT D'UN XENOBIOTIQUE SUR LES COMPARTIMENTS DE L'ENVIRONNEMENT. 13

1. Généralités 13

2. Compartiment aquatique 13

2.1. Modélisation du comportement d'un pesticide dans l'eau 13

2.2. Effets d'un xénobiotique sur les organismes aquatiques: tests monospécifiques 14

2.2.1. Bactéries luminescentes 14

2.2.2. Algues vertes unicellulaires 14

2.2.3. Crustacés cladocères 15

2.3. Effets d'un xénobiotique sur les chaînes alimentaires ou sur les écosystèmes 16

2.4. Etudes de terrain 16

3. Compartiment terrestre 16

3.1. Effets d'un xénobiotique sur les microorganismes du sol 17

3.2. Effets d'un xénobiotique sur les organismes du sol 17

3.2.1. Impact sur la faune : invertébrés 17

3.2.2. Impact sur la flore : plantes supérieures 17

3.3. Effet d'un xénobiotique sur une fraction de chaîne alimentaire terrestre 17

4. Compartiment aérien 18

4.1. Simulation du comportement d'un pesticide dans l'air intérieur 18

4.2. Détection de pesticides dans l'air ambiant de locaux habités 19

4.3. Paramètres externes influençant le relarguage d'un pesticide 20

4.4. Evaluation du risque pour la santé humaine 20

CHAPITRE 4 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DES FONGICIDES ÉTUDIÉS DANS LA PARTIE EXPÉRIMENTALE 21

1. Le pentachlorophénol et le pentachlorophénate de sodium 21

1.1. Généralités et réglementation 21

1.2. Identité et propriétés physico-chimiques 22

1.2.1. Les différentes formes moléculaires 23

1.2.2. Ionisation du pentachlorophénol 23

1.2.3. Solubilité des deux formes du pesticide 23

1.2.4. Les impuretés 24

1.3. Mode d'action toxique 24

1.4. Voies de transport dans l'environnement 25

a) La volatilisation 25

b) Le lessivage 26

c) L'adsorption 26

1.5. Effets du PCP et du PCPNa sur l'environnement aquatique et terrestre	27
1.5.1. Compartiment aquatique	27
a) Tests monospécifiques	27
b) Tests plurispécifiques et écosystèmes reconstitués	28
1.5.2. Compartiment terrestre	29
a) Tests monospécifiques	29
b) Tests plurispécifiques et écosystèmes reconstitués	29
1.6. Génotoxicité du pentachlorophenol	30
1.6.1. Mutagénicité	30
1.6.2. Cancérogénicité	30
2. Le chlorothalonil	32
2.1. Généralités et réglementation	32
2.2. Identités et propriétés physico-chimiques	32
2.3. Mode d'action toxique	33
2.4. Effets du chlorothalonil sur l'environnement aquatique, terrestre et aérien	33
2.4.1. Compartiment aquatique	33
2.4.2. Compartiment terrestre	33
2.4.3. Compartiment aérien	34
2.5. Génotoxicité du chlorothalonil	34
2.5.1. Mutagénicité	34
2.5.2. Cancérogénicité	35
3. La propiconazole	36
3.1. Généralité et réglementation	36
3.2. Identité et propriétés physico-chimique	36
3.3. Mode d'action toxique	36
3.4. Effets de la propiconazole sur l'environnement	36
3.4.1. Compartiment aquatique	36
3.4.2. Compartiment terrestre	37
3.4.3. Compartiment aérien	37
CHAPITRE 5 : MATÉRIELS ET MÉTHODES	38
1. Matériels	38
1.1. Produits chimiques étudiés	38
1.1.1 PCP et PCPNa	38
1.1.2. Chlorothalonil	39
1.1.3. Propiconazole	39
1.2. Essences et qualité du bois utilisé	40
1.3. Mode d'imprégnation	40
1.3.1. Imprégnation par trempage	40
1.3.2. Imprégnation sous vide	40
1.4. Matériel d'analyse chimique	40
1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse	40
1.4.2. Chromatographie en phase liquide	43

1.4.3. Spectrophotomètre UV-visible	44
1.5. Matériel d'analyse biologique	44
1.5.1. Compteur de particules	44
1.5.2. Appareil de mesure de la luminescence	44
1.5.3. Tests immuno-enzymatiques	44
1.6. Réactifs biologiques	44
1.6.1. Bactéries luminescentes	44
1.6.2. Algues unicellulaires vertes	45
1.6.3. Microcrustacés cladocères	45
2. Méthodes	46
2.1. Compartiment aquatique	46
2.1.1. Toxicité naturelle du bois	46
a) Essais écotoxicologiques	46
b) Dosage des tanins	46
c) Dosage des terpènes	46
2.1.2. Toxicité intrinsèque des produits de préservation et influence du pH	47
2.1.2.1. Toxicité aiguë et moyen terme	47
2.1.2.2. Toxicité chronique	48
2.1.3. Cinétique de délavage du produit actif à partir de bois traité	48
2.2. Compartiment aérien	49
2.2.1. Modèle de chambre	49
2.2.2. Principe général de l'installation	50
2.2.3. Manipulation et prélèvement des échantillons	51

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

CHAPITRE 6 : TOXICITE AQUATIQUE ET COMPORTEMENT DES FONGICIDES DANS L'EAU

1. Toxicité naturelle d'extraits aqueux, organiques et mixtes de bois non traités	52
1.1. Toxicité aiguë sur <i>Vibrio fischeri</i>	52
1.1.1. Extraits aqueux	52
1.1.2. Extraits organiques	53
1.2. Toxicité aiguë sur <i>Daphnia magna</i>	53
1.3. Corrélation entre la toxicité et la présence d'extractibles dans les extraits	54
1.3.1. Recherche des tanins et des terpènes dans les extraits aqueux	54
1.3.1.1. Recherche des tanins dans les extraits aqueux	54
1.3.1.2. Recherche des terpènes dans les extraits aqueux	55
2. Toxicité intrinsèque du PCP et du PCPNa sur les organismes aquatiques	57
2.1. Toxicité aiguë du PCP et du PCPNa sur <i>Vibrio fischeri</i>	57

2.2. Toxicité moyen-terme sur l'algue verte <i>Chlorella vulgaris</i>	57
2.3. Toxicité long-terme 28 jours sur <i>Daphnia magna</i>	58
3. Influence du pH sur la biodisponibilité et la toxicité du PCP	59
3.1. Toxicité sur <i>Vibrio fischeri</i>	59
3.2. Toxicité sur <i>Daphnia magna</i>	59
3.3. Toxicité sur <i>Chlorella vulgaris</i>	60
4. Comportement des pesticides à partir de bois traités dans le compartiment aquatique	61
4.1. Bois traités au PCP/PCPNa	61
4.1.1. Cinétique de relargage du PCP dans l'eau	61
4.1.2. Ecotoxicité des lixiviats	62
4.2. Bois traités par une formulation aqueuse ou une organique de propiconazole	63
4.2.1. Cinétique de relargage de la propiconazole dans l'eau	63
4.2.2. Ecotoxicité des lixiviats	64
CHAPITRE 7 : COMPORTEMENT DES FONGICIDES DANS L'AIR A PARTIR DE BOIS TRAITES	65
1 Expériences préliminaires : mise au point du modèle	65
1.1. Description récapitulative des conditions des essais préliminaires	65
1.2. Résultats préliminaires	65
2. Expériences définitives	66
2.1. Cinétiques d'émission du PCP à partir de bois traités PCP ou PCPNa	66
2.2. Influence du temps de séchage sur la volatilisation	67
2.3. Variabilité et reproductibilité des résultats obtenus	68
2.4. Adsorption du PCP sur les parois et dans les tubes	68
2.5. Influence du taux de charge	69
a) Concentrations pour de faibles ratios	69
b) Modélisation de la courbe concentration en fonction du taux de charge	71
2.6. Influence des facteurs climatiques sur les émanations de PCP	72
2.6.1. Influence de la température	72
2.6.2. Influence du renouvellement de l'air	73
2.7. Evaluation du risque des émanations de PCP dans les locaux d'habitation	74
2.7.1. Présentation du problème et résultats de la littérature	74
2.7.2. Calcul par régression des concentrations obtenues pour de faibles ratios	76
2.7.3. Concentrations aériennes acceptables et évaluation du risque	77

3. Applications à d'autres fongicides	78
3.1. Etude des émissions de chlorothalonil à partir de bois traités	78
3.1.1. Profils de cinétique d'émission	78
3.1.2. Influence de la concentration en produit actif dans la formulation	78
3.1.3. Influence du temps de séchage	79
3.1.4. Influence du taux de charge	79
a) Variation du taux de charge de 5.4 à 1.35 m ² /m ³	79
b) Variation du taux de charge de 4.1 à 0.33 m ² /m ³	79
c) Modélisation de la courbe "concentration chlorothalonil en fonction du ratio"	80
3.1.5. Evaluation du risque lié aux émissions de chlorothalonil dans l'air intérieur	81
a) Calcul des concentrations aériennes acceptables	82
b) Comparaison des résultats par rapport à la littérature	83
3.2. Etude des émissions de propiconazole à partir de bois traités	84
3.2.1. Profils des émissions de propiconazole	84
a) Bois traités par trempage court	84
b) Bois traités sous vide	84
3.2.2. Evaluation du risque lié aux émissions de propiconazole dans l'air intérieur	86
CHAPITRE 8 : DISCUSSION GENERALE	87
1. Compartiment aquatique	87
2. Compartiment aérien	88
2.1. Influence de la tension de vapeur sur les émanations de pesticide à partir de bois	89
2.2. Influence du taux de charge sur la volatilisation	89
2.3. Modifications apportées à la norme AFNOR NF X 41-566	90
2.4. Avantages et inconvénients des petites enceintes	91
CHAPITRE 9 : CONCLUSION GENERALE	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	95
ANNEXES	

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Le bois est un matériau renouvelable et biodégradable par excellence qui nécessite selon son usage et les caractéristiques liées à son essence un traitement chimique ou physique permettant de lutter contre les attaques biologiques qu'il subit lors de son emploi.

Ces dégradations biologiques pouvant altérer l'état du bois sont essentiellement provoquées par des microorganismes (bactéries ou champignons) ainsi que par des insectes xylophages et des térébrants marins.

Le fonction principale des traitements chimiques est de prévenir, réduire ou stopper ces détériorations biologiques : le bois convenablement traité pourra alors conserver ses propriétés mécaniques et esthétiques sur une longue période de son utilisation.

La notion d'efficacité du traitement est primordiale et dépend du risque lié aux différentes situations du bois en service.

Une autre notion, tout aussi importante, est en développement depuis quelques années : la sûreté du traitement par rapport à l'environnement et à la santé humaine.

Idéalement, une matière active (fongicide ou insecticide) devrait être biodisponible exclusivement pour les espèces attaquant le bois, c'est à dire en majorité pour les champignons lignivores et les insectes xylophages. Pour cela, sa rétention dans le bois devrait être maximale et son relargage dans les différents compartiments de l'environnement nul.

En réalité, une situation de ce type n'existe pas et le passage de ces biocides du bois vers les compartiments de l'environnement, air, eau et sol se produit à différents degrés.

Les trois voies principales de contaminations de l'environnement à partir de bois traités sont:

- l'entraînement du pesticide dans le compartiment aérien par le phénomène d'évaporation.

Il en résulte une contamination possible de l'air intérieur de locaux d'habitation ainsi que de l'air extérieur.

- l'entraînement du pesticide dans le compartiment aquatique par le phénomène de lixiviation.

La formation de lixiviats provient essentiellement d'eaux de pluies, qui, lors de leur ruissellement sur les bois traités peuvent entraîner des matières actives vers le compartiment aquatique (eaux superficielles ou eaux souterraines).

- l'entraînement du pesticide dans le compartiment sol par des phénomènes de migration par contact ou par lixiviation.

Les travaux présentés dans cette étude contribuent essentiellement à l'évaluation de l'impact du bois traité par des matières actives fongicides sur les deux compartiments de l'environnement "air et eau".

Trois fongicides utilisés en préservation du bois ont été étudiés : le choix du pentachlorophénol, matière active utilisée majoritairement dans les années 70 à 80, s'est imposé pour son importante utilisation durant ces deux décennies dans le domaine de la préservation du bois. Les expérimentations ont par la suite concerné le chlorothalonil car son utilisation actuelle en fait une matière active potentiellement susceptible de remplacer le pentachlorophénol. Enfin, la propiconazole, fongicide dont l'usage dans le traitement des bois est relativement récent, a terminé cette étude.

La première partie de cette étude est bibliographique : le premier chapitre fait un bref rappel sur la structure du bois avec ses aspects ultrastructuraux ainsi que sa composition chimique. Dans le second chapitre, les risques biologiques du bois en service sont décrits ainsi que les traitements spécifiques des bois en fonction des classes de risque tant en matière active quant types de traitement.

Le troisième chapitre présente les différentes méthodes d'évaluation de l'impact d'un xénobiotique sur les trois compartiments de l'environnement : l'eau, le sol et l'air.

La bibliographie se termine par le quatrième chapitre traitant de la toxicité environnementale des trois fongicides étudiés dans la partie expérimentale.

La deuxième partie est expérimentale : elle commence par le chapitre 5 décrivant le matériel et les méthodes employés dans cette étude.

Le chapitre 6 traite de l'impact de la toxicité naturelle des lixiviats de bois non traités, de la toxicité intrinsèque des fongicides et du comportement de ces matières actives à partir de bois traités, dans le compartiment eau.

Le chapitre 7 concerne le compartiment air et décrit la mise au point d'un modèle d'enceinte permettant de quantifier les émanations de pesticide à partir de bois traités dans le but de simuler des situations que l'on peut trouver dans des locaux d'habitation.

Les deux formes du pentachlorophénol, le PCP et le PCPNa ainsi que le chlorothalonil et la propiconazole ont été étudiés pour leur comportement dans l'air à partir de bois traités.

Avant de conclure nous discuterons dans la troisième partie des différents résultats obtenus pour les matières actives étudiées dans les compartiments eau et air ainsi que de la méthodologie du modèle d'enceinte utilisé.

N.B : la stratégie mise en place pour l'évaluation de l'écotoxicité des différents fongicides dans le compartiment aquatique a consisté à utiliser une batterie de tests incluant les trois taxons bactérie/animaux/végétaux.

Les organismes utilisés dans ces tests d'écotoxicité aquatique ont été pour la toxicité aiguë, la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* (inhibition de la luminescence) ainsi que le crustacé cladocère *Daphnia magna* (inhibition de la mobilité).

Pour la toxicité chronique, l'algue verte unicellulaire *Chlorella vulgaris* (inhibition de la croissance) et le crustacé cladocère *Daphnia magna* (effets sur la reproduction) ont été les organismes test.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LA STRUCTURE DU BOIS

1. Généralités et rappels sur la structure du bois
2. Ultrastructure
3. Composition chimique

CHAPITRE 2 : PRINCIPES ET TYPES DE TRAITEMENT DU BOIS

1. Risques majeurs du matériau bois en service
2. Traitement du bois
3. Types de traitements

CHAPITRE 3 : METHODES D'EVALUATION DE L'IMPACT D'UN XÉNOBIOTIQUE SUR LES COMPARTIMENTS DE L'ENVIRONNEMENT

1. Généralités
2. Compartiment aquatique
3. Compartiment terrestre
4. Compartiment aérien

CHAPITRE 4 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DES FONGICIDES ETUDIÉS DANS LA PARTIE EXPERIMENTALE

1. Pentachlorophénol et pentachlorophénate de sodium
2. Chlorothalonil
3. Propiconazole

CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LA STRUCTURE DU BOIS

1. Généralités et rappels sur la structure du bois (ou xylème)

Le bois est un matériau composite naturel dont la composition chimique est formée par ordre d'importance de cellulose, lignine, hémicellulose et composés extractibles.

Pour une meilleure compréhension des chapitres suivants, nous parlerons de bois pour tout ce qui concerne le xylème formé par division cellulaire centripète de l'assise libéro-ligneuse des gymnospermes (bois tendre) et des angiospermes (bois durs).

En effet, c'est cette assise qui va donner naissance

- par des divisions cellulaires centripètes, aux cellules du xylème ou bois
- par des divisions cellulaires centrifuges, aux cellules du liber

ceci permettant la croissance en diamètre de l'arbre.

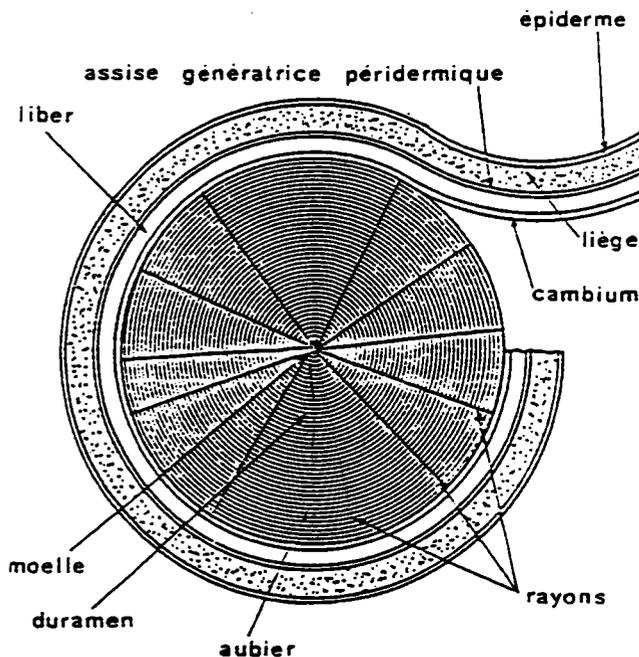


Figure 1: Schéma d'une coupe transversale d'un tronc d'arbre.

2. Ultrastructure

2.1. Aspect macroscopique

L'ultrastructure du bois concerne l'organisation spatiale des cellules les unes par rapport aux autres. Pour chaque type de bois, l'apparence macroscopique diffère en fonction du plan de coupe selon lequel le bois est examiné. Il peut être défini par trois directions : longitudinale, radiale et tangentielle.

On distingue ainsi (figure 2) trois plans d'organisations désignant l'arrangement relatif des cellules, encore appelés plans ligneux : longitudinal-radial (LR), longitudinal-tangentiel (LT), radial-tangentiel (RT).

Le plan longitudinal est parallèle à l'axe de l'arbre, le plan radial passe par un rayon perpendiculaire aux cernes d'accroissement ; le plan tangentiel est celui qui est tangent aux cernes d'accroissement à une distance variable de l'axe.

2.2. Aspect microscopique : les plans ligneux

L'architecture des tissus cellulaires d'une cerne d'accroissement est spécifique de chaque espèce, elle constitue ce que l'on appelle le **plan ligneux** : les essences des feuillus et les essences des résineux se distinguent nettement par la structure de leur plan ligneux.

La structure la plus simple est celle des bois résineux (figure 3) : celui-ci est constitué essentiellement par deux types de cellules:

- les trachéides (90% du volume du bois) qui sont des cellules allongées orientées selon l'axe longitudinal du tronc et aux extrémités fermées mais qui communiquent entre elles par des ponctuations aréolées.
- les cellules parenchymateuses orientées dans le sens radial et qui forment les rayons ligneux (associés quelquefois selon les essences à des trachéides transversales).

Les trachéides "verticales" jouent à la fois le rôle d'éléments conducteurs, de soutien et de réserve.

Les plans ligneux des bois feuillus sont plus complexes, cela résulte de la disposition très variable des cellules initiales qui constituent l'assise cambiale et dont la division assure la croissance de l'arbre en diamètre. Le plan ligneux des feuillus est ainsi composé de vaisseaux, de trachéides verticales, de fibres ligneuses, de parenchyme axial et de rayons ligneux.

3. Composition chimique

Les constituants majeurs du bois sont la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. D'autres constituants polymériques sont présents en quantité moins importante comme l'amidon , les pectines...

Le pourcentage de cellulose ne varie pas ou très peu entre les bois feuillus et les bois résineux. Cela n'est pas le cas de la lignine qui est généralement comprise entre 18 et 25 % pour les bois feuillus et 25 à 35 % pour les bois résineux.

Le taux d'hémicelluloses varie entre ces deux groupes aussi bien en quantité qu'en qualité. Les hémicelluloses prédominantes chez les feuillus sont partiellement acétylées : glucuronoxylane (O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylane) présent entre 20 et 35 % chez les feuillus tandis que les résineux contiennent de la glucuronoarabinoxylane (arabino-4-O-methylglucuronoxylane) aux alentours de 10% .

	Résineux	Feuillus
Cellulose en %	42 ± 2	45 ± 2
Hémicellulose en %	27 ± 2	30 ± 5
Lignine en %	28 ± 3	20 ± 4
Extractibles en %	3 ± 2	5 ± 3

Tableau 1: Répartition moyenne des composés chimiques dans les feuillus et les résineux

3.1. La cellulose

La cellulose est le constituant majeur du bois. Elle représente 40 % à 50 % de son poids sec. C'est également le composé organique le plus abondant sur terre.

C'est un homopolymère glucidique à haut poids moléculaire, constitué à 98 % de la répétition du motif cellobiose (déshydratation de deux unités β -O glucopyrannose: anhydroglucopyrannose).

Ces unités β -O-glucopyrannose sont reliées entre elles par des liaisons 1→4 (figure 4)

Des sucres du type galactose ou xylose représentent le faible pourcentage restant.

La liaison glycosidique C_1 -O- C_4 n'est pas plane et des liaisons hydrogènes intramoléculaires sont ainsi favorisées. Ceci confère à la cellulose une linéarité et une rigidité exceptionnelle.

Les groupements hydroxyles présents sur la chaîne permettent la formation de liaisons hydrogènes intermoléculaires et ainsi une organisation des chaînes en domaine cristallin. En effet, les chaînes se regroupent pour former la fibrille élémentaire dont le diamètre est de 3.5 nm; l'association de 16 fibrilles élémentaires forme une microfibrille de 25 nm. Le caractère très structuré des microfibrilles, qui jouent dans le bois un rôle de maintien, explique la grande résistance aux attaques chimiques et la grande stabilité de la cellulose (figure 5).

Dans certaines régions, les fibrilles sont ordonnées et forment une structure présentant une certaine cristallinité; d'autres zones plus faiblement représentées sont moins ordonnées et présentent un caractère amorphe les rendant moins accessibles aux liquides.

3.2. Les hémicelluloses

Ce sont les composés organiques les plus répandus sur terre après la cellulose. Les hémicelluloses se convertissent facilement en produits primaires comme le xylose, le xylitol, le furfural, les hydroxyméthylfurfural...

Sont englobés sous le nom d'hémicelluloses tous les polysaccharides autres que la cellulose et les substances pectiques présentes dans la membrane cellulaire: ces polysaccharides sont à base de pentosanes (polymères de sucres à 5 carbones) et d'hexosane (polymères de sucre à 6 carbones).

Les hémicelluloses s'organisent en chaînes plus courtes que celles de la cellulose, ces chaînes sont ramifiées. Elles se présentent sous forme amorphe et s'organisent autour des microfibrilles de cellulose. Par la présence de nombreux groupements hydroxyles tout comme dans la cellulose, elles donnent au bois son caractère hygroscopique.

3.3. La lignine

C'est également un polymère essentiel du bois constituant 10 % à 30 % de sa composition. Les lignines sont des polymères non répétitifs formant un réseau tri-dimensionnel amorphe, thermoplastique obtenu par polymérisation oxydative de trois alcools phénylpropénoïques : les alcools coumaryliques, les alcools conifériques et les alcools sinapyliques (figure 6). Les investigations concernant la détermination de sa structure ne sont pas encore terminées. La présence de nombreuses liaisons complexes carbone-carbone entre les différentes unités font que sa dégradation en produits de bas poids moléculaires est difficile (Freudenberg *et al*, 1968).

Nous ne décrivons pas de façon précise la structure chimique de la lignine du fait de sa complexité et de la grande variabilité qui existe au niveau des essences de bois.

Il est intéressant de noter que des techniques telles que la microdensitométrie dans l'UV ont permis de confirmer la présence de lignine du type guaiacyl-propane dans les parois secondaires des vaisseaux, de la lamelle moyenne et des coins de cellules des angiospermes alors que les fibres contiennent de la lignine du type syringyl-propane.

3.4. Les composés extractibles

Le bois contient en plus des trois polymères cités précédemment des composés solubles dans l'eau et dans les solvants organiques appelés composés extractibles.

La concentration des composés extractibles dans le bois est basse (habituellement inférieure à 5 %) : ces composés se situent essentiellement dans les lumens des cellules, les rayons parenchymateux et les canaux résinifères. Ils ne se combinent pas avec les composés des membranes cellulaires du bois. Leur composition est très variable selon les essences : ils contribuent à certaines caractéristiques du bois comme la couleur, l'odeur, la durabilité... Ils peuvent également influencer le collage, le séchage et le blanchiment de la pâte à papier. Ils se divisent en trois groupes: les composés aliphatiques, les terpènes et les composés phénoliques:

* les composés aliphatiques

Les acides gras insaturés linoléique, linoléique et oléique sont les principaux représentants de cette classe.

* polyphénols et composés voisins

Ceux-ci sont accumulés abondamment dans l'aubier de plusieurs espèces.

Les lignans sont des polyphénols formés par la synthèse de deux molécules de phénylpropanoïde via la voie de formation des acides shikimiques.

Les flavanoïdes sont des polyphénols formés dans les voies de synthèse des acétates-malonates et des acides shikimiques : ces composés ont une structure à base de C₆-C₃-C₆ et sont présents chez les angiospermes, les gymnospermes ainsi que chez d'autres plantes sans

xylème.

Les tanins sont des polyphénols ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000, ils sont classés en deux groupes: les tanins condensés non hydrolysables et les tanins hydrolysables.

Ils ont la propriété de former des précipités insolubles dans l'eau avec les protéines ou les alcaloïdes. On distingue :

- les tanins condensés non hydrolysables uniquement présent chez les feuillus, donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides, des fractions glucidiques et polyphénoliques

- les tanins hydrolysables sont des esters de sucre ayant un ou plusieurs acides polyphénoliques et sont présents chez toutes les essences. La fonction ester est facilement hydrolysée par l'action d'acides, de bases ou d'enzymes comme les tanases.

* terpènes et composés voisins

Ce sont des composés résultant de la condensation de une ou plusieurs unités isoprènes via la voie de synthèse des mévalonates : ils sont classés comme monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et tétraterpènes en fonction du nombre d'isoterpènes.

CHAPITRE 2 : PRINCIPE ET TYPE DE TRAITEMENT DES BOIS

1. Risques majeurs concernant le matériau bois en service.

1.1. Dégradations biologiques

Les attaques biologiques qui altèrent l'état du bois sont essentiellement provoquées par des microorganismes (bactéries ou champignons) ainsi que par des insectes xylophages ou nidifiant dans le bois et des térébrants marins (mollusques marins). La sévérité des attaques dépend des caractéristiques liées à l'espèce de bois et notamment à sa composition biochimique mais aussi à des facteurs externes tel que le climat et les conditions de service du bois qui facilitent ou inhibent la dégradation provoquée par ces agents biologiques.

Les champignons dégradant le bois sont classés selon le type de dégâts qu'ils occasionnent et selon le type de polymères qu'ils sont capables de dégrader (lignine, hémicellulose ou cellulose).

Ainsi, on distingue essentiellement trois catégories de champignons xylophages : les champignons de pourriture brune qui décomposent essentiellement la cellulose et l'hémicellulose (ce sont surtout des basidiomycètes), les champignons de pourriture blanche décomposant la cellulose, les hémicelluloses mais aussi la lignine (surtout basidiomycètes : le champignon *Phanerochaete chrysosporium*, en fait partie) et les champignons de pourriture molle qui dégradent la cellulose et l'hémicellulose (Ascomycètes et Fungi imperfecti). Concernant les bactéries, il a été prouvé que certaines d'entre-elles sont capables de dégrader la lignine : les actinomycètes en font partie. Le mécanisme de ces dégradations a été largement étudié surtout depuis les découvertes des enzymes responsables des dégradations biologiques.

Deux catégories d'insectes dégradent le bois : les insectes sociaux (termites) assimilant la cellulose grâce aux zooflagelés situés dans leur intestin et les insectes à larves xylophages se nourrissant soit de cellulose (*Hylotrupes bajulus* capricorne des maisons), soit d'amidon (les lychnus).

Nous parlerons dans les pages suivantes essentiellement des attaques provoquées par les microorganismes, notamment les champignons, puisque cette étude s'intéresse au devenir des fongicides dans l'environnement à partir de bois traités.

1.2. Dégradation de la lignine.

Il est important de noter que la lignine est en général dégradée plus rapidement au début de l'attaque que la cellulose et les hémicelluloses, mais cette situation s'inverse lorsque la perte de masse atteint 50% (Savory et Pinion, 1958).

Les champignons de pourriture blanche possèdent un enzyme ou plusieurs enzymes capables de dégrader la lignine: ceux-ci sont groupés sous le terme de ligninase. Plusieurs équipes ont réussi à isoler ces enzymes qui sont des hémoprotéines (Tien et Kirk, 1984). Les interactions au niveau moléculaire entre le champignon et le bois sont complexes ; les mécanismes d'action permettant à l'hémoprotéine de dégrader la lignine ne sont pas encore totalement élucidés, de nombreuses hypothèses sont émises et des modèles de dégradation utilisant des hémoenzymes permettent de progresser dans la connaissance de ces mécanismes en mimant les réactions biologiques (Shimada *et al*, 1987).

Les ligninases que l'on trouve chez certains microorganismes, correspondent aux cytochromes P450 que l'on trouve dans les foies des mammifères (Ullrich *et al*, 1977).

Des applications importantes de ces dégradations peuvent également être envisagées dans le futur pour la délignification de la pâte à papier. Le catalyseur biomimétique étant plus petit que la protéine ligninase, il pourrait rentrer plus facilement dans la macromolécule pour la dégrader *in situ*. L'oxène, composé majeur formé lors de la dégradation, permet également de dégrader des xénobiotiques rémanents et peu biodégradables comme les dérivés halogénés (pentachlorophénol par exemple) et d'autres composés carcinogènes ou mutagènes qui sont employés dans la préservation du bois (Liang et McFarland, 1994).

1.3. Dégradation de la cellulose

Depuis la découverte de l'activité des cellulases, les enzymes impliqués dans la dégradation de la cellulose ont été trouvés dans de nombreux organismes dont notamment des microorganismes, des insectes sociaux comme les termites, des térébrants marins, des crustacés, des escargots, des oursins pour n'en citer que quelques uns.

L'activité cellulolitique de certains champignons a lieu lorsque ceux-ci sont en présence de matériel cellulosique dans leur milieu. Cependant si un excès de glucose est également présent les enzymes ne sont pas produits, ceci par un mécanisme de répression catabolique (Eriksson et Wood, 1985). Aujourd'hui, les mécanismes de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose sont connus : ils correspondent aux actions séquentielles de trois types d'enzymes, les endo-cellulases, les exo-cellulases et les β -glucosidases. Des effets de synergie entre ces différents enzymes interviennent lors de la dégradation du polymère (Wood, 1982). Enfin, des enzymes synthétiques et/ou des catalyseurs biomimétiques peuvent être intéressants dans le futur pour des applications industrielles de dégradation de la cellulose.

2. Traitement du bois

Afin d'éviter les dégradations biologiques précédemment évoquées, il est nécessaire de traiter le bois pour qu'il conserve ses propriétés mécaniques et esthétiques pendant sa durée de vie en service ; cependant, le traitement n'est pas systématique et dépend de plusieurs facteurs comme la durabilité naturelle ou les conditions d'emploi (classes de risque) que nous étudierons ultérieurement.

La forme de traitement majoritaire des bois est le traitement par des produits chimiques ; deux autres types de traitement existent mais sont encore très minoritaires dans la préservation du bois : le traitement physique et le traitement biologique.

2.1. Traitement physique ou biologique du bois

Le traitement physique concerne essentiellement la pyrolyse ménagée du bois : les procédés utilisés mettent en jeu un traitement thermique du bois à une température comprise entre 180 et 280 °C et sous atmosphère inerte. Des modifications physico-chimiques du bois ont comme effet de le rendre moins hygroscopique donc plus stable dimensionnellement et imputrescible, sans trop affaiblir ses propriétés mécaniques. Le bois des résineux commence à se dégrader vers 188°C tandis que celui des feuillus seulement vers 200 °C (Avat, 1993). Les modifications chimiques comme la modification de la structure cristalline de la cellulose peuvent expliquer la baisse d'hygroscopie du bois et ainsi donner de nouvelles propriétés à ce matériau.

Cependant ces types de traitements sont peu utilisés actuellement et leurs procédés sont encore en cours d'évaluation au niveau industriel : leur avenir dans la préservation du bois ne doit pas être sous-estimé.

Le traitement biologique consiste à pratiquer un traitement des bois à base de composés

extractibles de bois de coeur de certaines essences (chataîgner par exemple) réputées pour leur propriétés de résistances par rapport aux attaques de microorganismes. Des études actuellement en cours portent sur le traitement biologique des bois par des tanins ainsi que l'utilisation de ces substances comme agents fixateurs de cuivre et de chrome (C.T.B.A., contrat "forest").

2.2. Traitement chimique du bois

2.2.1. Quantité de produits chimiques utilisés et réglementation

Chaque année, 30 millions de m³ de bois sont traités, les deux tiers aux Etats-Unis (PNUE 1994). Les produits de préservation en ventes mondiales représentent 550 000 tonnes par an: ils permettent d'accroître la durée de service du bois de l'ordre de 5 à 15 fois, selon le type de produit et l'environnement dans l'emploi final (classes de risques).

En général, les produits de préservation du bois proviennent de l'industrie phytosanitaire et sont employés depuis de nombreuses années dans ces industries avant d'être utilisés dans le bois.

Il est important de noter que la préservation chimique d'un bois n'a aucun caractère obligatoire. Les seules contraintes existantes sont des conditions spécifiques d'étiquetage concernant les formulations ainsi que des contraintes de restrictions de mise sur le marché pour certains produits actifs réservés aux professionnels (c'est le cas du pentachlorophénol).

2.3. Rôle et principes de la préservation du bois

a) Classes de risque

Les risques d'attaques biologiques du bois sont définis dans les classes de risques (tableau 2). Selon son utilisation finale (bois de charpente ou bois d'intérieur par exemple), le bois doit subir un traitement adapté tant en variété de produits chimiques de traitement utilisés qu'en type de traitement (par trempage court, par autoclave sous vide..).

Pour ces raisons, la norme européenne EN 335-1 (octobre 1992) permet de définir des classes de risque correspondant aux différentes situations auxquelles peuvent être exposés les bois et les produits à base de bois. Ces classes permettent d'aider à la détermination du risque d'attaque biologique.

b) Durabilité

Il est aussi important de définir le critère de durabilité naturelle du bois et de ses matériaux dérivés ; en effet, la durabilité du bois c'est à dire la résistance intrinsèque du bois aux attaques d'organismes destructeurs, définie dans la norme européenne EN 350-1 (1994), est différente selon l'essence de bois utilisée et selon ses conditions d'emploi, donc selon les classes de risque du bois utilisé.

Ainsi une essence de bois particulière peut être durable pour la classe 2 et non durable pour la classe 3 : si on veut l'utiliser pour la classe 3 il faudra la traiter en conséquence avec un produit acceptable pour cette classe et un type de traitement bien défini.

Donc, si le traitement est nécessaire, celui-ci sera possible ou non en fonction des critères d'imprégnabilité propre à chaque essence ; si le traitement est possible, sa finalité sera d'atteindre une profondeur d'imprégnation suffisante pour protéger le bois en fonction des risques d'attaques. La rétention du produit dans le bois devra également être suffisante afin

d'atteindre les critères d'efficacité, notamment la valeur critique. Cette valeur, exprimée en kg/m^3 (autoclave) ou en g/m^2 (badigeonnage) est le seuil d'efficacité de la formulation définie par des tests biologiques au dessus duquel le produit est efficace contre une attaque biologique particulière (par exemple contre une attaque mycologique spécifique).

3. Types de traitement

Plusieurs types de traitement sont utilisés en préservation du bois, cependant on distingue essentiellement deux types de procédés permettant l'imprégnation de produit de préservation dans le bois selon qu'ils font appel ou non à la pression.

3.1. Procédés ne faisant pas appel à la pression

Le badigeonnage est une méthode souvent employée par le simple amateur : il faut que le produit soit de faible viscosité et le traitement périodique pour qu'il soit efficace.

L'arrosage est un traitement mécanisé qui consiste le plus souvent à faire passer lentement le bois à travers un tunnel court : le produit de préservation est soutiré à la base et réinjecté dans le circuit.

Le trempage ou l'immersion fait également partie des ces procédés : le bois est immergé dans un bac contenant la formulation de préservation et la durée de l'immersion peut ainsi être adaptée à la norme de traitement. C'est le procédé d'imprégnation que nous avons utilisé majoritairement dans cette étude.

3.2. Procédés faisant intervenir la pression

L'imprégnation se pratique ici dans des autoclaves ; en fonction du procédé utilisé, le bois peut être soumis à un vide préliminaire afin de soustraire un maximum d'eau contenu dans ses cellules. Le cylindre autoclave est ensuite rempli par la solution de traitement et une pression lui est appliquée, la valeur et la durée de pression requises dépendent de l'espèce de bois et de l'exigence de pénétration (PNUE, 1994). En général, un vide final est aussi appliqué afin de récupérer l'excédent de produit qui aura tendance à suinter après le traitement. Plusieurs procédés ayant chacun leurs cycles de pression et de vide existent et sont utilisés en fonction de la rétention et de la pénétration de produit que l'on veut obtenir.

* les formulations

Le choix de la formulation dépend du caractère du bois, du service demandé et des propriétés de la formulation. Plusieurs critères doivent être remplis par le produit/formulation, notamment son efficacité contre les organismes destructeurs du bois, son aptitude à pénétrer le bois, sa stabilité chimique dans le bois, l'absence d'effets sur les propriétés structurelles du bois, son prix et enfin son faible impact au niveau de l'environnement.

Trois types de formulations sont utilisés en préservation du bois:

- * les formulations aqueuses
- * les formulations organiques
- * les huiles de goudron ou créosote

Les formulations aqueuses comportent en général un ou plusieurs produits actifs ainsi que plusieurs adjuvants (tensioactif,...) permettant d'obtenir une bonne stabilité de la formulation. Ces formulations aqueuses se présentent sous une forme prêt-à-l'emploi ou sous une forme concentrée (liquide, pâtes et solides comme les poudres cristallines : elles seront alors diluées dans de l'eau avant d'être employées).

Les formulations organiques comportent également un ou plusieurs produits actifs dissous le plus souvent dans des solvants pétroliers (composés à base d'aldéhydes, alcools et esters par exemple).

La nature de la formulation et sa composition permettent par exemple d'améliorer la rétention des produits actifs dans le bois et/ou leur stabilité dans le temps.

Les formulations huiles de goudron ou créosotes, liquide huileux de couleur brun-noir proviennent du goudron produit lors de la carbonisation du charbon bitumeux: les constituants principaux de ces créosotes sont les hydrocarbures polyaromatiques (PAHs), les goudrons acides (phénols, crésols et acide crésylique) et les bases goudronneuses (pyridines, quinolines et acridines). Ces composés sont souvent légèrement chauffés avant d'être utilisés afin de dissoudre les dépôts présents.

Les créosotes sont des composés utilisés depuis plus de 150 ans : leur efficacité est très satisfaisante cependant leur toxicité vis-à-vis de l'environnement (de par la présence de nombreux PAHs) peuvent poser de sérieux problèmes. Actuellement, la teneur en benzo(a)pyrène est limitée à 500 ppm dans les créosotes (J.O.C.E. L 365/1, 1994c).

* les produits actifs ou pesticides utilisés

En plus des produits à base d'huile de créosote, nous pouvons distinguer cinq grands types de pesticides utilisés en préservation du bois:

- les organochlorés : dinitrophénol, chlorothalonil, pentachlorophénol utilisés comme fongicides, endosulfan utilisés comme insecticides.
- les ammoniums quaternaires: chlorure de benzalkonium
- les pyréthriinoïdes: cyperméthrine, perméthrine, deltaméthrine utilisés comme insecticides.
- les carbamates: IPBC
- les azoles: propiconazole, azaconazole, tebuconazole, bromuconazole utilisés comme fongicides.

CHAPITRE 3 : MÉTHODES D'ÉVALUATION DE L'IMPACT D'UN XÉNOBIOTIQUE SUR LES COMPARTIMENTS DE L'ENVIRONNEMENT

1. Généralités

Du fait de l'utilisation de plus en plus importante de pesticides dans les domaines agricoles ou phytosanitaires, de nombreuses études ont porté ces dernières années sur l'évaluation de leur impact sur le compartiment aquatique, terrestre et aérien.

En effet, si les pesticides ne contribuent que pour un faible pourcentage à la totalité des polluants que l'on retrouve dans les eaux, les sols et l'air, il ne faut pas sous-estimer leur impact dans ces différents compartiments de l'environnement qu'il s'agisse d'herbicides, d'insecticides ou de fongicides. Leur rôle est avant tout d'être des biocides ; si les pesticides ont pour but de tuer des "espèces nuisibles" qualifiées également d'espèces cibles, leurs effets sur les espèces non cibles ne sont pas toujours négligeables. En effet, les espèces non cibles sont souvent affectées par l'action des pesticides car les composés utilisés ne sont pas spécifiques à une espèce donnée, même si leur spectre d'action est étroit.

L'exemple des carbamates ou des organophosphorés le prouve : ces pesticides ont comme mode d'action l'inhibition de l'activité des cholinestérases : cependant ces enzymes sont présents chez un grand nombre d'espèces et cela peut ainsi provoquer des effets sur des espèces non cibles comme les populations aviaires (Hill et Fleming, 1982).

Le devenir des pesticides utilisés en préservation du bois dans les différents compartiments de l'environnement, dépend de nombreux facteurs externes ou inhérents aux molécules utilisées.

Le mode d'application du pesticide (badigeonnage, pulvérisation, imprégnation sous vide...) peut être une source d'émission du pesticide dans l'environnement plus ou moins importante. La délavabilité du pesticide à partir du bois traité ou bien encore son évaporation sont également des voies de contaminations possibles lors de la mise en service du bois.

D'autres caractéristiques comme ses propriétés physico-chimiques (solubilité dans l'eau, tension de vapeur ..), sa durabilité dans le temps (demi-vie), sa biodisponibilité, sa biodégradabilité naturelle, les impuretés qu'il contient ou bien encore les métabolites qu'il peut engendrer sont autant de facteurs qui peuvent influencer sa toxicité par rapport à l'environnement.

Nous étudierons dans les chapitres suivants les méthodes d'évaluation de l'impact environnemental d'un xénobiotique dans les compartiments aquatique, terrestre et atmosphérique par des expériences de laboratoire ou de terrain.

2. Compartiment aquatique

2.1 Modélisation du comportement d'un pesticide dans l'eau

Des études de laboratoire permettent d'étudier le comportement d'un pesticide dans l'eau et son relargage à partir d'une source d'émission connue (qui dans notre cas sera du bois traité). Le relargage d'un pesticide dans l'eau peut être déterminé par des méthodes appropriées

comme la détection U.V en spectrophotométrie ou bien encore l'analyse en chromatographie liquide. Après avoir déterminé la cinétique de relargage d'une substance à partir de bois traité, une modélisation peut être mise au point ; les résultats "théoriques" estimés pourront alors être comparés aux résultats expérimentaux et cela permettra de juger de l'adéquation du modèle proposé (Haloui *et al.*, 1995).

2.2. Effets des pesticides sur les organismes aquatiques : tests monospécifiques.

Pour évaluer l'impact d'un pesticide sur le compartiment aquatique, plusieurs méthodologies sont possibles. La première consiste à évaluer les effets d'une molécule sur des organismes aquatiques non cibles représentant une fraction des chaînes trophiques des eaux de surface. Ainsi depuis plusieurs années, certaines espèces aquatiques ont été sélectionnées selon des critères de sensibilité et de représentativité pour leur utilisation dans des tests monospécifiques d'écotoxicité aquatique.

Ces bioessais sont réalisés sur des substances chimiques connues, sur des effluents industriels ou bien encore sur des eaux naturelles pour évaluer leur toxicité potentielle. Certaines études pratiquent des bioessais sur des concentrations de pesticides équivalentes à celles trouvées sur le terrain afin de faire le lien entre les concentrations trouvées dans l'environnement aquatique et leurs effets sur les écosystèmes ou sur l'homme (Peterson *et al.*, 1994).

2.2.1. Bactéries luminescentes *Photobacterium phosphoreum* : selon norme AFNOR NF T 90-320 (1991)

Photobacterium phosphoreum, appelée également *Vibrio fischeri*, est une bactérie marine utilisée pour l'évaluation de la qualité des eaux, l'écotoxicité de substances chimiques et de produits d'activités anthropiques, de lixiviats de déchets dangereux... C'est un biotest simple dont le principe est basé sur l'inhibition de luminescence de la bactérie provoquée par l'échantillon. L'action toxique (baisse de la luminescence proportionnelle à la charge polluante du milieu) résulte d'une altération du couple enzymatique luciférine-luciférase (Bulich *et al.*, 1995) ; la baisse de luminescence est mesurée dans une chambre noire.

La rapidité du test (5 ou 15 minutes) en font un de ses principaux avantages ainsi que sa bonne corrélation avec le test daphnie (Vasseur *et al.*, 1984) pour l'évaluation de la toxicité aiguë ou court terme.

2.2.2. Algues vertes unicellulaires: *Chlorella vulgaris* ou *Raphidocelis subcapitata*

Les tests de toxicité algale sont des outils importants pour l'étude de la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines ; leur première utilisation a été faite pour des études physiologiques ainsi que la mise en évidence de situations d'eutrophisation. Puis, des applications à l'évaluation de la toxicité d'effluents industriels ont été développées (Walsh et Merrill, 1984).

Depuis ces premières études, les applications des tests "algues" se sont étendus à l'évaluation de la toxicité de produits chimiques purs (Adams *et al.*, 1985) ainsi qu'à celle de la toxicité de produits chimiques en mélange complexes (Aoyama *et al.*, 1987).

La recherche de la contamination des eaux naturelles fait partie des applications de ce test en routine (Kusk et Nyholm, 1991). Ainsi depuis 1989, l'E.P.A. (Environmental Protection Agency) a adopté ce test pour sa réglementation dans le domaine de l'environnement.

D'autres normes ou lignes directrices utilisent comme matériel biologique les micro-algues: ligne directrice OCDE (1984), norme européenne NF EN 28692- ISO 8692 (1993).

Plusieurs travaux se sont intéressés aux effets de facteurs expérimentaux sur la toxicité de substances de référence (Smith *et al*, 1987) ou bien encore à la corrélation entre la structure de la substance testée et son activité toxique (Shigeoka *et al*, 1988).

Des études sur la biodégradation (Klekner et Kosaric, 1992), la biotransformation (Maeda *et al*, 1992) et la bioconcentration (Glooschenko *et al*, 1979) de substances toxiques ont permis d'élargir les connaissances des mécanismes d'action de détoxification de ces microorganismes.

Les méthodologies employées pour réaliser les tests de phytotoxicité des eaux ou des substances chimiques se sont diversifiées: on utilise la méthode "batch" (dans des récipients contenant plusieurs dizaines de millilitres) et depuis peu les essais se pratiquent également sur des microplaques (Lukavsky, 1992).

2.2.3. Microcrustacés cladocères : *Daphnia magna*

Daphnia magna (figure 8) est un crustacé cladocère de l'ordre des branchiopodes que l'on retrouve dans nos lacs et nos rivières. Les raisons de sa large utilisation en écotoxicologie sont diverses :

* *Daphnia magna* est maillon des chaînes alimentaires aquatiques situé entre les producteurs primaires ainsi que les bactéries saprophytes et les consommateurs secondaires que sont les poissons (Muller, 1980).

* de par leur "maintenance" aisée en laboratoire, dans des conditions bien définies de composition du milieu et d'apports en nourriture, les microcrustacés sont disponibles tout au long de l'année. Cependant, des variations de la qualité des élevages existent et montrent souvent l'influence de la composition du milieu de culture sur la bonne santé de l'élevage (Cowgill *et al*, 1986) ainsi que sur les résultats obtenus en toxicité (Elenndt, 1990a).

* la reproduction par parthénogénèse permet d'obtenir des microcrustacés de composition génétique très similaire: les clones utilisés et leur importance sur les performances des tests de toxicité ont été étudiés (Soares *et al*, 1992).

Les paramètres de toxicité utilisés sont variés : taux de protéines, RNA, DNA, glycogène et lipides (McKee et Knowles, 1987), glutathion-S-transférase (Leblanc et Cochrane, 1987) pour citer quelques paramètres biochimiques employés en recherche pour l'étude des daphnies.

Pour les tests d'écotoxicologie de routine, l'inhibition de mobilité à 24 ou 48 heures pour la toxicité aiguë et l'inhibition de la reproduction pour la toxicité chronique sont les paramètres les plus fréquemment utilisés.

2.3. Effets des pesticides sur des chaînes alimentaires ou sur des écosystèmes aquatiques reconstitués : microcosmes et mésocosmes

L'impact des pesticides sur le compartiment aquatique peut être évalué dans une première approche par des tests monospécifiques, avec les avantages et les inconvénients que comportent de telles évaluations (Cairns, 1983). En effet, les tests monospécifiques sont d'un usage courant et d'une réalisation relativement simple ; même si leur réalisation est méticuleuse, il ne peuvent prédire une réponse à un niveau supérieur d'organisation où plusieurs espèces peuvent interagir entre elles.

L'étape suivante consiste à simuler le mieux possible les conditions environnementales dans lesquelles évoluera la molécule lors de son relargage dans l'environnement : pour cela des reconstitutions d'écosystèmes aquatiques sont créés en laboratoire ou sur le terrain.

Les microcosmes sont des reconstitutions d'écosystème aquatique où seulement quelques éléments de la chaîne trophique sont représentés ; les sédiments sont généralement présents pour l'étude de l'adsorption des pesticides (Warwick, 1990).

Les mésocosmes, sont des installations d'un volume plus important (de 20 à 40 m³) que les microcosmes ; ils contiennent également plusieurs éléments de la chaîne trophique aquatique (phytoplancton-Daphnies-Poissons).

2.4. Etudes de terrain

Les études de terrain s'intéressent à l'impact d'un pesticide sur l'environnement aquatique. L'étude est réalisée par des mesures de la concentration du pesticide dans des échantillons d'eaux et/ou dans des organismes aquatiques représentatifs de l'écosystème étudié. Les organismes sélectionnés sont habituellement choisis pour leur capacité de bioaccumulation des produits chimiques étudiés (la filtration importante des eaux par les moules d'eaux douces en font des bioaccumulateurs potentiels pour les métaux lourds par exemple). Ces échantillons sont prélevés dans des zones proches de sites "historiques" de pollutions comme des stations de traitement du bois (Gifford *et al*, 1995) afin de déterminer l'impact de ces produits sur la faune aquatique. Il est effectivement important de repérer les sources de pollutions probables pour un pesticide donné : dans le cas de la préservation du bois, les stations de traitement du bois ont été plusieurs fois responsables de la pollution accidentelle d'eaux de surface par des pesticides (Wong et Crosby, 1981).

Des organismes indicateurs de pollution peuvent aussi être utilisés dans des études de terrain pour suivre la pollution accidentelle ou chronique de certaines rivières ; ces organismes sont également choisis en fonction de leur propriété d'accumulation du toxique étudié et permettent de détecter des pollutions accidentelles même si celles-ci ont eu lieu plusieurs jours auparavant (Mouvet *et al*, 1992).

3. Compartiment terrestre

L'étude de l'impact d'un produit chimique sur le compartiment terrestre est un domaine relativement récent. Les études concernant l'évaluation de la pollution des sols mettent en jeu des essais biologiques réalisés sur des microorganismes du sol, sur des micro et macroinvertébrés comme les vers oligochètes et sur des plantes supérieures. L'impact des polluants sur des fractions de chaînes alimentaires terrestres sont également à l'étude.

3.1. Effets d'un pesticide sur les microorganismes du sol.

L'activité métabolique d'un sol se mesure à sa capacité à minéraliser des substances organiques ; la mesure du CO₂ dégagé est donc un paramètre sensible permettant d'évaluer l'activité de sa microflore : tout impact d'un polluant sur celle-ci peut être ainsi détecté par des méthodes de marquage de substrat par exemple (Van Beelen et Fleuren-Kemilä, 1993). Des recherches récentes s'intéressent également à la mesure de l'activité enzymatique de la microflore du sol, activité de la déhydrogénase, comme paramètre de qualité d'un sol (von Mersi et Schinner, 1991).

3.2. Effets d'un xénobiotique sur les organismes du sol : tests monospécifiques

3.2.1. Impact sur la faune : invertébrés

Les premiers tests concernant l'impact sur la faune du sol ont été réalisés sur les vers de terre; les critères de toxicité pris en compte sont essentiellement la létalité (ligne directrice OCDE 207, 1984) et la reproduction (ISO 11268, partie 2).

3.2.2. Impact sur la flore : plantes supérieures

Comme les microalgues pour le compartiment aquatique, les plantes supérieures représentent les producteurs primaires du compartiment terrestre utilisés pour le contrôle des polluants environnementaux depuis le début du siècle : des applications récentes dans le contrôle et l'évaluation de la toxicité des sols contaminés ont été développées.

Les paramètres de toxicité les plus fréquemment utilisés dans les tests normalisés sont l'inhibition de la croissance des racines (AFNOR X 31-203, 1993) ou l'inhibition de la germination de semences (AFNOR X 31-202, 1986).

D'autres paramètres de toxicité plus fondamentaux ont été développés dans des études récentes: altérations ultrastructurales des chloroplastes, baisse de l'activité photosynthétique par la mesure de la chlorophylle (Rascio *et al*, 1993) ou bien altérations du matériel génétique (McMurphy et Rayburn, 1993).

3.3. Effets d'un xénobiotique sur la chaîne alimentaire terrestre

Ces études sont peu nombreuses en comparaison de celles réalisées dans le compartiment aquatique. Les microcosmes terrestres n'ont pas encore été standardisés ; les mésocosmes terrestres et les études de terrain sont encore rares (Wang et Freemark, 1995).

Un exemple de chaîne alimentaire terrestre peut comprendre le sol / les lombricidés (vers de terre *Lumbricus rubellus*) / les micromammifères (la musaraigne *Crocidura russula*) (Hendriks *et al.*, 1995).

La biomagnification d'un pesticide est souvent un des objectifs recherché par ces études de chaînes alimentaires terrestres : ainsi, lorsque l'on détecte la présence de pesticide dans de la viande de bétail, les voies de biomagnification et de transfert possible peuvent être le sol / le pâturage / le bétail (Cullen et Connell, 1994).

Des comparaisons entre certains facteurs de bioconcentrations (BCF) que l'on trouve dans des chaînes alimentaires aquatiques et des chaînes alimentaires terrestres montrent que les résultats divergent souvent entre ces deux compartiments (Romijn *et al.*, 1994).

4. Compartiment aérien

La reconnaissance par la communauté scientifique des problèmes de qualité de l'air intérieur et de son impact probable (E.C.A., 1989) sur la santé humaine a été l'objet de nombreuses recherches durant ces dernières années.

Ces pollutions sont de natures diverses :

- physiques : particules et fibres.
- chimiques : fumée de cigarette, formaldéhyde, composés organiques volatils, substances gazeuses (CO₂, CO, NO₂, O₃, SO₂..), odeurs, biocides...
- biologiques : larves d'insectes...

Ainsi, les sources d'émissions de polluants atmosphériques dans l'air intérieur ont été recherchées (Sanchez *et al.*, 1987), notamment les pollutions d'origines chimiques provenant de matériaux de construction comme le bois traité ; diverses méthodologies dont des études de modélisation en laboratoire et des études de "terrain" permettent une approche des taux réels d'émission qui peuvent exister dans les locaux d'habitation.

L'étude des taux d'émission de ces substances potentiellement toxiques dans l'air est d'un intérêt fondamental puisqu'elle permettra d'établir une prévention de la contamination et pourra aussi aider les architectes ou les ingénieurs du bâtiment dans leur choix de matériaux sans risques pour la santé humaine (Colombo *et al.*, 1990).

Cependant, les connaissances concernant les émanations de pesticides à partir de bois traités dans l'air intérieur sont encore peu développées tout comme le sont les effets des concentrations aériennes de pesticides sur la santé humaine (Shenk *et al.*, 1993).

4.1. Simulation du comportement d'un pesticide dans l'air intérieur par un modèle d'enceintes

La modélisation du comportement d'un pesticide dans l'air ambiant permet d'évaluer les concentrations du pesticide dans l'air que l'on est susceptible de trouver dans des conditions réelles.

Les avantages d'une modélisation sont essentiellement les suivants :

- elle permet de contrôler de manière précise les paramètres environnementaux (hygrométrie, température, renouvellement de l'air..) afin d'étudier leur influence sur les émanations de substances volatiles dans l'air ambiant.
- elle permet d'être appliquée pour des études prospectives afin d'évaluer les risques éventuels que pourront poser de nouveaux matériaux.

Il ne serait pas objectif de ne pas citer les désavantages de la simulation :

- elle ne peut reproduire complètement les caractéristiques d'un local d'habitation qui comprend souvent des matériaux non inertes qui peuvent adsorber de manière significative les pesticides (moquette, tissus, crépis..).
- elle ne peut tenir compte des changements climatiques (même si ceux-ci sont faibles) qui peuvent avoir lieu dans des locaux d'habitation en fonction des saisons.

Plusieurs types d'enceintes sont employées pour simuler les émanations de pesticides ou de composés organiques volatils (COV) dans l'air de locaux d'habitation ou de greniers :

- * des enceintes en général en verre borosilicaté de petite dimension, inférieure à 10 litres (Van Leemput *et al*, 1987 ; Prueger et Pfeiffer, 1994 ; Jayjock *et al.*, 1995)
- * des enceintes d'une dimension moyenne d'environ 1 m³ (Horn et Marutzky, 1993)
- * des enceintes d'une dimension proche de la réalité voir des pièces d'habitation tests de plusieurs dizaines de m³ spécialement traitées (Shenk *et al*, 1993).

4.2. Détection de pesticide dans l'air ambiant de locaux habités

Les méthodes de "terrain", c'est à dire les méthodes dont le but est de déterminer les concentrations de pesticides trouvées dans l'air intérieur de locaux d'habitations sont, tout comme les études de laboratoire, rares. Les problèmes de santé (maux de têtes, nausées...) de personnes vivant dans des habitations construites en bois ont suscité de telles études.

Les méthodes de prélèvements de ces pesticides font appel à des pompes placées à des emplacements spécifiques dans les locaux tant en hauteur (70 cm de hauteur pour les enfants, 160 cm pour les adultes par exemple) qu'en localisation (cuisine, chambre). Elle ont pour but d'évaluer les concentrations atmosphériques réelles de pesticides dans l'air ambiant auxquelles sont exposées les populations après un traitement particulier, termiticide par exemple (Asakawa *et al*, 1994).

Les études de détection de pesticides dans l'air intérieur et dans les poussières des maisons ont mis en évidence d'importantes concentrations de pesticides adsorbés sur les poussières (Roinestad *et al*, 1993).

4.3. Paramètres externes influençant le relarguage d'un pesticide dans l'air

Les paramètres externes influençant les émanations de pesticides dans l'air ambiant peuvent être classés en paramètres inhérents aux propriétés physico-chimiques de la molécule ou en paramètres climatiques externes comme la température, l'hygrométrie ou bien encore le renouvellement de l'air ambiant.

Les paramètres inhérent à la molécule et influençant son émission dans l'air sont sa tension de vapeur (Dobbs et Grant, 1980), son coefficient de partage air/eau ou air/sol si l'on s'intéresse à la volatilisation de la molécule à partir du compartiment aquatique ou atmosphérique (Watanabe, 1993).

Les paramètres climatiques qui jouent un rôle important dans la volatilisation des pesticides sont la température (Asakawa *et al*, 1994), l'hygrométrie et la ventilation ou le taux de renouvellement de l'air (Tichenor et Guo, 1991).

4.4. Evaluation du risque sur la santé humaine

Les conséquences de la présence de certaines concentrations de pesticides dans l'air sur la santé humaine commencent à être étudiées ; ainsi Krause *et al* (1987) ont étudié la corrélation entre la présence de pentachlorophénol dans l'air intérieur et sa concentration dans les urines des habitants concernés : des concentrations non négligeables de pesticide dans les urines ont été trouvées. Cependant, ces études restent rares et la relation existant entre la présence du pesticide dans l'air et les pathologies développées par les habitants sont souvent peu abordées.

CHAPITRE 4 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DES FONGICIDES ÉTUDIÉS DANS LA PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Le pentachlorophénol et le pentachlorophénate de sodium

1.1. Généralités et réglementation

Les deux formes du même fongicide, la forme moléculaire pentachlorophénol (PCP) et la forme dissociée pentachlorophénate (PCPNa) sont utilisées depuis de nombreuses années en préservation du bois ; leur usage a été sévèrement contrôlé ces dernières années suite à de nombreuses études démontrant la toxicité de ces molécules pour l'homme et l'environnement. Ceci a entraîné une forte diminution des quantités de pentachlorophénol vendues dans le monde et une restriction des domaines où le fongicide est encore employé. Ainsi, les applications très larges de ce fongicide, utilisé auparavant comme algicide, bactéricide, fongicide, herbicide, insecticide et mollusquicide, se sont considérablement réduites ; l'emploi du pentachlorophénol étant actuellement essentiellement réservé en France à la préservation des bois et à l'imprégnation des fibres et textiles lourds.

Les premières mesures de restriction de l'emploi du pentachlorophénol et de son sel de sodium ont été prises aux Etats-Unis en 1987 ; l'E.P.A. a interdit l'usage du PCP excepté pour la préservation du bois.

En Europe, une directive européenne datant de Mars 1991 (J.O.C.E. L 85, 1991) remplaçant toutes les réglementations nationales des états membres, prévoit des restrictions d'usages : "le PCP, ses sels et ses esters ne sont pas admis en concentrations égales ou supérieures à 0.1% masse dans les substances et préparations mises sur le marché". Toutefois par dérogation, cette directive n'est pas applicable pour le traitement des bois, l'imprégnation de fibres lourdes ou une utilisation comme agent de synthèse. Il est également spécifié que le PCP ne doit pas contenir plus de 4 ppm d'hexachlorodibenzoparadioxine (H_6CDD).

L'emploi du PCP est réservé aux professionnels. Les bois traités ne peuvent être utilisés à l'intérieur des immeubles ainsi que pour la confection de matériaux à usage alimentaire. Depuis 1985, l'Allemagne a interdit complètement l'utilisation de ce pesticide en s'appuyant sur l'article 100 A.4 lui permettant d'appliquer des dispositions nationales justifiées par des exigences importantes relatives à la protection du milieu de travail ou de l'environnement. Cette interdiction dans un pays de la C.E.E. a fait jurisprudence et a été acceptée par la commission européenne le 10 juin 1992.

Une note de consultation du journal officiel des communautés européennes (J.O.C.E. L 315, 1994a), demande que l'on établisse un rapport sur le PCP afin de décider s'il est possible d'interdire l'emploi de cette substance dans toute l'union Européenne. Enfin, le journal officiel de décembre 1994 (J.O.C.E. L 316, 1994b) a inclut le PCP dans la liste 1 de la directive 76/464/CEE concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique ; il justifie également la position allemande sur l'interdiction du PCP en Allemagne.

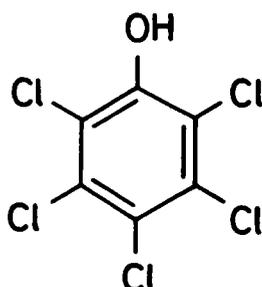
1.2. Identité et propriétés physico-chimiques

1.2.1. Les différentes formes moléculaires

Le pentachlorophénol existe sous deux formes moléculaires: la forme non dissociée appelée pentachlorophénol et la forme dissociée pentachlorophénate, le plus souvent utilisée sous forme de pentachlorophénate de sodium. Chacune de ces formes moléculaire possède des propriétés physico-chimiques particulières et ont par conséquent des références CAS différentes.

PENTACHLOROPHENOL CAS n° 87-86-5

Structure chimique



Forme moléculaire C_6HCl_5O , masse moléculaire 266.34

Aspect du PCP pur: formé de cristaux.

Masse volumique réelle à 20°C: 1.85 g/cm³

Point de cristallisation : PCP pur 191°C, PCP technique 160 à 181 °C

Point d'ébullition : 310°C à 754 mm Hg

Coefficient de partage N-octanol/eau : log P = 3.3 (WHO,1987)

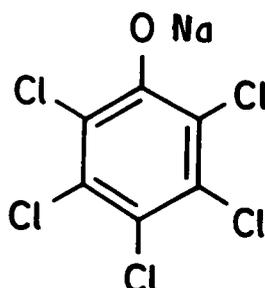
Tension de vapeur : à 20°C, $1.5 \cdot 10^{-5}$ mm Hg

Tension de vapeur saturante à 20°C : 220 µg/m³

pKa= 4.7

PENTACHLOROPHENATE DE SODIUM CAS n° 131-52-2

Structure chimique



Forme moléculaire : C_6Cl_5ONa , masse moléculaire 288.3

Masse volumique réelle à 20°C : 2,0 g/cm³

Point de cristallisation : PCPNa cristallise avec 1 H₂O

1.2.2. Ionisation du PCP

Le pentachlorophénol possède un pKa de 4.7 à 25°C; sa courbe d'ionisation est la suivante:

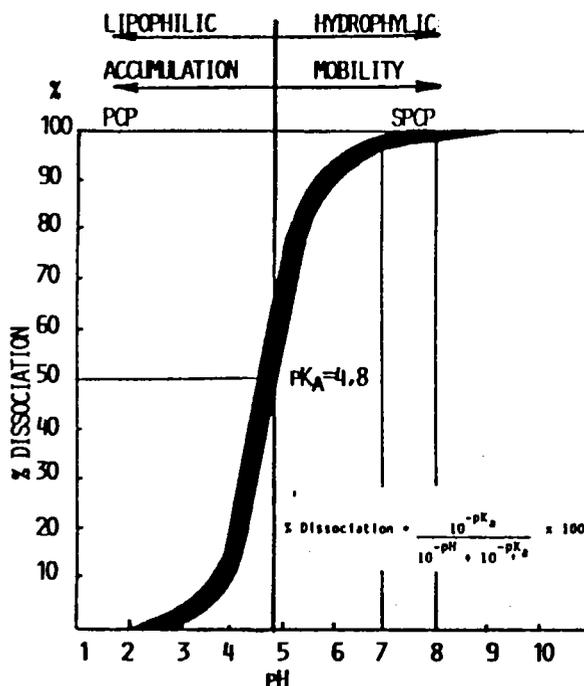


Figure 8 : Courbe d'ionisation du PCP en fonction du pH

De pH 3 à pH 7, il y a une augmentation quasi-constante de la dissociation liée à l'alcalinité ou à la polarité du solvant. A pH 6.5, en présence d'une quantité suffisante d'hydroxyde, la majorité du PCP est sous forme ionisée.

Si l'on se réfère à l'équation gouvernant la dissociation de la molécule dans l'eau :

$$\% \text{ dissociation} = \left(\frac{10^{-\text{pKa}}}{10^{-\text{pH}} + 10^{-\text{pKa}}} \right) \times 100.$$

A pH 6.5, pH le plus faible obtenu dans les expérimentations de toxicité aquatique, la proportion PCP ionique/PCP moléculaire calculée par cette l'équation donne un rapport de 98.4/1.6 en faveur du pentachlorophénate.

1.2.3. Solubilité des deux formes du pesticide

La solubilité en fonction du pH et de la température peut être calculée par l'équation suivante: $\text{Log } S \text{ (g/l)} = A \text{ (pH)} + B$. Il est important de noter la différence importante d'hydrosolubilité entre le PCP et le PCPNa :

	Température en degrés Celsius °C				
	0°C	5°C	20°C	30°C	50°C
PCP g/l	0.005	0.006	0.014	0.019	0.035
PCPNa g/l		190		260	300

Tableau 3 : solubilité du PCP et du PCPNa dans l'eau en fonction de la température

1.2.4. Les impuretés

Le PCP technique contient un nombre important d'impuretés dont la teneur dépend du procédé de fabrication. Ces impuretés sont essentiellement d'autres chlorophénols et plusieurs microcontaminants dont principalement des polychlorodibenzodioxines (PCDDs), des polychlorodibenzofuranes (PCDFs), des polychlorodiphényles éthers, des polychlorophénoxyphénols, de l'hexachlorobenzène et des polychlorobiphényles (PCBs).

La présence de la très toxique 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*para*-dioxine a été confirmée dans des échantillons commerciaux de PCP lors d'une étude circulaire (IARC, 1987).

Les dioxines "fortement chlorées" sont plus caractéristiques des impuretés du pentachlorophénol technique; les hexachlorodibenzo-*para*-dioxines (HXCDD) 1,2,3,6,7,8 et 1,2,3,7,8,9 prédominent dans des échantillons commerciaux de PCP et de PCPNa techniques et l'octachlorodibenzo-*para*-dioxine (OCDD) est présente dans des concentrations assez élevées dans des produits techniques non purifiés (WHO, 1987). Ceci a été confirmé par Grochowalski et Gorski (1990) qui ont trouvé des concentrations de dioxines dans les PCP techniques utilisés en Pologne comprises entre 361 et 1723 ppm pour l'octachlorodibenzo-dioxine, entre 119 et 562 ppm pour l'heptachlorodibenzo-dioxine (HPCDD) et entre 1 et 38.5 ppm pour les hexachlorodibenzo-dioxines (HXCDD).

La toxicité des dioxines dépend du nombre de chlore mais aussi de leur position sur le noyau aromatique. Des facteurs d'équivalence de toxicité ont été fixés par l'E.P.A. en prenant comme référence la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine (Toxicity Equivalent factor = 1). Actuellement, la teneur en hexachlorodibenzoparadioxine dans le PCP technique est réglementée et ne doit pas dépasser 4 ppm.

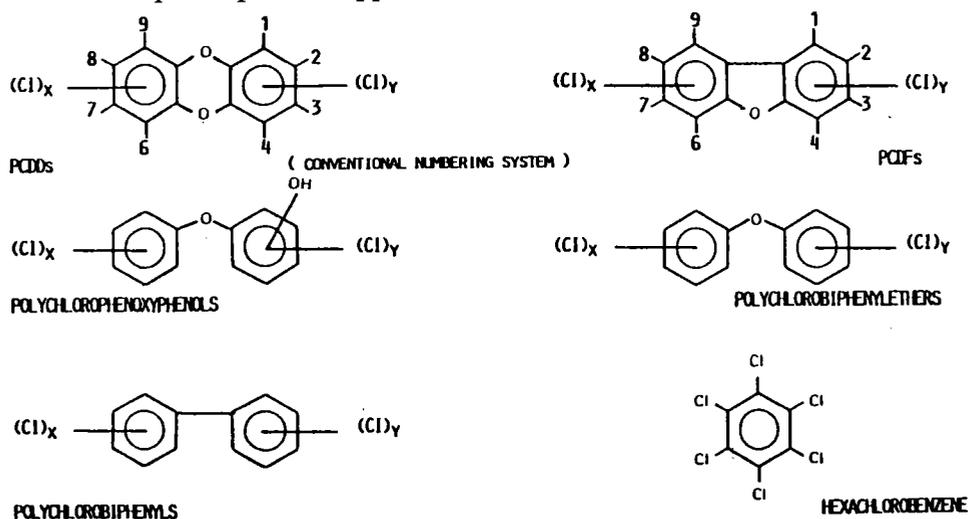


Figure 9 : impuretés présentes dans le pentachlorophénol technique (Ozanne, 1987)

1.3. Mode d'action toxique

Le mode d'action du pentachlorophénol est connu ; il agit, comme tous les chlorophénols, comme un découplant de la phosphorylation oxydative (Kozak *et al.*, 1979).

1.4. Voies de transport du pentachlorophénol dans l'environnement

Plusieurs paramètres peuvent influencer la distribution et la disponibilité du PCP dans les différents compartiments de l'environnement ; on peut considérer que les voies de transport principales pour les trois compartiments eau/sol/air sont :

- la volatilisation du pesticide lors de sa fabrication, à partir de matériaux traités ou à partir de sols ou d'eaux contaminés
- le lessivage du pesticide lors du traitement des bois ou lors d'intempéries (pluies, orages..)
- l'adsorption modulant la migration du pesticide dans les sols et les sédiments.

A. La volatilisation

La production de PCP se fait soit par chloration de phénols, soit par hydrolyse d'hexachlorobenzène (WHO, 1987). Les émissions de PCP dans l'air lors de la fabrication de 2000 tonnes de PCP et 2000 tonnes de PCPNa ont été évaluées et sont reportées dans le tableau suivant:

	PCP	PCPNa
PCP	18	65
Autres chlorophénols	9	5
Hexachlorobenzène	/	105
Autres chlorobenzènes	1	700
OCDD	0.2	0.2

Tableau 4 : Valeurs d'émission dans l'air (en kg) de produits phénoliques et non phénoliques lors de la fabrication de 2000 tonnes de PCP et PCPNa, d'après BUA. (1986).

Les émanations de PCP à partir de matériaux traités et notamment de bois font également partie des sources possibles d'émission de PCP dans l'air et seront étudiées de manière approfondie dans la partie expérimentale. Il est important de noter que pour le compartiment atmosphérique, les risques les plus importants pour la santé humaine sont ceux qui concernent la qualité de l'air intérieur.

Enfin, une troisième voie de transport du PCP vers le compartiment aérien peut être la volatilisation de la molécule à partir d'un sol contaminé ou d'une eau contaminée. Les études sur ce sujet sont encore rares ; Klöpffer *et al* (1982) ont montré que la volatilisation à partir de l'eau dépend essentiellement de deux facteurs : le pH et la température.

B. Le lessivage

La voie de contamination des eaux par le pentachlorophenol peut être le lessivage de bois traités par des eaux de pluies. Une autre voie minoritaire peut être le passage du PCP atmosphérique dans les eaux de surface. Dans la partie expérimentale, une étude de "délavage forcé" en laboratoire a été menée afin d'évaluer cette source de contamination pour l'environnement.

Des études portant sur des écoulements d'eaux ayant lieu dans des scieries du Canada après de violents orages montrent que l'on trouve des quantités non négligeables de PCP dans les eaux de lessivage (Krahn et Shrimpton, 1988).

Les usines de traitement des bois contribuent de manière significative à la contamination des eaux de surface par le pentachlorophénol ; les concentrations détectées dans les eaux de surface peuvent aller jusqu'à 10.5 mg/l dans des ruisseaux pollués situés aux environs de sites de traitement (Fountaine *et al*, 1976), mais dans la plupart des cas, les échantillons d'eaux analysés contiennent des concentrations inférieures à 10 µg/l et la majorité inférieure à 1 µg/l.

C. L'adsorption

Avant d'atteindre les eaux souterraines, le pesticide va migrer dans les sols : cette migration dépend de la nature du sol et de divers facteurs comme l'adsorption sur les particules du sol, la solubilité dans l'eau, le pH, la percolation, les quantités de matières organiques.

L'adsorption d'un pesticide dans un sol joue un rôle très important car elle détermine la biodisponibilité et donc l'activité du produit. En effet, une substance adsorbée sera en règle générale, moins biodégradable et également moins active ; cependant un composé adsorbé malgré une activité réduite, aura un effet prolongé (Choi et Aomine, 1972). L'adsorption du PCP dans un sédiment par exemple dépend des propriétés de ce sédiment (force ionique, teneur en carbone organique, pH de la phase aqueuse..) mais aussi des caractéristiques physico-chimiques du pesticide. Ainsi, le comportement des deux formes du pesticide sera différent ; l'adsorption de la forme dissociée est influencée par les forces électrostatiques ainsi que par le pH de la phase aqueuse tandis que l'adsorption de la forme moléculaire PCP est similaire à d'autres composés hydrophobes (Jafvert, 1990).

L'adsorption est un phénomène qui intervient dans les eaux naturelles ; la présence de matières en suspension et de sédiments permet une adsorption du pentachlorophénol et donc une baisse de la biodisponibilité de celui-ci pour les espèces vivantes dans la colonne d'eau.

Le principe de l'adsorption du PCP sur différents substrats comme la kaolinite ou la bentonite SD-3 peut être appliqué à la purification des eaux contenant ce pesticide (Fabre *et al*, 1990).

1.5. Effets du pentachlorophénol et du pentachlorophénate de sodium sur l'environnement

1.5.1. Effets sur le compartiment aquatique

A. Tests monospécifiques

Le PCP était à l'origine employé pour ses propriétés algicides et mollusquicides ; le risque que présente le PCP pour les organismes aquatiques est reconnu depuis longtemps et a été à l'origine de nombreuses études écotoxicologiques dès les années 70 (Adema et Vinks, 1981). De nombreux essais monospécifiques ont été réalisés sur le pentachlorophénol pur et le pentachlorophénol technique ainsi que sur son sel de sodium. Cependant avant de présenter ces résultats et pour des raisons de clarté, nous allons développer les valeurs classiquement retenues dans les dossiers d'évaluations toxicologiques. Ces valeurs concernent la toxicité du pentachlorophénol sur les poissons, algues et crustacés (sans distinction de sa pureté et de sa forme).

ALGUES

CE 50-96H *Chlorella vulgaris* = **10.3 mg/l** norme OCDE 201 (Shigeoka *et al.*, 1988)

CE 50-96H *Selenastrum capricornutum* Printz = **0.42 mg/l** selon norme OCDE 201 (Shigeoka *et al.*, 1988)

MICROCRUSTACÉS

CE 50-24H *Daphnia magna* comprise entre **0.50 mg/l et 1.5 mg/l** d'après la littérature et quelque soit la norme utilisée (Stephenson *et al.*, 1991a)

CE 50-48H *Daphnia magna* comprise entre **0.25 mg/l et 0.8 mg/l** d'après la littérature et quelque soit la norme utilisée (Stephenson *et al.*, 1991a)

POISSONS

CL 50-96H poissons (truite *Salmo gairdneri*, vairon *Pimephales promelas*, bluegill *Lepomis macrochirus*, guppy *Poecilia reticulata*, poisson zèbre *Brachydanio rerio*) comprise entre **0.035 mg/l et 1.05 mg/l** selon la taille, l'espèce, et la norme sélectionnée (Vittozi et Angelis, 1991).

Pour les microalgues chlorophylliennes, l'ensemble des résultats présente une assez forte hétérogénéité : celle-ci s'explique par la variabilité des espèces utilisées et par les différences existant entre les méthodes expérimentales. Des essais algues "inhibition de croissance" selon la ligne directrice de l'OCDE donnent des résultats de toxicité croissant pour les chlorophénols en fonction du degré de chloration du phénol vers le pentachlorophénol : on trouve ainsi des valeurs de CE 50 pour le PCP de 0.42 mg/l pour *Selenastrum capricornutum* et 10.3 mg/l pour *Chlorella vulgaris* (Shigeoka *et al.*, 1988). De manière générale, les résultats de toxicité sont influencés par les facteurs expérimentaux comme le pH qui gouverne le rapport entre la forme dissociée et la forme non dissociée ou bien encore la dureté du milieu (Smith *et al.*, 1987).

Pour les invertébrés aquatiques, la toxicité du PCP et du PCPNa varie selon les organismes entre 0,068 mg/l et 10,39 mg/l (WHO, 1987). D'une manière générale les embryons et les larves sont plus sensibles que les adultes.

Les études de toxicité aquatique se sont essentiellement portées sur des annélides (vers marins), des mollusques (huitres), des microcrustacés (Daphnies) et des rotifères (Brachyonus).

- les annélides : Rubinstein (1978) a observé une baisse de la nutrition pour des concentrations de 100 µg PCPNa/l.

- les mollusques marins, Shofer et Tjeerdema (1993) ont étudié la cinétique de bioconcentration et de dépuración du PCP chez une huitre du pacifique *Crassostrea gigas* : les facteurs de bioconcentration pour 5 heures d'intoxication vont de 25 à 44 pour des doses inférieures à 1 mg par litre .

- les crustacés branchiopodes : les études sont nombreuses et le PCP est souvent utilisé comme toxique de référence ; Stephenson *et al.* (1991a) a comparé la toxicité aiguë du PCP pur à celle du PCP technique sur trois espèces de daphnies. Les résultats de cette étude sont étonnants : le PCP technique apparait comme moins toxique, ou tout aussi toxique, que le PCP pur. Stephenson avance l'hypothèse que les contaminants présents dans le produit technique peuvent baisser la biodisponibilité du PCP. Les mêmes auteurs ont également étudié la toxicité chronique et les conclusions montrent ici que le pentachlorophénol pur a une toxicité inférieure, à concentrations nominales équivalentes, à celle du PCP technique (Stephenson *et al.*, 1991b).

- les rotifères : Snell *et al.* (1991) a décrit l'influence de paramètres comme l'âge des oeufs, la température et la salinité sur la sensibilité du rotifère *Brachyonus calyciflorus* ; le PCPNa possède ainsi une toxicité supérieure à 10 et 30°C par rapport aux résultats obtenus à 20°C ; Liber et Solomon (1994) ont évalué la toxicité du PCP et du TCP (tétrachlorophénol) sur des daphnies et des rotifères : ils trouvent une toxicité plus importante pour le PCP comparativement au TCP ainsi qu'une plus grande sensibilité des daphnies vis-à-vis de ces pesticides. Ferrando *et al.* (1993) ont montré également un effet significatif d'une exposition court terme à des concentrations en PCPNa supérieures à 1 mg/l sur la filtration et le taux d'ingestion du rotifère *Brachionus calyciflorus*.

Enfin, les études sur tests aquatiques monospécifiques ont concerné la toxicité du pentachlorophénol sur les vertébrés aquatiques et notamment sur les poissons. Gupta *et al.* (1982) a étudié la toxicité du phénol, du PCP et du PCPNa sur un téléostéen d'eau douce *Lebistes reticulatus* : il trouve une toxicité plus faible pour le phénol (CE 50 = 50 mg/l) et quasiment égale pour les deux formes de pentachlorophénol (CE50 inférieurs à 1mg/l). Depuis ces premiers travaux, le métabolisme du pentachlorophénol chez les poissons a été étudié (Stehly et Hayton, 1989) : les voies d'élimination sont essentiellement la sulfoconjugaison et dans une moindre mesure, la glucuroconjugaison.

B. Tests plurispécifiques et étude d'écosystèmes reconstitués (microcosmes/mésocosmes)

Le comportement d'un pesticide dans l'environnement peut s'évaluer par des tests aquatiques monospécifiques comme ceux cités précédemment ; ces tests nous renseignent sur la toxicité de la molécule dans le compartiment aquatique, sur l'influence des critères expérimentaux sur la toxicité et sur le métabolisme du pesticide. Cependant ceux-ci sont assez restrictifs puisque les conditions expérimentales sélectionnées pour les essais ne sont pas toujours représentatives des conditions du terrain ; pour ces raisons les essais d'écosystèmes reconstitués permettent de compléter l'étude.

Pour les microcosmes aquatiques, Fisher (1990) a étudié l'adsorption du PCP sur deux types de substrat : un sédiment "organique" (contenant 3% de carbone organique) et un sédiment "inorganique" (0% de carbone organique) : le carbone organique influence fortement l'adsorption du PCP et semble faciliter la dégradation de celui-ci sur les sédiments et dans l'eau.

Blake et Merlin (1990) ont évalué l'impact du PCP dans un microcosme contenant des végétaux, des bactéries et des sédiments ; ils ont constaté un développement de souches bactériennes résistantes au PCP et une inhibition de l'activité photosynthétique des différents groupes de végétaux.

Des études en milieu marin à plus grande échelle (mésocosme de 70 m³ ; Yunker *et al.*, 1990) montrent que des concentrations nominales de PCP de 10 et 100 µg/l baissent de l'ordre de 30 % après 25 jours et ont comme effet principal une inhibition de la croissance du phytoplancton.

1.5.2. Effets sur le compartiment terrestre

A. Tests monospécifiques

Van Gestel *et al.* (1989) a trouvé que la maturation (production de cocons) des vers de terre *Eisena foetida andrei* est inhibée par des doses de pentachlorophénol de l'ordre de 30 mg/kg de terre sèche ; les valeurs dans les mêmes conditions trouvées pour le cuivre et la 2,4-dichloroaniline sont respectivement de 60 et 56 mg/kg de terre sèche.

Kammenga *et al.* (1994) a exposé douze espèces de nématodes, appartenant à des taxons et des groupes écologiques différents au pentachlorophénol et au cadmium : les espèces ont présenté des différences de sensibilité importantes se traduisant par des CL 50 du PCP allant de 0,13 µg/l à 9,2 mg/l. Les nématodes étant en général plus tolérant au cadmium.

Bellin et O'Connor (1990) ont étudié l'absorption de ¹⁴C-PCP par plusieurs espèces de végétaux dont la fétuque *Festuca arundinacea*, la laitue *Lactuca sativa* et la carotte *Daucus carota* ; des doses peu importantes de PCP ont été détectées dans ces végétaux : en fait une biodégradation du PCP dans le sol a limité la biodisponibilité du pesticide pour les plantes.

B. Tests plurispécifiques et écosystèmes reconstitués

Ces études sont encore rares ; Gruttke *et al.* (1986) ont évalué la bioaccumulation du PCPNa dans un modèle de chaîne alimentaire commune des sols. Cette chaîne comprend des levures contaminées par du ¹⁴C-PCPNa (0.87 µg ¹⁴C-PCPNa/mg de poids sec) qui ont servi de nourriture à des collemboles (*Folsomia candida*) accumulant jusqu'à 0.37 µg PCP/mg de poids frais après 10 jours. Ces collemboles contaminés sont à leur tour ingérés par des scarabées (*Nebria brevicollis*) qui présentent une concentration de 4.5 mg de PCP/kg de poids frais à l'équilibre du jour 4 au jour 12. On constate ainsi une faible accumulation qui pourrait engendrer des effets sur les prédateurs dans des cas de contaminations à long terme.

Schuytema *et al.* (1993) a intoxiqué des grenouilles de l'espèce africaine *Xenopus laevis* par un apport de nourriture constitué de vers contaminés contenant des concentrations de PCP comprises entre 0.065 et 2.6 mg PCP/g pendant 27 jours ; il n'y a pas eu de mortalité chez les xénopes ni de bioaccumulation significative. Le seul effet observé a été l'arrêt de prise de

nourriture au bout de 3 semaines pour le groupe de grenouille nourries par 15 µg PCP/g grenouille/jour : une concentration seuil de 800 µg PCP/l d'eau a pu être estimée comme pouvant donner des effets défavorables sur les xénopes.

1.6. Génotoxicité du pentachlorophénol

1.6.1. Mutagénéicité

Chez les bactéries, le PCP donne des résultats équivoques dans les tests d'altération de l'ADN et souvent des résultats négatifs pour l'induction de mutations.

Pour les levures, le PCP induit des mutations ainsi que des conversions de gènes mitotiques. Il n'induit pas d'aneuploïdie ou de mutations récessives chez *Drosophila melanogaster* (IARC, 1991).

Le PCP ne provoque pas de mutations sur le locus *hprt* dans les cellules de hamster chinois V79 (Jansson et Jansson, 1991).

La tétrachlorohydroquinone, métabolite du PCP retrouvé dans des rats ou souris intoxiqués par le pesticide, provoque *in vitro* une augmentation significative des cassures simple brin de l'ADN dans les cellules de hamster chinois CHO (Ehrlich, 1990).

Il possède également une faible activité mutagène révélée par le spot test chez la souris (Fahrig *et al*, 1978).

Des augmentations significatives de la présence de chromosomes dicentriques et de fragments acentriques ont été signalées dans les lymphocytes de travailleurs exposés professionnellement au PCP, ceci sans augmentation toutefois de la fréquence des échanges de chromatides soeurs (Bauchinger *et al*, 1982).

1.6.2. Cancérogénicité

Des études de cancérogénicité portant sur des rats exposés à des concentrations de 30 µg de PCP technique/kg de poids corporel/jour durant 24 mois n'ont pas montré d'augmentation significative de tumeurs en comparaison des témoins (Schwetz *et al*, 1974)

Des études plus récentes sur souris B6C3F1 ont été menées par le NTP (programme toxicologique national des Etats-Unis ; McConnell *et al*, 1989) ; elles ont consisté à nourrir les souris par du pentachlorophénol technique à raison de 100 et 200 mg/kg de nourriture et par une formulation technique de pentachlorophenol "dowicide EC-7" à raison de 100, 200 et 600 mg/kg de nourriture pendant deux ans. Cela correspond respectivement à des doses de PCP ingérées par jour de 18 mg/kg et 35 mg/kg pour le pentachlorophenol technique et de 18, 35 et 116 mg/l pour le Dowicide E7.

Les animaux sont sacrifiés lorsqu'ils sont âgés de 112 semaines ; la survie a été la même dans les groupes traités et les groupes témoins. Les effets sur le poids des animaux comparativement aux témoins ont été négligeables la première année et seulement observables la deuxième année chez les souris femelles dont le régime contenait la dose la plus élevée de Dow E7 (600 ppm). Des néoplasmes ont été observés dans trois organes : le foie, la glande surrénale et l'endothélium vasculaire. Les résultats de cette étude montrent que le PCP technique et le Dowicide E7 sont cancérogènes chez la souris et qu'ils peuvent avoir des effets néoplasiques sur différents tissus.

En ce qui concerne les impuretés et notamment l'hexachlorodibenzo-*para*-dioxine, connue pour être un contaminant du PCP technique, une mixture de H₆CDD a causé une augmentation significative de cancers dans le foie de rats et souris femelles (McConnel *et al*, 1989).

Des études épidémiologiques portant sur une cohorte d'ouvriers travaillant dans des scieries en Finlande, 721 hommes et 502 femmes employés au minimum 1 an pendant la période 1945-1961, ont été menées (Jäppinen *et al*, 1989). Les incidences de cancer durant la période 1953-1980 ont été évaluées ; il y a eu 90 cas de cancer chez les hommes et 55 chez les femmes. Certains types de cancer sont apparus en excès par rapport à la population non exposée dont notamment des cancers de la peau, de la langue, de la bouche et du pharynx. Les produits de traitement utilisés dans l'industrie du bois finlandaise étaient durant cette période constitués principalement de 2,3,4,6-tétrachlorophénol et seulement de 10% en masse de pentachlorophénol.

Le pentachlorophénol est classé par l'IARC comme carcinogène ("sufficient evidence") pour les expérimentations animales et non carcinogène ("inadequate evidence") pour l'homme : ceci le classe dans le groupe 2B "possibly carcinogenic to humans" c'est à dire pouvant être cancérigène pour l'homme.

2. Le chlorothalonil

2.1. Généralités et réglementation

Le chlorothalonil est un pesticide utilisé en agriculture pour le traitement des fruits, des légumes et des céréales, en horticulture pour le traitement des pelouses et des plantes ornementales et en préservation du bois pour le traitement des bois contre les attaques fongiques. Son utilisation dans le bois a contact alimentaire a été validé par le conseil supérieur d'hygiène (CSHPF) en juillet 1995 (B.O, 1995).

Son emploi a commencé en 1969 aux Etats-Unis : la production annuelle étant de 5000 tonnes. Le Japon est également producteur avec une production annuelle estimée à 3000 tonnes.

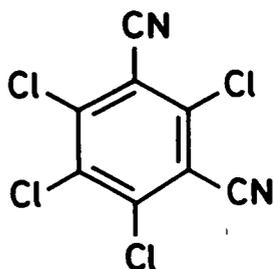
Les normes réglementaires concernant la teneur maximale en chlorothalonil dans les fruits et légumes ont été fixées par un décret paru au Journal Officiel : la teneur maximale de chlorothalonil dans les céréales est de 0.02 mg/kg (J.O., 1989), elle est de 0.2 mg/kg pour les bananes et 1mg/kg pour les tomates, melons et cornichons (J.O.,1992).

Pour la qualité de l'eau, il n'existe pas encore de réglementation fixant les valeurs limites de concentration du chlorothalonil : cependant, le Canada recommande des valeurs limites provisoires de 0.18 µg/l de chlorothalonil dans les eaux douces et de 0.36 µg/l dans les eaux de mer (Recommandations pour la qualité de l'eau au Canada, annexe 8, 1994).

2.2. Identité et propriétés physico-chimiques

CHLOROTHALONIL CAS n°1897-45-6

Structure chimique



Formule moléculaire : $C_6Cl_4N_2$, masse moléculaire 265.9

Aspect : cristaux non colorés

Masse volumique réelle à 25°C : 1.7

Point d'ébullition : 350°C

Point de cristallisation : 250°C

Coefficient de partage N-octanol/eau (Log P) : 3.83

Tension de vapeur à 20°C: $6.1 \cdot 10^{-4}$ mm Hg

Solubilité dans l'eau : faible 0.6 mg/l

2.3. Mode d'action toxique

Le mode d'action du chlorothalonil est encore mal connu ; cependant on sait qu'il réagit avec les composés sulfhydryles. Il a été retrouvé lié aux histones de cellules de veau et au noyau de cellules de foie de rats sans qu'il paraisse lié à l'ADN *in vitro* (Rosanoff et Siegel, 1981). Sa métabolisation impliquerait la formation de conjugués au glutathion qui seraient convertis au niveau du rein en thiols sous l'action de l'enzyme b-lyase (Ministère de l'environnement, 1990).

2.4. Effets du chlorothalonil sur l'environnement aquatique, terrestre et aérien.

2.4.1. Compartiment aquatique

Le chlorothalonil se montre très toxique pour les organismes aquatiques, notamment pour les poissons.

Le dossier écotoxicologique donne les résultats suivants:

CE 50-24H *Daphnia magna* = 0.13 à 0.2 mg/l (Ernst *et al.*, 1991)

CL 50-96H truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* = 0.14 mg/l (Davies, 1985)

Les mécanismes de toxicité chez les poissons ne semblent pas encore connus. La toxicité aiguë est fortement corrélée à l'activité de la glutathion S-transférase (GST), enzyme de détoxification présent dans le foie (Davies, 1985; Gallagher *et al.*, 1992).

Davies *et al.* (1994) ont obtenu des valeurs très basses de toxicité aiguë chez 4 invertébrés aquatiques : les CE 50 4 et 7 jours variaient de 3.6 à 40 µg/l et étaient comparables à celles obtenues avec les poissons.

Pour les algues, les études faites sur *Selenastrum capricornutum* 7 jours donnent une CE 50 de 8,5 mg/l pour le chlorothalonil technique (Ernst *et al.*, 1991).

Le chlorothalonil, contrairement aux dérivés organochlorés, est biodégradable lorsqu'il est présent à de faibles concentrations ; il est également peu bioaccumulable chez les poissons où les voies oxydatives de biotransformation conduisent à la formation d'un dérivé hydroxylé notamment en 4 (Davies, 1987). Ce dérivé hydroxylé (4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile) provient également de l'hydrolyse du chlorothalonil dans les eaux (Szalkowski et Stallard, 1977). Il faut noter que la toxicité aiguë de ce métabolite hydroxylé chez le rat est plus importante que celle du chlorothalonil (WHO, 1975).

2.4.2. Compartiment terrestre

Il existe peu d'études sur le devenir du chlorothalonil dans les sols. Takagi *et al.* (1991) ont observé une biodégradation facile du chlorothalonil dans les sols survenant après une première application de ce pesticide ; lors des applications suivantes et dans le cas d'applications répétées, le pesticide est moins bien dégradé et des altérations des communautés de

microorganismes du sol sont constatées. Les mêmes auteurs ont observé des compositions en mauvaises herbes nettement moins variées dans les parcelles traitées au chlorothalonil (certainement due à une concentration plus faible en azote) ainsi que la présence de végétaux résistants tel *Cyperus amuricus*.

2.4.3. Compartiment aérien

Le chlorothalonil est considéré comme un allergène puissant pouvant occasionner des dermatoses importantes (Bach et Pedersen, 1977). Pour ces raisons, Benmei *et al.* (1992) ont évalué l'exposition par voie aérienne aux vapeurs de chlorothalonil dans des laboratoires de production du pesticide. Les concentrations de pesticide atteintes dans l'air ambiant étaient relativement importantes et comprises entre 130 et 240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Les auteurs n'ont hélas pas recherché de relations entre ces concentrations aériennes et des pathologies spécifiques qu'auraient pu développer les employés exposés.

Brouwer *et al.* (1992) ont analysé le chlorothalonil dans l'air ambiant de serres horticoles et plus spécialement lors de la coupe, du triage et de l'emballage manuel d'oeillets. Plusieurs modes d'application du pesticide sont utilisés notamment la vaporisation, la brumisation et quelquefois le soupoudrage. L'exposition des employés a été évaluée et les auteurs estiment que les voies majeures d'intoxication sont le système respiratoire et la peau. Pour le système respiratoire, les concentrations aériennes détectées pendant la coupe des oeillets sont de 90 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et baissent lors du triage pour atteindre la concentration de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Des valeurs limites d'exposition (Indicative Limit Value : ILV) du chlorothalonil par voies aériennes ont été calculées sur la base de la NOEL orale (dose sans effet sur le pancréas de rats et de souris exposés oralement) avec un facteur de sécurité de 30. Cette valeur limite d'exposition est de 1 mg chlorothalonil /homme/jour ; elle a été comparée aux valeurs d'expositions calculées dans cette étude : 0.2 mg/homme/jour pendant la coupe et 0.5 mg/homme/jour pendant le triage/emballage. Le risque pour la santé des employés n'est donc pas à négliger puisque les valeurs d'exposition journalières calculées sont proches de la valeur limite d'exposition. Enfin, il est important de noter que la toxicité aiguë du chlorothalonil chez le rat est faible pour les voies orales et dermales mais se révèle importante par voies respiratoires : la DL50 orale rat est de 10000 mg/kg tandis que la DL50 par inhalation est de 4.7 mg/kg (WHO, 1975).

2.5. Génotoxicité du chlorothalonil

2.5.1. Mutagénéicité

Le chlorothalonil n'induit pas de mutations réverses chez les souches TA98 et TA100 de *Salmonella typhimurium* his⁻ en présence et en absence d'activation métabolique (Kawachi *et al.*, 1980).

Il ne s'est pas révélé mutagène chez deux espèces de microorganismes eucaryotes *Saccharomyces cerevisiae* et *Aspergillus nidulans* (De Bertoldi *et al.*, 1980).

Le chlorothalonil s'est révélé capable d'induire la transformation cellulaire sur le modèle SHE

(Syrian hamster embryocell) après traitement prolongé à des concentrations de l'ordre de 0.5 µg/ml et de potentialiser les effets transformants du benzo(a)pyrène à la manière des promoteurs de tumeurs (Bessi *et al.*, 1994).

2.5.2. Cancérogénécité

Plusieurs études *in vivo* ont concernées l'évaluation de la cancérogénécité du chlorothalonil; une étude réalisée par le National Cancer Institute (1977) a montré l'induction d'adénomes et d'adénocarcinomes de l'épithélium tubulaire rénal après l'administration de chlorothalonil à des rats mâles et femelles durant 80 semaines, à des concentrations de 5063 ppm et 10126 ppm en moyenne dans les aliments, soit 250 et 500 mg/kg/j p.c.

Enfin, les rapports de la commission d'évaluation du Ministère de l'environnement (Paris) sur la toxicité du chlorothalonil (1990-1991) concluent que la substance serait cancérogène chez le rat et plus faiblement chez la souris, avec une spécificité d'organes : rein et pré-estomac. Les hypothèses avancées pour expliquer les effets cancérogènes invoquent la formation de métabolites toxiques et de conjugués au glutathion à l'origine de dérivés thiols. Ces hypothèses restent à confirmer.

Le chlorothalonil est classé par l'E.P.A. (Environmental Protection Agency) comme un carcinogène probable pour l'homme (groupe B2).

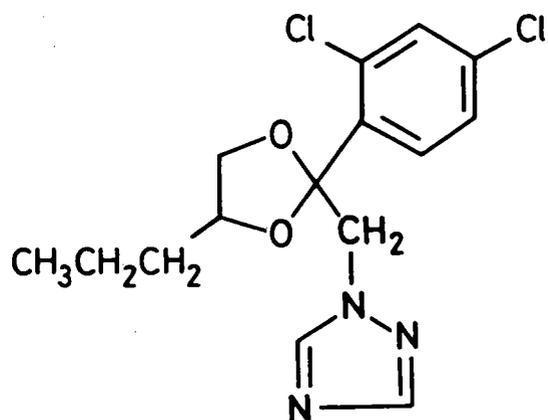
3. La propiconazole

3.1. Réglementation et généralités

Les azoles sont des fongicides connus depuis 25 ans déjà ; ils sont essentiellement employés dans le domaine de la protection des végétaux et également en préservation des bois. Il n'existe pas pour le moment de valeurs seuils limitant les concentrations de ces matières actives dans l'environnement (Wüstenhöfer *et al.*, 1993).

3.2. Identité et propriétés physico-chimiques

PROPICONAZOLE CAS 60207-90-1



Formule moléculaire : $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$ Masse moléculaire : 342.2

Aspect de la propiconazole pure : liquide visqueux jaune.

Masse volumique réelle à 20°C : 1.27

Point d'ébullition : 180°C

Coefficient de partage N-octanol/eau Log P = 3.8

Tension de vapeur à 20°C : $0.98 \cdot 10^{-6}$ mmHg

Tension de vapeur saturante à 20°C : 19 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Solubilité dans l'eau à 20°C : 110 mg/l.

3.3. Mode d'action toxique

Le mode d'action des azoles et plus particulièrement de la propiconazole est basé sur l'inhibition de la 14 α -déméthylase, enzyme impliqué dans la biosynthèse des stérols (Kwok, 1993).

3.4. Effets de la propiconazole sur l'environnement aquatique, terrestre et aérien.

3.4.1. Compartiment aquatique

La propiconazole se montre moyennement toxique pour les organismes aquatiques. Le dossier écotoxicologique donne les résultats suivant :

CL 50 96H truite = 20 mg/l et comprise entre 1 et 30mg/l pour *Poecilia reticulata* selon OCDE 203 (Wüstenhöfer *et al.*, 1993)

CE 50 48H *Daphnia magna* = 4.8 mg/l (Ciba-Geigy, Bâle)

CI 50 72H *Selenastrum* = 1.5 mg/l (Ciba-Geigy, Bâle)

Selon Wüstenhöfer *et al.*(1993), la toxicité aiguë des triazoles vis-à-vis des organismes aquatiques est comprise entre 1 et 30 mg/l de matière active pure (Azaconazole, propiconazole, tébuconazole) chez le poisson *Poecilia reticulata* selon la ligne directrice OCDE 203 ; la CE 50 24H réalisée sur *Daphnia magna* est comprise entre 8.8 et 56 mg/l (selon la norme DIN 38412, 1982) et la concentration entraînant un effet sur l'algue verte *Scenedesmus quadricauda* est comprise entre 12 et 32 µg/l. Ces tests de toxicité aiguë montrent une toxicité moyenne pour les organismes aquatiques crustacés et poissons et une forte toxicité pour les microalgues.

Aanes et Baekken, 1994, ont étudié la toxicité subléthale de la propiconazole à l'aide de rivières expérimentales en laboratoire à des concentrations que l'on retrouve habituellement dans les ruisseaux norvégiens, c'est à dire 5 ppb. Les changements de structure des groupes de macroinvertébrés benthiques ont été faibles lorsque le pesticide était présent, cependant les auteurs ont remarqué une inhibition importante des microalgues benthiques provoquée par la propiconazole aussi bien quantitativement que qualitativement, ce qui confirme les effets observés dans les tests monospécifiques.

3.4.2. Compartiment terrestre

Il existe peu d'études à notre connaissance sur le comportement de la propiconazole dans les sols. Jamet et Eudeline (1992) ont étudié la migration de 16 triazoles dont la propiconazole dans le sol de type "Versailles". Ils ont classé ces pesticides en deux classes : pesticides immobiles ou pesticide peu mobiles. La propiconazole a été classée comme peu mobile. D'autres triazoles comme le flusilazol ont été étudiés de manière plus approfondie. Il apparaît que ce type de pesticide est persistant et peu mobile dans les sols car fortement adsorbé.

3.4.3. Compartiment aérien

Valke et Van Leenput (1989) ont estimé les concentrations en propiconazole que l'on peut obtenir à partir de bois traités et dans un modèle d'enceinte de 3 litres : les concentrations estimées sont de l'ordre de 0.7 µg/m³ pour une formulation aqueuse et 0.1 µg/m³ pour une formulation organique. Le taux de charge utilisé étant de 0.4 m²/m³ et le renouvellement d'air de 1 h⁻¹ ; les mêmes auteurs ont trouvé une concentration aérienne de propiconazole de 7.8 µg/m³ lorsque la température de l'enceinte est de 50°C (ce qui peut correspondre à un grenier surchauffé en été). Cette concentration est largement inférieure à la concentration aérienne acceptable (AAC : Acceptable Aerial Concentration, concentration pouvant être acceptée par l'homme sur de longue période, Dobbs et Williams, 1983) de 130 µg/m³ pour la propiconazole. Les auteurs concluent que les concentrations estimées de propiconazole dans l'air présentent une marge de sécurité importante par rapport à la concentration sans effet de 191 mg/m³ (NOEL) obtenue dans une étude d'inhalation de rats pendant 3 mois ; ils concluent que cela permet un emploi sans risque du fongicide dans les habitations traitées.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE 5 : MATERIELS ET METHODES

1. MATERIEL

- 1.1 Produits chimiques étudiés : matières actives et formulation
- 1.2. Essences et qualité du bois
- 1.3. Modes d'imprégnations
- 1.4. Matériels d'analyses chimiques
- 1.5. Matériels d'analyses biologiques

2. METHODES

- 2.1. Compartiment aquatique
- 2.2 Compartiment aérien

CHAPITRE 6 : TOXICITE AQUATIQUE ET COMPORTEMENT DES FONGICIDES DANS L'EAU

1. Toxicité naturelle d'extraits aqueux et organiques de bois non traités
2. Toxicité intrinsèque du pentachlorophénol et du pentachlorophénate de sodium sur les organismes aquatiques
3. Influence du pH sur la biodisponibilité et la toxicité du pentachlorophénol
4. Comportement des pesticides à partir de bois traités dans le compartiment aquatique

CHAPITRE 7 : COMPORTEMENT DES PESTICIDES DANS L'AIR A PARTIR DE BOIS TRAITES

1. Expériences préliminaires
2. Expériences définitives
3. Applications du modèle à d'autres fongicides

CHAPITRE 5 : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. MATÉRIELS

1.1. Produits chimiques étudiés : matière active et formulation.

1.1.1. Pentachlorophénol et pentachlorophénate de sodium

a) Matière active

- pentachlorophénol pur (pureté 99%, Carlo Erba) utilisé pour l'étalonnage du chromatographe en phase gazeuse détection ECD (Varian 3400) et du chromatographe en phase liquide détection UV (Varian 5000).

- pentachlorophénol technique (pureté 86%, Janssen Chemical).

Ces deux produits ont été utilisés dans les tests de toxicité aquatique aiguë et chronique réalisés sur *Daphnia magna*.

- pentachlorophénol technique (pureté 82 %, KMG-Bernuth)

- pentachlorophénate de sodium technique (pureté 75 %, KMG-Bernuth)

Ces deux produits techniques ont été utilisés dans les tests sur microalgues et pour les imprégnations de blochets de pin.

Le tétrachlorophénol a été identifié comme impureté dans les produits techniques ainsi que dans le produit pur. Nous avons employé du 2,3,4,6-tétrachlorophénol (pureté 99 %, Riedel-de Haën) pour l'étalonnage du GC-ECD.

Dans certains cas, l'hexachlorobenzène a également pu être identifié par la méthode HPLC (Hexachlorobenzène, 99%, Aldrich Chemical).

Les autres impuretés n'ont pas été recherchées.

b) Formulations

- Formulation organique concentrée commerciale Dura-Treet 40 Wood Preserver (KMG-Bernuth)

contenant

- en tant que matière active, du pentachlorophénol à 38-42 % m/m

- autres chlorophénols et composés apparentés à 1-2 % m/m

- esters aliphatiques et aldéhydes à 57-61 % m/m dont

2-éthyl-2-hexanal 2-5 %

2-éthylhexanol < 1 %

Hydrocarbones C12 à C20 (surtout aldéhydes et esters) 94-97 %

Cette formulation commerciale est diluée dans du xylène (98 %, R.P. Normapur Analytical Reagent, Prolabo) afin d'obtenir une concentration finale en pentachlorophénol de 5 ± 0.3 %

- Formulation aqueuse commerciale préparée à partir de PCPNa technique (pureté 75 %, KMG-Bernuth) dilué dans de l'eau ultrapure (avec un apport de 10 ml/l de NaOH pour une meilleure dissolution ; Normapur en solution aqueuse 30 %, Prolabo) afin d'obtenir une concentration finale en pentachlorophénol de 5 ± 0.3 % m/m (pH final de cette solution : 9.2).

1.1.2. Chlorothalonil

a) Matière active

Chlorothalonil technique Daconil 2787 (97 % pureté, ISK Biotech Corporation)

b) Formulation

Formulation organique de chlorothalonil : dilution de la matière active technique Daconil 2787 dans du xylène (98 %, R.P. Normapur Analytical Reagent, Prolabo) afin d'obtenir une concentration finale en chlorothalonil de 5 % et 1 % m/m.

Formulation concentrée aqueuse commerciale de chlorothalonil à 41.7 % de chlorothalonil, dilué dans de l'eau ultrapure afin d'obtenir une concentration finale en chlorothalonil de 5 % et 1% m/m.

1.1.3. Propiconazole

a) Matière active

Matière active (27 % isomère trans, 73 % isomère cis) de qualité analytique Pestanal (99 %, Riedel-de-Haën) utilisée pour les étalonnages en chromatographie gazeuse.

b) Formulations

- Formulation concentrée aqueuse commerciale xylophène EX 2000 contenant 4.6 % m/m de propiconazole et 0.6 % m/m de cyperméthrine.

Le produit n'est pas prêt à l'emploi et une dilution de 10 % m/m dans de l'eau ultrapure est à réaliser. Cependant pour cette étude, la dilution dans l'eau ultrapure a été de 6.54 fois m/m de manière à obtenir une concentration en matière active de 0.71 % m/m pour la propiconazole et 0.09 % m/m pour la cyperméthrine (afin que les concentrations en matières actives soit équivalentes à celles du produit organique).

Autres substances présentes dans la formulation aqueuse : triéthylamine < 2.5 % et éther monométhylique du propylène-glycol entre 25 et 50 %.

- Formulation organique prêt à l'emploi commerciale SMX 2000 contenant 0.7 % m/m de propiconazole et 0.06 % m/m de cyperméthrine. Produit contenant du white spirit lourd.

1.2. Essences et qualité du bois

Les caractéristiques des blochets (parallépipède de bois) utilisés sont les suivantes:

- essences : pin sylvestre *Pinus sylvestris* dans la majorité des études.

Les autres essences utilisées ont été : le pin maritime *Pinus maritima*, le sapin *Abies alba*, l'épicéa *Picea excelsa*, le hêtre *Fagus sylvatica* et le chêne *Quercus sp.*

- taille : 50mm*25mm*15mm (type EN113)

- poids : les blochets sont pesés avant le début de l'essai, tout blochet ayant une masse s'écartant de 10 % par rapport à la moyenne du lot est éliminé. Pour le pin, utilisé majoritairement dans cette étude, le poids de départ m_0 d'un blochet doit être impérativement compris entre 9.5 et 11 g.

- les cernes annuelles forment un angle de 45 ± 15 degré avec la coupe de la face longitudinale.

- conditionnement : le bois utilisé est conditionné à une température de 20°C et une hygrométrie de 65 % après sa découpe.

- lot : le numéro du lot ainsi que la date de la découpe sont notés. Dans cette étude 4 lots de pin sylvestre ont été utilisés, la date de découpe des blochets étant la suivante

Lot A: aout 93

Lot B: juin 94

Lot C: décembre 94 Lot C' (hêtre): décembre 94

Lot D: septembre 95

L'exploitation du bois (coupe de l'arbre et passage en scierie), est obligatoirement réalisée dans une période de 1 an avant la découpe des blochets.

1.3. Mode d'imprégnation

1.3.1. Imprégnation par trempage

Les imprégnations des blochets de bois se font par trempage court sur une durée de 3 minutes: un cristalliseur d'une capacité de 2 litres en verre borosilicaté est utilisé. Une grille en verre surmontée d'un couvercle permet le maintien des blochets dans la formulation d'imprégnation sans risque que ceux-ci remontent à la surface.

Le poids de chaque blochet m_0 est noté avant l'imprégnation ainsi que le lot de bois.

Lorsque les blochets sont immergés dans la formulation, le chronomètre est déclenché. Après 3 minutes la grille est retirée, les blochets sont récupérés et immédiatement essuyés par un papier absorbant (Krantex).

Après une période de séchage de 10 minutes environ, les blochets sont pesés à nouveau et leur poids m_1 est noté.

Le taux d'imprégnation en masse/masse peut ainsi être calculé $(m_1 - m_0) / m_0$ donnant la teneur en formulation en g/100g de bois à t_0 , connaissant le pourcentage en biocide dans le produit formulé, la teneur en matière active apportée pour 100 g de bois est calculée.

Après l'imprégnation, les blochets sont conditionnés pendant une durée de 3 semaines ou 11 semaines à $20 \pm 1^\circ\text{C}$ et 65 % d'humidité relative avant leur utilisation pour l'étude du relargage

des substances dans l'air et 11 semaines pour l'étude du relargage dans l'eau.

1.3.2. Imprégnation sous vide

Les blochets avant d'être imprégnés sont séchés pendant 18 heures à l'étuve à 103°C afin de réduire leur teneur en eau (il y a une baisse de poids en général de 10 %).

Ils sont ensuite placés sous une cloche dans laquelle sera établi un vide de - 5 mm Hg pendant 20 minutes. La solution d'imprégnation, diluée au préalable dans de l'eau ultrapure pour la formulation aqueuse ou dans du xylène pour la formulation organique, sera additionnée directement dans le cristalliseur contenant les blochets (bloqués par des masselotes de verre) par une ampoule à décanter. Lorsque les blochets sont complètement recouverts par la solution d'imprégnation, la pression normale est lentement rétablie puis les blochets sont maintenus dans la formulation d'imprégnation diluée pendant 2 heures.

Au bout de 2 heures, les blochets sont récupérés, rapidement essuyés par du papier Krantex puis pesés à nouveau. La différence de poids ΔP est notée puis les blochets sont mis à sécher à 20°C et 65 % d'humidité relative.

1.4. Matériel d'analyse chimique

1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse

* Chromatographe en phase gazeuse Varian 3400 ; détection par capture d'électron (ECD : Electron Capture Detection) équipé d'une source Ni ⁶³.

Passeur automatique Varian 8200, injecteur SPI 8200 (Septum-Equipped Programmable Injector)

Colonne capillaire DB-5 méthyl silicone 5% phényl (J&W Scientific) ; longueur 30m, diamètre interne 0.32 mm, épaisseur de film 0.25 μ m.

Gaz vecteur : Hélium à 3ml/min Gaz make-up : Azote C à 40 ml/min

Les pesticides étudiés dans la partie "air" pour leur comportement à partir de bois traités ont tous été analysés par chromatographie gazeuse, détection ECD.

Les méthodes employées ont été les suivantes :

Pentachlorophénol : les échantillons sont dérivatisés avant passage en GC-ECD afin d'obtenir une meilleure réponse analytique. Ainsi, les chlorophénols (PCP, TCP) présents dans les échantillons de toluène prélevés sont méthylés par une fraction aliquote de diazométhane afin d'obtenir des anisoles (pentachloroanisole, tétrachloroanisole).

Un étalon interne (dieldrine 99%, Riedel-de-Hahn) est ajouté à chaque échantillon de façon à ce que sa concentration finale soit de $2 \cdot 10^{-7}$ g/ml.

La méthode utilisée pour l'analyse du pentachlorophénol est la suivante :

injecteur : température initiale : 40°C-0.1min.
150°C/min→270°C-15.2min

colonne : température initiale : 60°C-2min.
30°C/min→220°C
8°C/min→250°C-2min
30°C/min→270°C-3.1 min

détecteur : isotherme à 300°C ; Gamme de détection = 10, atténuation = 8

Limite de détection de la méthode : 1 ng/ml

Chlorothalonil : un étalon interne (dieldrine 99%, Riedel-de-Hahn) est ajouté à chaque échantillon de façon à ce que sa concentration finale soit de $2 \cdot 10^{-7}$ g/ml.

La méthode utilisée pour l'analyse du chlorothalonil est la suivante :

injecteur : température initiale : 40°C-0.1min
150°C/min→260°C-15.4 min

colonne : température initiale : 60°C-2 min
40°C/min→220°C
10°C/min→250°C-2 min
30°C/min→280°C-5 min

détecteur : isotherme à 300°C ; Gamme de détection = 10, atténuation = 8

Limite de détection de la méthode : 1 ng/ml

Propiconazole : un étalon interne (dieldrine 99%, Riedel-de-Hahn) est ajouté à chaque échantillon de façon à ce que sa concentration finale soit de 10^{-8} g/ml.

injecteur : température initiale : 40°C-0.1min
150°C/min→250°C-21.5 min

colonne : température initiale : 60°C-2 min
30°C/min→220°C
10°C/min→250°C-9.7 min
30°C/min→280°C-2 min

détecteur : isotherme à 300°C ; Gamme de détection = 1, atténuation = 8

Limite de détection de la méthode : 5 ng/ml

Pour les échantillons aqueux récupérés lors des essais de délavage de bois traités par des formulations aqueuses et organiques contenant de la propiconazole, la même méthode est utilisée après extraction de 10 ml d'eau de délavage par 100 ml de toluène (trois extractions successives de 25 ml, 25 ml et 50 ml de toluène).

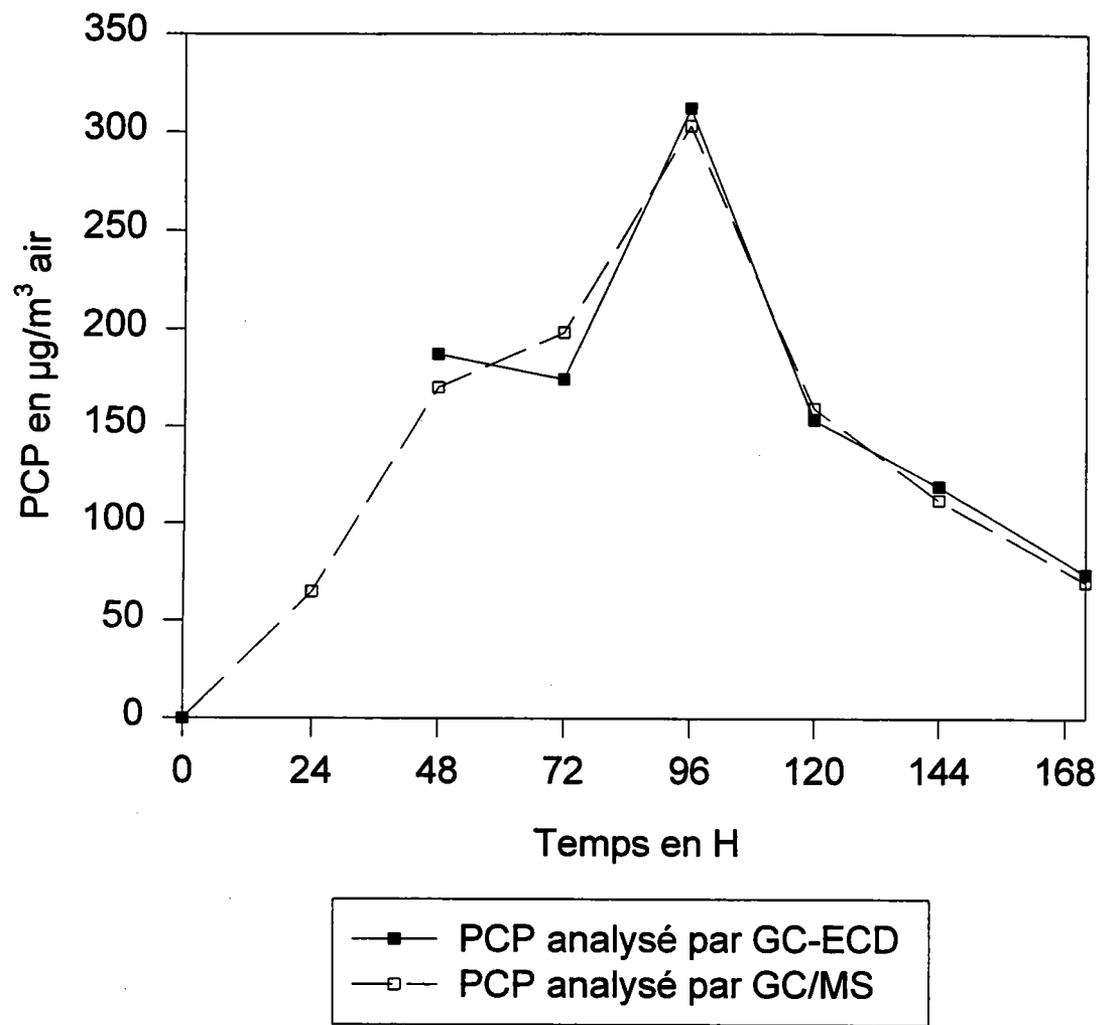


Figure 10: analyse du pentachlorophénol par GC-ECD et par GC-MS

* Chromatographe en phase gazeuse GC 8000 couplé à un spectromètre de masse MD 800 (Fisons instrument). Injecteur on-colonne.

Le chromatographe en phase gazeuse est équipé d'une colonne DB5 MS (J&W Scientific) longueur 30 m, diamètre interne 0.32 mm, épaisseur de film 0.25 µm.

Le mode de détection du spectromètre de masse se fait par impact électronique (quadripôle); il est calibré avant chaque série d'essais par un gaz de référence ayant 4 fragments caractéristiques (m/z : 69-219-264-502).

Deux techniques d'analyse ont été comparées pour la détection du PCP dans les solvants organiques récupérés après le bullage de l'air : l'analyse par GC/MS et l'analyse par GC-ECD. Les résultats d'une manipulation ont été analysés par ces deux techniques et sont représentés dans la figure 10.

Il apparait de très faibles différences de résultats entre ces deux techniques d'analyse ce qui permet :

- de confirmer la présence de pentachlorophénol par sa détection en GC/MS.
- de valider ces techniques d'analyse l'une par rapport à l'autre

Pour les analyses suivantes, la détection par GC-ECD a été préférée, pour des raisons essentiellement techniques. En effet, la détection du pentachlorophénol par GC-ECD est plus sensible que celle par GC/MS ; elle permet de détecter des concentrations de PCP jusqu'à 1 ng/ml dans les solvants tandis que l'analyse par GC/MS en mode S.I.R. (selective Ion Recording) ne permet de détecter que des concentrations en PCP supérieures à 20 ng/ml.

1.4.2. Chromatographie en phase liquide

Chromatographe en phase liquide Varian 5000 équipé d'un passeur automatique (MSI 660 Kontron) et d'un détecteur d'absorbance UV variable (Spectroflow 757, Applied Biosystem). La colonne utilisée est de type phase inversée C18 (greffage Si-C₁₈) d'une longueur de 150 mm et d'un diamètre interne de 3.9 mm (µbondapak, Waters). Le diamètre des particules de la phase stationnaire est de 10 µm.

La méthode d'analyse des eaux de délavage en chromatographie liquide pour leur teneur en pentachlorophénol est la suivante :

Pentachlorophénol : Méthode directe par HPLC (5000, Varian) ; utilisation d'une colonne C18 (µbondapak, Waters) avec une phase mobile isocratique de 65:35 v/v 0.1 % acide acétique/acétonitrile et un flux de 1 ml/minute.

La détection se fait par absorbance UV à 210 nm (Applied Biosystems).

La limite de détection est de 0.2 mg/l pour le pentachlorophénol.

1.4.3. Spectrophotomètre

Spectrophotomètre UV-visible (Shimatzu, UV 150-02) à longueur d'onde variable que l'on fixera à 760 nm pour le dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu (Scalbert, 1989).

1.5. Matériels d'analyse biologique

1.5.1. Compteur de particule

Compteur de particules (Z1, Coulter Counter) permettant le comptage de particules biologiques de 1 à 120 μm selon l'ouverture du tube à orifice sélectionné. Nous avons choisi un tube à orifice de 70 μm pour le comptage des algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Raphidocelis subcapitata*.

La calibration de l'appareil est réalisée régulièrement à l'aide de microbilles de latex d'un diamètre de 5.24 μm (Calibration Standard, Coulter Counter).

1.5.2. Appareil de lecture de la luminescence

Appareil Microtox M500 Toxicity Analyser System (Microbics Corporation) permettant la mesure de la bioluminescence dans une chambre noire.

L'appareil est calibré sur la première lecture de luminescence réalisée sur le réactif bactérien fraîchement reconstitué.

1.5.3. Tests immuno-enzymatiques

Les tests immuno-enzymatiques (Enviroguard, Millipore) sont utilisés pour la détection rapide du pentachlorophénol dans les eaux ; la lecture se fait par un spectrophotomètre différentiel (Millipore). Le principe du test est basé sur la spécificité des anticorps pour la mesure sélective de la concentration d'une molécule ou d'un ensemble de molécules de structure voisines dans un mélange aqueux (test ELISA). Ce kit contient des tubes à essai dont la paroi est tapissée par l'anticorps adapté aux pesticides recherchés et les réactifs nécessaires à la réalisation du test. La haute sensibilité de ces tests permet de donner des réponses pour des concentrations en PCP de l'ordre de 5 ppb.

1.6. Réactifs biologiques

1.6.1. Bactérie luminescente *Vibrio fischeri*

Cette bactérie provient de la société Microbics Corporation ; elle est fournie sous forme lyophilisée et est conservée au laboratoire à une température de -20°C .

Le réactif bactérien est reconstitué par une solution fournie par Microbics Corporation environ un quart d'heure avant le début des essais biologiques et est conservé à 4°C pendant toute la durée des essais ; les essais sont réalisés pendant une période de cinq heures suivant la

reconstitution du réactif bactérien selon le protocole défini dans la norme française AFNOR NFT 90-320 (1991). La sensibilité du réactif bactérien est régulièrement contrôlée par des substances de références telles que le phénol (pureté 99 %, Aldrich-Chemical).

1.6.2. Algues unicellulaires vertes *Chlorella vulgaris* et *Raphidocelis subcapitata*

Les algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Raphidocelis subcapitata* ont été fournies par le Centre des Sciences de l'Environnement de Metz : elles sont cultivées dans des Erlenmeyers de 250 ml à $23 \pm 2^\circ\text{C}$ sous une agitation orbitale de 120 tours/minute (Innova 2100 model, New Brunswick Scientific). La luminosité, produite par des tubes fluorescents (Gro-Lux, Sylvania), est d'environ 4000 lux à la surface des Erlenmeyers.

La stérilité des milieux de culture est contrôlée lors de chaque repiquage liquide : liquide (un par semaine) à l'aide d'un hématocymètre (cellule de Mallassez) ; la culture est rejetée si il y a une trace de contamination.

Les souches sont conservées à 4°C sur milieu Lefevre Czarda/agar-agar 2 % pendant une durée de 4 mois maximum : elles sont alors repiquées sur de nouveaux milieux solides. On procède 1 fois par mois à des repiquages solide/liquide afin de posséder des cultures liquides non contaminées. Les essais sur microalgues sont réalisés selon le protocole défini dans la ligne directrice OCDE 201 (1984b).

1.6.3. Microcrustacés cladocères

Un élevage de *Daphnia magna* est maintenu au laboratoire comme source continue d'organismes pour les biotests. Cet élevage est maintenu dans une chambre climatique éclairée et exempte de toutes poussières ou vapeurs organiques susceptibles d'affecter la santé de l'élevage.

La nourriture des daphnies est composée d'un mélange de microalgues composé d'une proportion de 3/4 *Chlorella vulgaris* et 1/4 *Raphidocelis subcapitata*.

Le milieu de culture est le milieu Lefevre-Czarda/Volvic à 20/80 ; le milieu d'essai est soit de même composition que le milieu de culture (milieu LC/Volvic ; pH 8 ± 0.2 , alcalinité 140 ± 10 mg CaCO_3/l et oxygène dissous supérieur à 90%), soit du milieu "AFNOR" reconstitué par 4 sels dans les concentrations spécifiées par la norme NFT 90-301 (pH 8 ± 0.2 , alcalinité 250 ± 10 mg CaCO_3/l et oxygène dissous supérieur à 90%).

Les milieux d'élevage sont renouvelés à 50 % une fois par semaine et les daphnies sont filtrées deux fois par semaine.

Des tests de toxicité sur substance de référence (Dichromate de potassium) sont effectués lors de chaque essai dans le but de contrôler la sensibilité des organismes et l'adéquation de la réponse dans la gamme spécifiée par la norme AFNOR NFT-90 301 (entre 0.9 et 1.5 mg/l).

2. MÉTHODES

2.1. Compartiment aquatique

2.1.1. Toxicité naturelle du bois

a) Essais écotoxicologiques

La toxicité des extraits de bois non traités (aqueux ou organiques) récupérés après l'agitation de 5 blocnets non traités a été évaluée sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* et sur le crustacé cladocère *Daphnia magna*.

Cinq blocnets de bois non traités sont placés dans un bécher contenant 500 ml d'eau ultrapure ou de solvant organique (méthanol qualité RS 99.9%, Carlo Erba ; diméthylsulfoxyde qualité analytique 99.5%, Carlo Erba).

Les blocnets sont complètement immergés et supportés par des portoirs en verre borosilicaté permettant un contact maximal entre le liquide et le bois.

Le liquide est mis sous agitation pendant 64 heures à l'aide d'un barreau magnétique et des prélèvements de 5 ml sont réalisés au bout de 16, 24, 40, 48 et 64 heures. Les béchers sont pendant toute la durée de l'essai placés à $20 \pm 1^\circ\text{C}$ et à l'obscurité.

Les essais de toxicité sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* et sur le crustacé cladocère *Daphnia magna* sont réalisés dans les 48 heures suivant le prélèvement.

Les échantillons aqueux sont testés sur *Vibrio fischeri* selon la norme NFT 90-320 et les échantillons de solvant organique selon la procédure décrite dans le manuel technique de Microbics corporation (Microtox Manual, vol.3, Microbics Corporation ; méthode consistant à utiliser un solvant dont la concentration ne dépasse pas 1% du milieu d'essai).

Pour *Daphnia magna*, les essais sont réalisés selon la norme NFT 90-301.

b) Dosage des tanins (phénols totaux)

Les tanins sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu dont le protocole est le suivant ; prélèvement de 0.5 ml d'eau à analyser , ajout de 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (Merck) dilué au dixième par de l'eau ultrapure. Ajout de 2 ml de Na_2CO_3 à 75 g/l, 1 minute après le réactif de Folin. Les tubes sont vortexés et placés 5 minutes à 50°C puis refroidis.

Les absorbances sont lues à 760 nm et les résultats sont exprimés en mg/l d'acide gallique (Aldrich chemical) à partir d'une courbe d'étalonnage de 10 à 60 mg/l : la loi de Beer-Lambert est conservée pour des absorbances inférieures à 0.5.

La réaction qui a lieu consiste à la réduction du mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique (réactif de Folin-Ciocalteu) en oxydes bleu de tungstène et de molybdène par les phénols en milieu alcalin.

c) Dosage des terpènes

Les monoterpènes sont dosés dans les eaux de délavage de bois non traités après extraction de 200 ml d'eau par 50 ml de dichlorométhane (Merck). Trois extractions successives sont réalisées (20+20+10 ml) ; on prélève la phase organique seulement après la régression de la phase intermédiaire de couleur laiteuse.

Les échantillons sont ensuite analysés en GC-MS en détection "scan" ; les chromatogrammes sont réintégrés par détection selon le fragment caractéristique de masse 136 (masse proche de l'ion moléculaire des monoterpènes recherchés : alpha-pinène, bêta-pinène et 3-carène).

2.1.2. Toxicité intrinsèque des produits de préservation et influence du pH

2.1.2.1. Toxicité aiguë et moyen-terme.

La toxicité aiguë du pentachlorophénol pur et du pentachlorophénol technique a été évaluée sur *Daphnia magna* et sur *Vibrio fischeri* respectivement selon la norme AFNOR NFT 90-301 (excepté le milieu d'essai qui est le même que celui utilisé pour l'élevage des daphnies : LC/Volvic à 20/80 v/v) et la norme NFT 90-320.

Les solutions mères de pentachlorophénol pur (Carlo Erba) et pentachlorophénol technique (Janssen) à 1 g/l sont préparées dans de l'acétone (pureté 99.8 %, qualité RS, Carlo Erba); les dilutions successives permettent d'obtenir des solutions de 100 mg/l de PCP à 10 % d'acétone v/v et de 10 mg/l PCP à 1% d'acétone v/v. En aucun cas, la teneur en solvant dans les solutions d'essais n'a dépassé les concentrations donnant un effet sur les organismes d'essai.

Des tests moyen-terme 72 h et 120 h "d'inhibition de croissance" sur microalgues ont été effectués selon la ligne directrice OCDE 202 (1984). Les erlenmeyers d'une capacité de 250 ml (Pyrex) sont remplis par 99 ml de milieu OCDE ajusté au pH désiré ; le col de chaque erlenmeyer est bouché par du coton hydrophile (Sofabel) puis ces récipients sont ensuite autoclavés pendant 20 minutes à 121 °C (Lequeux) ; les pH sont à nouveau mesurés 24 et 48 heures après la stérilisation en autoclave. Lorsque le pH est stabilisé, le milieu est utilisé pour les essais.

L'inoculum provient d'une culture de microalgues en phase exponentielle de croissance ; la culture dont est issue l'inoculum est âgée de 2 jours et la concentration de départ des chlorelles est de 10^4 cellules /ml ou de $4 \cdot 10^4$ cellules/ml. L'apport de l'inoculum de microalgues et du pesticide dans le milieu d'essai sont effectués en conditions stériles sous hotte à flux laminaire (MSC II 48, LaminAir).

Les cotons sont alors retirés et remplacés par des bouchons siliconés spongieux (Poly Labo) dans lesquels est piquée une aiguille stérile (Vacutainer, Becton Dickinson). Les prélèvements de 2 ml sont réalisés par aspiration sous vide (Vacutainer, Becton Dickinson) sans la nécessité de pratiquer cette opération sous hotte à flux laminaire. Les prélèvements sont ensuite dilués dans une solution électrolyte (Isoton, Coulter Counter) et comptés au compteur de particules. En fin de manipulation, les cultures sont observées au microscope sous grossissement 600 fois afin de vérifier toute absence de contamination ; le pH est également mesuré.

Les pH des milieux d'essais ont été ajustés par une solution d'acide sulfurique (0.1 N, Merck) ou d'acide chlorhydrique (1N, Merk) ainsi que par une solution de soude (0.1 N, Merk).

Les milieux d'essais ajustés ont été laissés au repos pendant 48 heures minimum à l'obscurité et à 20°C avant d'être utilisés dans les tests afin que le pH se soit stabilisé.

Jour	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
0	10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷ Rs	10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷ Rs
1			10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷ Rs
2	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷
5	3*10 ⁷ Cv	2.5*10 ⁷ Cv 0.5*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
6			10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷
7	3*10 ⁷ Cv	2.5*10 ⁷ Cv 0.5*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷ Rs
8			2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
9	6*10 ⁷ Cv	5*10 ⁷ Cv 1*10 ⁷ Rs	6*10 ⁷ Cv	5*10 ⁷ Cv 1*10 ⁷ Rs
12	4*10 ⁷ Cv	3.3*10 ⁷ Cv 0.7*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
13			2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
14	4*10 ⁷ Cv	3.3*10 ⁷ Cv 0.7*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
15			2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
16	6*10 ⁷ Cv	5*10 ⁷ Cv 1*10 ⁷ Rs	6*10 ⁷ Cv	5*10 ⁷ Cv 1*10 ⁷ Rs
19	4*10 ⁷ Cv	3.3*10 ⁷ Cv 0.7*10 ⁷ Rs	4*10 ⁷ Cv	3.3*10 ⁷ Cv 0.7*10 ⁷ Rs
20			10 ⁷ Cv	0.85*10 ⁷ Cv 0.15*10 ⁷ Rs
21	4*10 ⁷ Cv	3.3*10 ⁷ Cv 0.7*10 ⁷ Rs	2*10 ⁷ Cv	1.7*10 ⁷ Cv 0.3*10 ⁷ Rs
Nombre moyen de petits/daphnie mère	40.5 (9.8) CV = 24.1	39.3 (13.9) CV = 35.4	32.9 (5.8) CV = 17.7	62.6 (16) CV = 25.7

Tableau 5 : fréquence, quantité et qualité d'algues apportées par daphnie sur 21 jours. Les valeurs sont exprimées en nombre d'algues apporté dans 100 ml de milieu.

Ces algues proviennent de deux cultures de 10 jours resuspendues dans de l'eau ultrapure et mises à 4°C pendant toute la durée du test. Ceci dans le but de réduire la variation de taille des algues entre différents milieu de culture d'âge différents. Les abréviations Cv et Rs signifient *Chlorella vulgaris* et *Raphidocelis subcapitata*.

2.1.2.2. Toxicité chronique

Pour la toxicité chronique, la comparaison de la toxicité du pentachlorophénol pur (Carlo Erba) et du pentachlorophénol technique (Janssen chemical) a été effectuée sur *Daphnia magna* selon la ligne directrice OCDE 202 et sur une durée de 28 jours.

L'étape d'intoxication s'est déroulée selon un renouvellement semi-statique du milieu avec 3 changements du milieu par semaine ; le changement du milieu est total, chaque daphnie se trouvant dans 100 ml de milieu.

Le milieu d'essai a la même composition que le milieu d'élevage, c'est à dire LC/volvic 20/80, pH = 7±0.2 et oxygène dissous supérieur à 90 % de saturation.

Pendant l'essai de toxicité, des flacons ont été pris au hasard pour l'analyse de leur concentration en PCP : ces concentrations, après extraction du PCP par le toluène et passage en GC/MS ont toujours été supérieures à 80 % de la concentration nominale du PCP dans l'eau.

Avant de réaliser le test chronique, un test "en blanc" a été effectué afin de vérifier la conformité du réactif biologique : quatre régimes alimentaires ont été testés (qualitativement et quantitativement) sur différents lots de 10 daphnies pendant 21 jours (tableau 5). Le régime optimal satisfaisant les critères d'acceptabilité de la norme se compose d'un mélange de 2 espèces d'algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Raphidocelis subcapitata*. La composition en algues du milieu ainsi que la fréquence de l'apport en nourriture durant le test est reportée dans le tableau 5.

Comme nous l'indique ce tableau, seul le lot D a répondu aux critères d'acceptabilité de la ligne directrice OCDE 202 qui sont :

- mortalité des daphnies mères ne dépassant pas 10 % chez les témoins.
- nombre moyen de jeunes daphnies nées durant le test supérieur ou égal à 60.
- coefficient de variation du nombre de jeunes daphnies nées durant le test inférieur ou égal à 25 %.

2.1.3. Cinétique de délavage du produit actif à partir de bois traité

Les blochets de pin *Pinus sylvestris* sont traités par trempage court 3 minutes suivant le protocole décrit dans le paragraphe 1.3 "Mode d'imprégnation". Puis ils sont mis à conditionner pendant une période de 10 à 11 semaines suivant l'imprégnation dans une chambre climatique à 20±1°C et 65 % d'hygrométrie.

Le délavage de blochets de bois traités par différentes formulations a été réalisé selon la norme française NF X 41-565 (1988). Ces échantillons de bois ont été placés dans un erlenmeyer contenant 500 ml d'eau ultrapure et mis sous agitation à l'aide d'un barreau magnétique.

Les lixiviats sont collectés après des périodes d'agitation de 1h, 2h, 4h, suivies d'une période intermédiaire de séchage de 16 heures ; ils sont ensuite immergés pendant 8h, 16h et 48h. Après chaque période d'agitation, les 500ml d'eau sont récupérés et remplacés par la même quantité d'eau.

Les eaux prélevées sont soit testées immédiatement sur *Vibrio fischeri*, soit mises à 4°C pendant une période inférieure à 48 heures avant leur évaluation écotoxicologique.

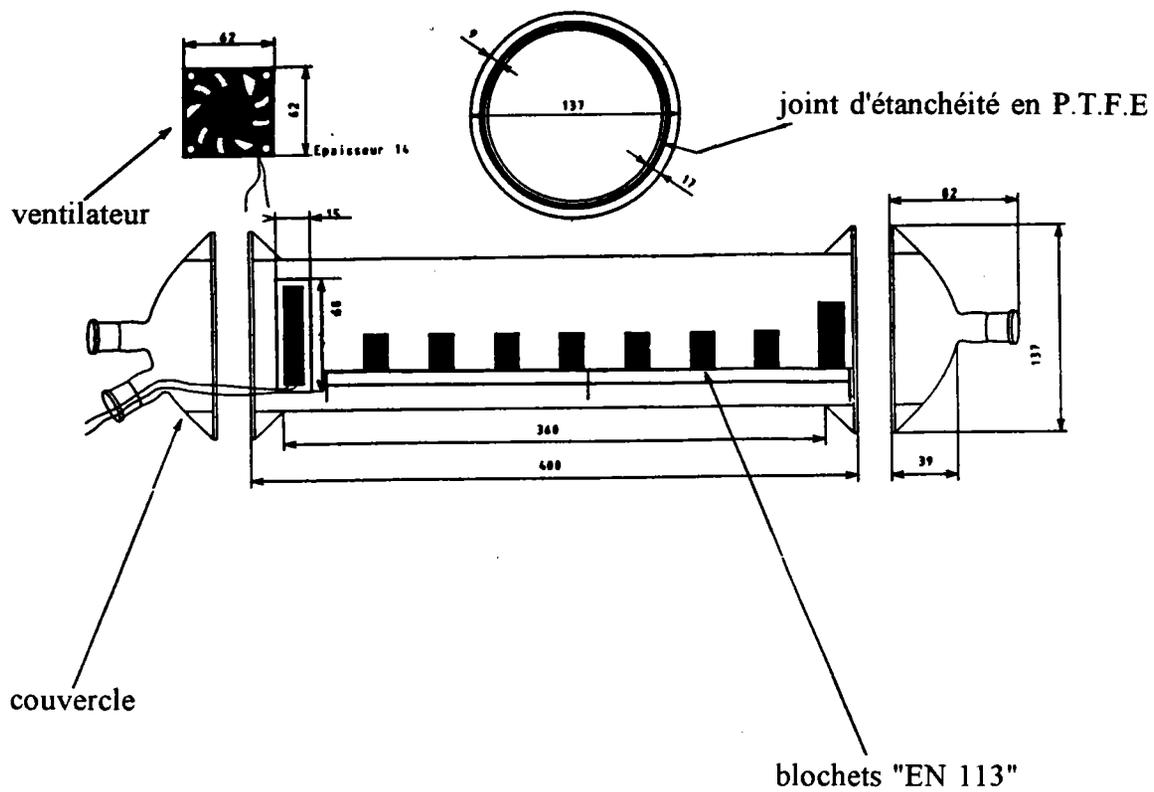


Figure 11a : Schéma de l'enceinte (chambre d'essai) utilisée pour le comportement des pesticides dans l'air ; disposition "en ligne" des blochets.

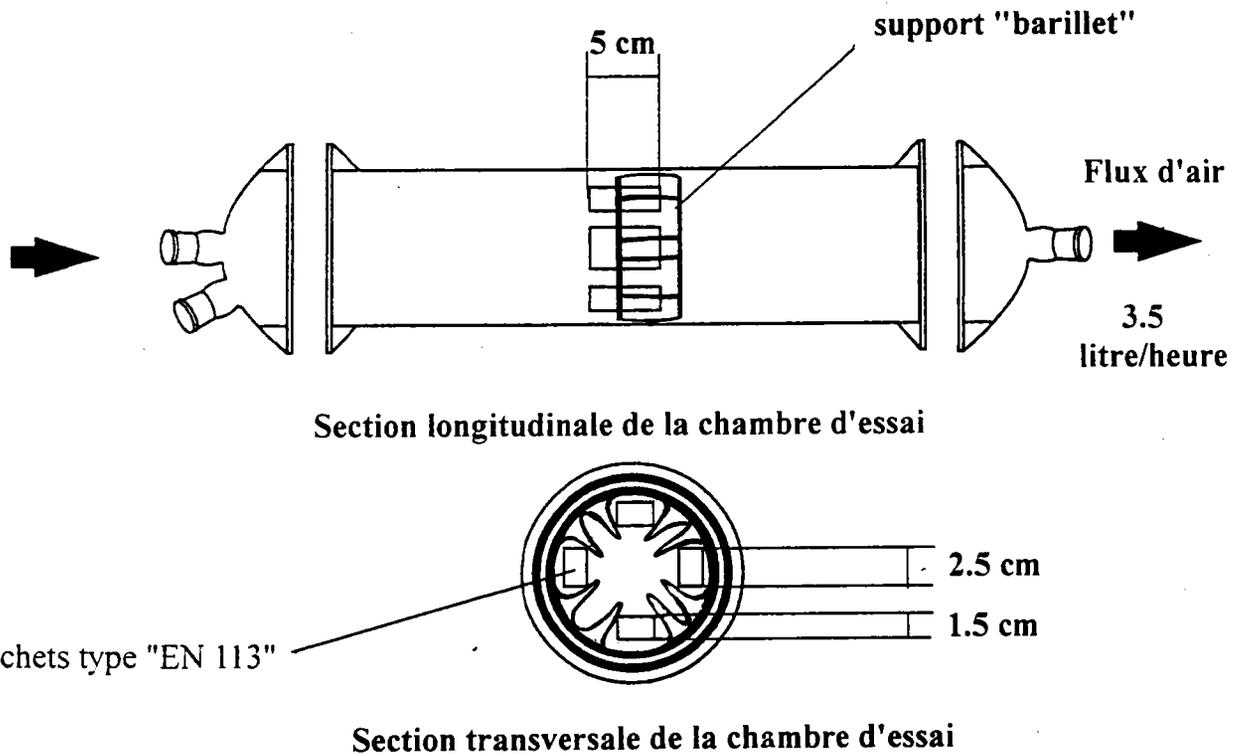


Figure 11b : enceinte d'essai contenant 4 blochets selon la disposition "en barillet"

Dans les mêmes temps, les lixiviats sont analysés pour leur teneur en matière active soit par une méthode directe en HPLC, soit après extraction au toluène puis passage en GC-ECD.

2.2 Compartiment aérien

2.2.1. Modèle de chambre d'essai

Les chambres d'essais utilisées dans cette étude possèdent les caractéristiques suivantes :

- volume de l'enceinte : 3.5 litres
- cylindre en verre borosilicaté de 40 cm de longueur et de 10 cm de diamètre intérieur
- 2 couvercles en verre borosilicatés placés à chaque extrémité du cylindre et percés de deux orifices rodés 19/23 mm sur le couvercle d'entrée d'air et d'un orifice rodé 19/23 mm sur le couvercle de sortie d'air.
- des joints en téflon d'un diamètre de 11.5 cm permettant l'obtention d'une bonne étanchéité entre les cylindres et les couvercles.
- des serres-joints métalliques permettant l'ajustement hermétique entre les couvercles et le cylindre de l'enceinte.
- deux types de portoirs permettant de maintenir les blochets dans l'enceinte :
 - * un portoir constitué de tige de verre borosilicaté (figure 11a) l'installation de 1 à 16 blochets : les blochets sont disposés "en ligne" sur le portoir et reposent verticalement sur leur section 5 * 1.5 cm ; ils sont espacés entre eux de 1 à 2 cm.
 - * un portoir constitué d'une cage cylindrique en verre borosilicaté (figure 11b) pour l'installation spatiale de 4 blochets "en barillet".
- un ventilateur (12 volts-25W, Micronel) placé perpendiculairement à l'axe du cylindre et relié à un potentiomètre afin de faire varier la vitesse de l'air.

Ces chambres d'essais sont placées dans une enceinte climatique 1 m³ (série SB, Weiss Technik) permettant le réglage de la température et de l'hygrométrie.

Le renouvellement de l'air dans l'enceinte de 1 m³ est régulé à 1 m³ par heure.

L'intérêt majeur de placer les chambres d'essais dans une enceinte climatique est d'obtenir la même température sur la face interne et sur la face externe : ceci permet d'éviter des points froids sur la paroi interne des chambres d'essais pouvant favoriser la condensation des pesticides présents dans l'air de la chambre.

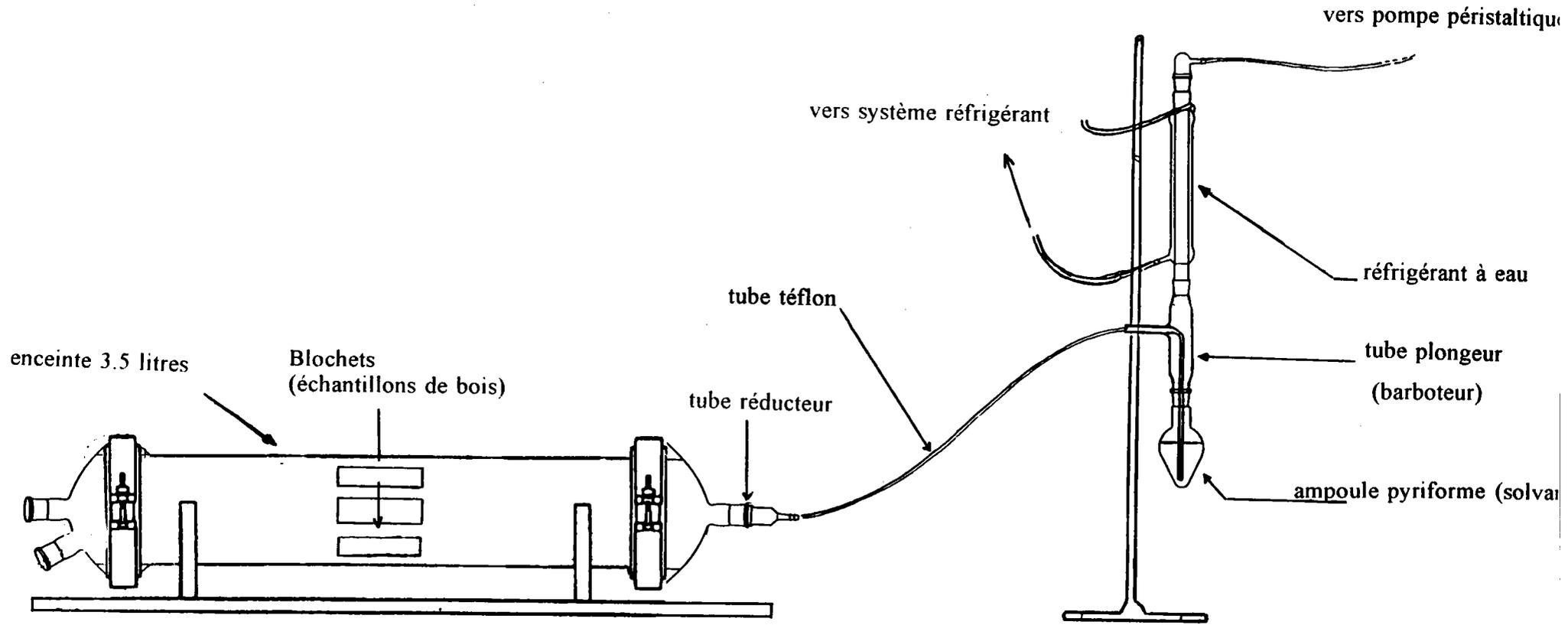


Figure 12 : Schéma d'une enceinte d'essai de 3.5 litres et du dispositif permettant le piégeage du pesticide dans l'air de l'enceinte.

2.2.2. Principe général de l'installation

L'installation se situe dans la "zone propre" des laboratoires : c'est une zone en surpression par rapport aux autres pièces. L'accès à cette zone se fait par deux sas situés à chaque extrémité de la zone. L'air de la zone est climatisé et filtré sur préfiltre média (90% ashrae) et filtre cellulose (100 % ashrae). La pièce où se situe l'enceinte climatique de 1 m³ est donc isolée de toute pollution extérieure pouvant provenir des manipulations se déroulant dans les autres parties du laboratoire.

L'air pénétrant dans l'enceinte climatique 1 m³ est filtré sur charbon actif ; le volume de renouvellement d'air étant de 1m³ par heure.

Dans cette enceinte climatique, les chambres d'essais de 3.5 litres sont placées horizontalement sur des portoirs (figure 12).

Ainsi l'air pénétrant dans chaque chambre d'essai est propre et non contaminé par des traces de pesticide : si une contamination se produit (saturation du filtre à charbon actif par exemple) celle ci sera détectée obligatoirement par des valeurs de blanc non nulles pour le pesticide recherché dans la chambre d'essai témoin.

L'extrémité de chaque chambre (orifice de sortie d'air rodé de 19/23 mm) est reliée par un tube en téflon transparent (Supelco) d'une longueur de 180 cm, à un ensemble comprenant un barboteur plongeant dans une ampoule pyriforme de volume variable (10, 25 et 50 ml). Cette ampoule est surmontée par un réfrigérant sur la partie haute duquel l'air est aspiré par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique (Cole-Palmer Instrument).

Cette pompe permet d'obtenir des débits d'air compris entre 1.3 et 10 litres/heure correspondant à un renouvellement d'air de chaque chambre d'essai de 3.5 litres de 0.37 h⁻¹ à 2.86 h⁻¹. La pompe est équipée par des tuyaux souples en viton (Bioblock Scientific) et son débit est normalement réglé à 3.5 litres/heure c'est à dire à 1 renouvellement par heure.

L'air propre et non contaminé de l'enceinte climatique 1 m³ passe dans la chambre d'essai contenant les blochets traités ou les blochets témoins non traités, puis est aspiré par la pompe péristaltique et traverse de ce fait par bullage le solvant contenu dans l'ampoule pyriforme; les pesticides récupérés dans le solvant organique sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse (GC-ECD).

Une attention particulière est portée au nettoyage des enceintes et de la verrerie utilisées dans cette manipulation, ceci afin d'éviter toute contamination pouvant fausser les résultats d'analyse.

Pour cela, les enceintes, les barboteurs, sont nettoyés après chaque manipulation par de l'acide sulfochromique (mélange sulfochromique, qualité RE, Carlo Erba), rincés abondamment avec de l'eau du réseau puis à l'acétone (99.8 %, qualité RS, carlo Erba).

Les tubes en téflon sont rincés également abondamment à l'acétone ainsi que les réfrigérants. Afin de s'assurer d'une absence totale de contamination, une chambre témoin contenant du bois non traité est utilisée lors de chaque manipulation. Par ailleurs, un "blanc 24 heures", c'est à dire un essai de bullage réalisé pendant 24 heures sur des enceintes vides contenant tout le matériel utilisé pendant la manipulation excepté les blochets, est pratiqué avant chaque essai.

Les manipulations sont réalisées après avoir vérifié l'absence de toute trace des pesticides

étudiés dans l'air des enceintes.

2.2.3. Manipulation et prélèvement

L'essence de bois utilisée est le pin *Pinus sylvestris*. Le mode d'imprégnation est celui défini dans la partie "Matériel" paragraphe 1.3.

Dans la première partie de l'étude (essais préliminaires), les blochets sont imprégnés, séchés rapidement par du papier absorbant (Krantex) et introduits immédiatement dans les enceintes d'essai. Il n'y a pas de conditionnement et par conséquent d'évaporation préalable du solvant. Les blochets sont disposés en ligne à l'intérieur des enceintes.

Dans la deuxième partie de l'étude, les blochets sont imprégnés, mis à conditionner pendant une période de trois semaines avant leur utilisation. Ils seront disposés non plus "en ligne" à l'intérieur des enceintes mais dans un même plan perpendiculaire au flux d'air selon la disposition "en barillet".

Les blochets de bois traités sont prélevés et placés sur leur portoir respectif ; celui-ci est introduit rapidement dans la chambre qui lui est destinée. On procède de la même manière pour toutes les chambres mises en expérimentation, c'est à dire 1 chambre "témoin" et 4 chambres d'essais.

Le débit de la pompe péristaltique est réglé à 1 renouvellement par heure (3.5 l/h) et contrôlé manuellement en sortie de chambre par un débitmètre à bulle (Varian). L'installation est contrôlée sur toute la ligne de montage pour éviter les fuites : on contrôlera le débit d'air fourni par la pompe tous les deux jours. Si celui-ci présente un écart même léger par rapport au débit demandé, les tubes viton de la pompe péristaltique sont changés et le débit à nouveau contrôlé.

Les prélèvements sont réalisés en général toutes les 24 heures ; la fréquence des prélèvements est plus élevée si l'on veut suivre plus précisément la cinétique d'émanation du pesticide à partir du bois traité.

Les échantillons sont immédiatement dosés en GC-ECD ou sont placés à 4°C pendant une durée maximale de 48 heures avant leur analyse.

	CE 50-15 min <i>Vibrio fischeri</i> en % v:v		
	5 Blochets de Pin dans 500ml eau ultrapure		
Référence du lot de bois	D		C
Date de la réalisation de l'essai après la découpe des blochets	1 semaine		10 mois
Prélèvement réalisé à 16 h	15.8 (14.6-17)	12.8 (9.7-16.9)	22.4 (19.6-25.7)
24 h	11.7 (11-12.4)	12.5 (9.4-16.6)	19.1 (17.2-21.2)
40 h	19.6 (17.8-21.6)	9.9 (5.4-18)	21.4 (16.6-27.4)
48 h	17.3 (14.3-20.8)	22.4 (17.6-28.5)	8.9 (4.9-16.2)
64 h	9.6 (5.2-17.5)	9.5 (4.8-18.7)	29 (24.3-34.6)

Tableau 6 : Toxicité des eaux de délavage prélevées après 16, 24, 40, 48 et 64 heures d'agitation de 5 blochets de pin sylvestre non traités provenant de deux lots de bois différents dans 500 ml ; les résultats CE 50-15 min *Vibrio fischeri* sont exprimés en % v/v de lixiviat.

	CE 50-15 min <i>Vibrio fischeri</i> en % v:v				
	5 blochets dans 500 ml d'eau ultrapure				
Essence	pin			hêtre	
Référence du lot de bois	C			C'	
Date de la réalisation de l'essai après découpe des blochets	9 mois				
Solvant	eau	méthanol		DMSO	méthanol
Prélèvement réalisé à 16 h	24.4 (18.9-31.6)	0.44 (0.19-1)	0.49 (0.37-0.64)	NT	NT
24 h	21.1 (16.7-26.8)	0.37 (0.28-0.50)	0.48 (0.29-0.79)	NT	NT
40 h	17.9 (12.9-24.9)	0.33 (0.25-0.45)	0.38 (0.27-0.53)	0.84 (0.53-1.31)	NT
48 h	20.6 (15.4-27.5)	0.42 (0.32-0.55)	0.44 (0.34-0.56)	1.02 (0.66-1.57)	NT
64 h	17.4 (13.5-22.5)	0.47 (0.35-0.63)	0.71 (0.39-1.3)	1.78 (0.22-8.4)	NT

Tableau 7 : Toxicité des extraits de solvants organiques prélevés après 16, 24, 40, 48 et 64 heures d'agitation de 5 blochets de pin sylvestre et de hêtre non traités dans 500 ml de solvant. Les résultats CE 50-15 min *Vibrio fischeri* sont exprimés en % v/v de lixiviat. L'abréviation NT signifie non toxique dans les conditions expérimentales de l'essai.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

CHAPITRE 6 : TOXICITÉ AQUATIQUE ET COMPORTEMENT DES FONGICIDES DANS L'EAU

1. Toxicité naturelle d'extraits aqueux et organiques de bois non traités

La toxicité d'extraits aqueux, organiques ou mixtes (50/50 organique/aqueux) a été évaluée sur des blochets de bois non traités, selon le protocole défini dans la partie "Méthodes". Les bioessais ont été effectués sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* ainsi que sur le crustacé cladocère *Daphnia magna*.

1.1. Toxicité aiguë évaluée sur *Vibrio fischeri*

1.1.1. Extraits aqueux

L'expérience a concerné deux lots de bois non traités de l'essence *Pinus sylvestris*.

Chaque lot provient de planches de bois découpées en scieries puis débitées en échantillons de bois type "EN 113" correspondant à des spécifications particulières décrites dans la partie Matériel et Méthodes.

Les CE 50-15 minutes obtenues reportées dans le tableau 6 sont exprimées en pourcentage v/v de lixiviat.

Le premier délavage, comprenant des blochets du lot D, a été dupliqué afin d'évaluer la variation intra-lot. Ces résultats sont comparés aux eaux de délavage des blochets provenant d'un deuxième lot (C).

La date de réalisation de l'essai (après découpe des blochets), indiquée dans le tableau, correspond au temps écoulé entre la découpe des blochets "EN113" et la lixiviation ; les blochets sont mis à séchés (conditionnés) pendant cette période à $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ et $65\pm 5\%$ d'hygrométrie.

Il apparait ainsi que les extraits aqueux, quelque soit leur lot d'appartenance, montrent une toxicité non négligeable des bois non traités, se traduisant par des valeurs de CE 50 comprises entre 10 et 20 %.

Les résultats obtenus pour le lot D montrent une variation intra-lot faible.

Les lixiviats du lot C apparaissent moins toxiques que ceux du lot D, à l'exception des résultats obtenus à 48 heures.

Les différences de toxicité obtenues entre les deux lots de bois pourraient s'expliquer par des variations biologiques existant entre les lots (âge de l'arbre avant la coupe, niveau de la coupe des planches par rapport au tronc de l'arbre...) mais aussi par le temps de séchage du bois qui doit réduire l'extractibilité des constituants hydrosolubles .

CE 50-24 H <i>Daphnia magna</i> en % v/v 5 blochets dans 500 ml eau ultrapure				
	Pin sylvestre			Hêtre
lot de bois	D	C		C'
solvant	Eau	Eau	Méthanol	Méthanol
<i>Prélèvement réalisé à 64 H</i>	> 40 %	> 40%	> 3 %	> 3 %

Tableau 8 : toxicité d'extraits aqueux et organiques de bois non traités selon NF T 90-301 sur *Daphnia magna* à 24 heures. Les CE 50-24H sont exprimés en % v/v de lixiviat.

doit réduire l'extractibilité des constituants hydrosolubles .

1.1.2.Extraits organiques

Les mêmes essais ont été réalisés avec des blochets de pin sylvestre *Pinus sylvestris* non traités provenant du lot C et une essence de feuillu, le hêtre *Fagus sylvatica* provenant du lot C' .

Les solvants organiques utilisés ont été le méthanol et le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les résultats, présentés dans le tableau 7, indiquent des valeurs de toxicité très fortes pour les extraits méthanoliques provenant des bois résineux alors que les extraits de feuillus sont dépourvus de toxicité dans nos conditions expérimentales.

En effet, la concentration de l'extrait testé ne dépasse pas 1 % du milieu bactérien : au delà de cette valeur, le méthanol est toxique pour la bactérie de sorte que nous n'avons pu tester à des concentrations supérieures, les substances extractibles du hêtre.

On note que l'extraction des "substances toxiques", pour le pin, est meilleure avec le méthanol. En effet, les valeurs de toxicité des extraits dans le DMSO (c'est à dire situées aux environs de 1%) ne sont décelables qu'à partir de 40 heures. Les valeurs de toxicité évaluées à 40, 48 et 64 heures restent toujours inférieures à celles des extraits méthanoliques.

1.2. Toxicité aiguë évaluée sur *Daphnia magna*

Ces essais ont été réalisés selon la norme AFNOR NFT 90-301 (1984) sur les extraits aqueux et organiques obtenus dans les manipulations précédentes après 64 heures d'agitation. Les extraits aqueux ayant été réalisés sur du pin sylvestre lot D et C et les extraits organiques (méthanol) sur du pin sylvestre et du hêtre respectivement des lots C et C'.

Les résultats sont reportés dans le tableau 8.

Les extraits aqueux paraissent moins toxiques sur *Daphnia magna* que sur *Vibrio fischeri* : aucune mortalité n'a été obtenue avec 40 % d'extraits aqueux dans le milieu d'essai. Des concentrations supérieures n'ont pas été étudiées.

Les extraits méthanoliques semblent confirmer cette toxicité plus faible sur les microcrustacés. A 3 % v/v d'extraits méthanoliques dans le milieu, la mortalité est de 50 % alors qu'elle est de 40 % avec le méthanol pur.

Nous n'avons pu tester de concentrations supérieures, compte tenu de la toxicité du méthanol. (la CE 50-24h *Daphnia magna* méthanol = 3.7 % (3.3-3.9)).

Nous n'avons également pas pu éliminer le solvant, par évaporation sous vide par exemple, car certaines molécules extractibles comme les terpènes possèdent des tensions de vapeur élevées et auraient été perdues par volatilisation.

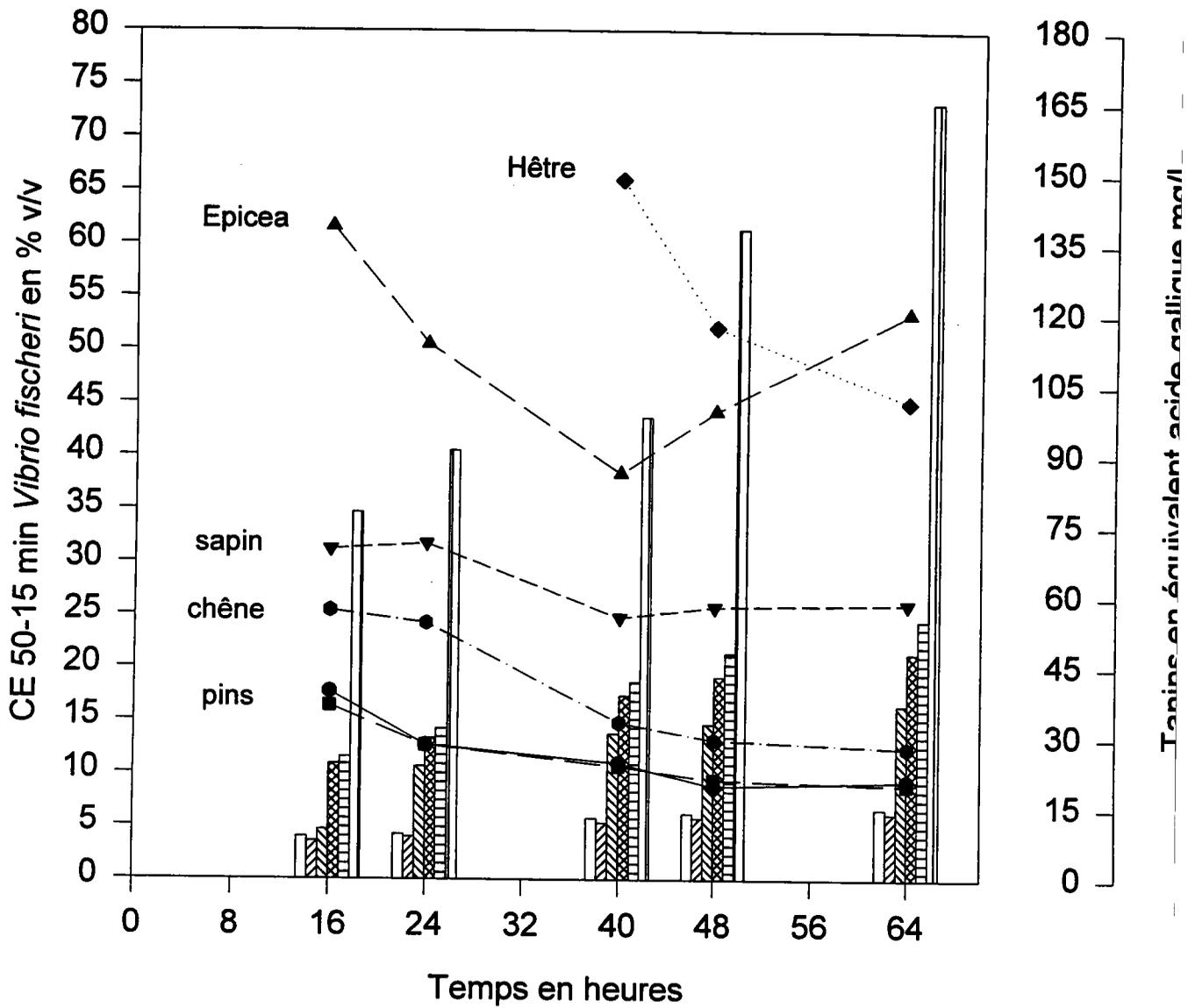
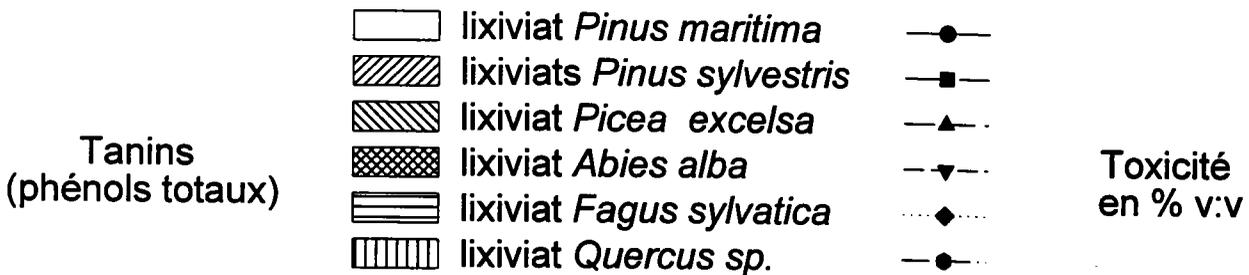


Figure 13 : toxicité des lixiviats de bois non traités sur *Vibrio fischeri* en % v/v et teneur en tanins (phénols totaux) exprimée en équivalence acide gallique mg/l



1.3. Corrélation entre la toxicité et la présence de substances extractibles par l'eau ou les solvants.

Les résultats précédents nous permettent de constater que la toxicité des extraits aqueux ou organiques provenant d'échantillons de bois non traités n'est pas la même selon les organismes testés. Elle est faible pour les crustacés cladocères et élevée pour la bactérie luminescente lorsqu'il s'agit d'extraits aqueux, voire très élevée lorsque ces extraits sont des solvants organiques, notamment du méthanol.

Ces composés extractibles possèdent ainsi des propriétés bactéricides.

Selon Scalbert (1991) les tanins figureraient parmi les substances extractibles à propriétés antimicrobienne. Ils constitueraient un procédé de défense des plantes contre des attaques microbiennes. Konishi *et al.* (1987) ont étudié la toxicité de mélanges complexes d'acides taniques sur *Vibrio fischeri* ; ils ont montré qu'ils inhibent la chaîne respiratoire de la bactérie, notamment les enzymes NADH déhydrogénase et cytochrome b ainsi que la croissance de la bactérie à des concentrations supérieures à 10 mg/l. Les composés responsables de la toxicité n'ont pu être identifiés.

Les tanins peuvent donc expliquer une partie de la toxicité des lixiviats sur *Vibrio fischeri* mais d'autres composés extractibles présents chez de nombreuses essences de pin, comme les terpènes, peuvent également être impliqués.

1.3.1. Recherche des tanins et des terpènes dans les extraits aqueux

Cette recherche a été réalisée sur des bois de résineux et de feuillus non traités. Quatre résineux, le pin sylvestre *Pinus sylvestris*, le pin maritime *Pinus maritima*, l'épicéa *Picea excelsa* et le sapin *Abies alba* ainsi que deux feuillus, le hêtre *Fagus sylvatica* et le chêne *Quercus sp.* ont été étudiés.

1.3.1.1. Recherche des tanins dans les extraits aqueux

Le protocole choisi est le même que précédemment.

Les eaux sont immédiatement analysées pour leur toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* (inhibition de luminescence à 15 minutes) ainsi que pour leur teneur en tanins selon la méthode d'analyse de Folin-Ciocalteu permettant le dosage des phénols totaux. La méthode de dosage des tanins, décrite dans la partie Méthode, est quantitative et ne permet de doser que les tanins hydrolysables (Scalbert *et al.*, 1989).

Les extraits aqueux n'ont montré aucune toxicité sur le crustacé cladocère *Daphnia magna* à la concentration de 40 %.

Les résultats sur *Vibrio fischeri* sont présentés dans la figure 13 : les valeurs de toxicité "inhibition de la luminescence à 15 minutes" sont exprimées en % v/v et sont représentées sous forme de courbe, les teneurs en phénols totaux sont sous forme d'histogramme et exprimés en mg/l d'équivalent acide gallique (pour 500 ml d'eau et pour 5 blochets non traités)

Le classement des lixiviats selon leur toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, du plus toxique vers le moins toxique, est le suivant :

Pin sylvestre - Pin maritime > Chêne > Sapin > Epicéa > Hêtre.

Les valeurs de CE 50-15 minutes baissent en fonction du temps pour les pins (sylvestre et maritime), le chêne et le sapin, ce qui traduit une augmentation de la toxicité en fonction de la durée d'extraction. Les extraits provenant de l'épicéa et du hêtre montrent une faible toxicité pour *Vibrio fischeri*.

Lorsque l'on observe les teneurs en phénols totaux (histogrammes de la figure 13), on constate que les deux valeurs les plus importantes correspondent aux bois des feuillus chêne et hêtre avec comme concentrations finales à 64 heures respectivement 165 mg/l et 55 mg/l.

Pour les pins, la majorité des teneurs en phénols totaux reste faible avec des valeurs inférieures à 15 mg/l ; l'épicéa et le sapin montrent des valeurs intermédiaires comprises entre 35 et 45 mg/l.

Il est intéressant de noter une augmentation des teneurs en tanins dans les lixiviats en fonction du nombre d'heures d'extraction.

Si l'on classe les teneurs en tanins dans les lixiviats récoltés selon les espèces de bois (dans le sens des teneurs en tanins les plus fortes vers les plus faibles), on obtient : Chêne > Hêtre > Sapin > Epicéa > Pin maritime > Pin sylvestre. Le classement précédent, selon la toxicité, n'est plus conservé.

Les tanins ne semblent pas être les principaux composés responsables de la toxicité des lixiviats.

Le meilleur exemple confirmant cette observation est celui des pins : ils donnent en effet des lixiviats très peu chargés en tanins et montrent malgré cela des toxicités importantes. Cette constatation doit être cependant nuancée par le fait que la méthode de dosage des tanins employée est une méthode globale et non sélective des tanins hydrolysables. Il n'est pas à exclure qu'une classe de tanins soit largement plus toxique qu'une autre, la méthode de dosage des phénols totaux, trop générale, ne pourra alors pas la distinguer parmi les autres classes.

1.3.1.2. Recherche des terpènes dans les extraits aqueux

Labat (1995) a montré que les monoterpènes majoritairement trouvés dans l'air ou dans l'eau en contact avec les essences de pin maritime, pin sylvestre, pin noir et pin laricio, ont été essentiellement l'alpha et le bêta-pinène ainsi que le 3-carène.

La présence de ces trois monoterpènes a été recherchée dans les eaux de délavage récoltées après 64 heures d'agitation.

L'extraction par un solvant organique ainsi que l'analyse chimique réalisée en GC/MS sont décrits dans la partie "Méthode".

Les résultats obtenus par l'analyse en spectrométrie de masse montrent uniquement la présence d'alpha-pinène dans les extraits aqueux provenant du pin maritime et de l'épicéa avec des teneurs respectives de l'ordre de 25 µg/l et ≤ à 5 µg/l.

Ces concentrations ont été comparées aux valeurs de toxicité des substances pures évaluées sur *Vibrio fischeri* présentées dans le tableau suivant :

	alpha-pinène	béta-pinène	3-carène
CE 50-15 min <i>Vibrio fischeri</i> exprimées en mg/l	0.3 (0.24-0.38)	0.4 (0.27-0.58)	0.163 (0.140-0.190)

Tableau 9 : Toxicité de trois monoterpènes purs sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri*.

Il apparait ainsi que les teneurs en monoterpènes détectées dans les extraits aqueux sont largement inférieures aux concentrations pour lesquelles une toxicité serait décelable sur la bactérie, ceci dans le cas de substances pures.

Il n'est cependant pas à exclure un effet de synergie entre ces terpènes (même à des concentrations très basses) ou bien encore entre l'association de ces terpènes et une autre classe d'extractibles du bois.

On peut toutefois conclure que les terpènes ne sont à priori pas responsables de la majeure partie de la toxicité observée pour les extraits aqueux provenant des pins utilisés dans cette étude.

produits purs ou techniques	PCP pur	PCP technique	PCP technique	PCPNa technique
	99 % Carlo Erba	86 % Janssen	82 % KMG	75 % KMG
CE 50-5min	1.4 (1.1-1.8)	1.4 (0.9-2.1)	1.3 (1.1-1.6)	1.8 (1.6-2.1)
CE 50-15min	1.1 (0.9-1.4)	1.0 (0.6-1.7)	1.1 (0.9-1.5)	1.4 (1.3-1.4)
CE 50-15min exprimée en PCP	1.1 (0.9-1.4)	0.9 (0.5-1.5)	0.9 (0.7-1.2)	0.9 (0.9-1.0)

Tableau 10 : Toxicité intrinsèque du PCP pur et des différents PCP techniques sur *Vibrio fischeri*. Les CE 50-5 minutes et 15 minutes sont exprimées en mg/l de produit purs ou techniques et en équivalent PCP.

	PCP pur		PCP KMG technique		PCPNa KMG technique	
	sans acétone	avec acétone	sans acétone	avec acétone	sans acétone	avec acétone
CE 50-48H produits testés	3.5	3.44 (2.79-4.25)	1.04 (0.78-1.33)	1.27 (0.95-1.62)	1.48 (0.82-2.24)	1.99 (1.45-2.57)
CE 50 48H exprimée en PCP	3.5	3.44 (2.79-4.25)	0.85 (0.64-1.09)	1.04 (0.78-1.33)	1.02 (0.56-1.55)	1.37 (1.01-1.78)

Tableau 11 : Toxicité intrinsèque des produits purs (PCP 99%, Carlo Erba) et des produits techniques (KMG) sur *Chlorella vulgaris*. Les résultats sont exprimés en CE 50-48H calculées par une régression non linéaire de loi gamma et exprimées en résultats brutes ou en équivalent PCP.

2. Toxicité intrinsèque du pentachlorophénol et du pentachlorophénate de sodium sur les organismes aquatiques

En raison du pKa du pentachlorophénol de 4.7 et des pH utilisés dans les biotests aquatiques compris généralement entre 6.5 et 9, les différentes formes de PCP dissoutes dans l'eau sont dans une proportion majoritaire sous leur forme ionique (PCPNa majoritairement).

2.1. Toxicité aiguë du pentachlorophénol et du pentachlorophénate sur *Vibrio fischeri*.

Les différentes formes de produit pur et technique ont été évaluées pour leur toxicité sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* selon le protocole décrit dans la partie Méthode. Les résultats sont présentés dans le tableau 10.

Il apparait que :

- les réponses ne sont pas significativement différentes lorsque l'on exprime les résultats en PCP.
- une toxicité légèrement plus faible est obtenue pour le produit pur par rapport aux produits techniques.

2.2. Toxicité moyen-terme sur l'algue verte *Chlorella vulgaris*.

Les CE 50-48h sont exprimées en mg/l de produit pur ou technique et en PCP selon les différents degrés de pureté du PCP dans les produits techniques (tableau 11).

Les résultats montrent que :

- la toxicité des produits techniques est plus importante que celle du produit pur.
- les deux produits techniques donnent des réponses équivalentes : la différence obtenue entre les résultats du PCP et ceux du PCPNa n'est pas significative.
- l'acétone, utilisé comme cosolvant à une concentration de 0.01% v/v a peu d'influence sur la toxicité. Il semblerait même qu'il ait tendance à faire baisser légèrement la toxicité.

Ces résultats indiquent une toxicité du pentachlorophénol pur légèrement supérieure à celle que l'on peut trouver dans la littérature. Shigeoka et al. (1988), ont trouvé des valeurs de CE 50 pour le pentachlorophénol sur *Chlorella vulgaris* de l'ordre de 10 mg/l (essai réalisé selon la ligne directrice de l'OCDE avec un inoculum de $5 \cdot 10^4$ c/ml). Cependant, les modes de calcul de la CE 50 sont différents (le calcul de la CE 50 se fait sur l'inhibition de 50 % du taux de croissance μ_{max} par rapport au témoin) et la durée de l'expérimentation est de 96 heures.

La toxicité plus élevée des produits techniques résulte vraisemblablement des impuretés présentes dans le PCP technique.

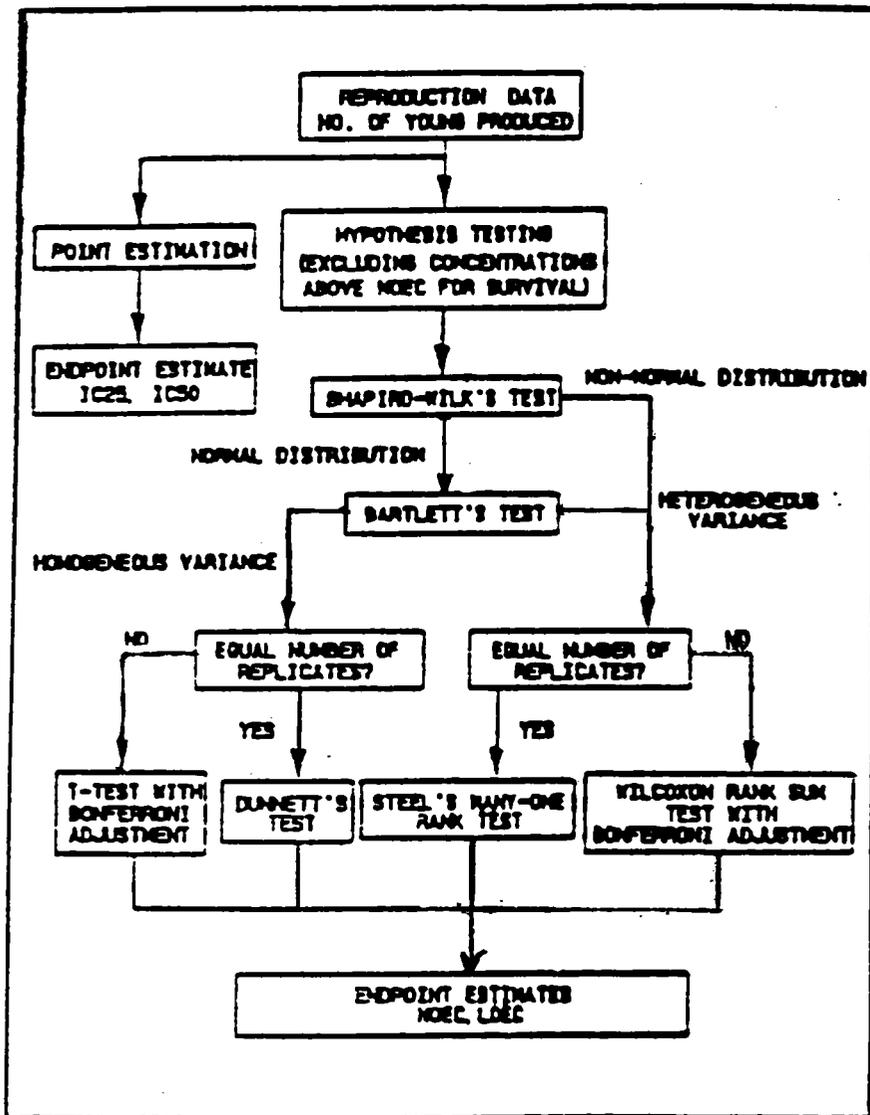


Figure 14 : diagramme pour l'analyse statistique de données de reproduction.

2.3. Toxicité long-terme 28 jours sur le crustacé cladocère *Daphnia magna* : reproduction et croissance

La toxicité chronique du pentachlorophénol pur (99%, Carlo Erba) a été comparée à celle du pentachlorophénol technique (86%, janssen) sur une période de 28 jours.

Comme indiqué dans la partie Matériel, le test n'a été commencé qu'après avoir sélectionné un régime alimentaire permettant aux crustacés un développement et une croissance normale sur 28 jours (tableau 5, partie Méthodes).

Après la sélection de ce régime alimentaire, trois concentrations par PCP pur ou technique ont été choisies selon la bibliographie existante (Stephenson *et al*, 1991b) ; 0.010 mg/l, 0.050 mg/l et 0.100 mg/l ainsi qu'un lot témoin.

Pour la reproduction, le critère retenu dans cette étude est "le nombre de petits par daphnie mère sur 28 jours". Ces résultats sont exploités statistiquement en suivant le protocole décrit dans la figure 14 pour le critère de toxicité sélectionné.

Ainsi, il n'apparaît pas de différence significative de toxicité pour le paramètre "nombre de petits/daphnie mère sur 28 jours" quelque soient les concentrations testées par rapport au témoin et la qualité du produit (pur ou technique).

La figure 15 indique le nombre cumulé de petits par lot sur 28 jours : elle montre une légère baisse des courbes correspondant aux lots PCP pur et PCP technique 0.100 mg/l à partir du 21^{ème} jour. Cependant, ceci doit être pondéré par la mortalité importante (30%) survenue après le 24^{ème} jour pour le lot PCP technique 0.100 mg/l (figure 16).

En ce qui concerne la fréquence des pontes, nous constatons un léger décalage des fréquences de pontes de tous les lots excepté le lot PCP pur 0.010 mg/l par rapport au témoin (figure 17 et 18).

Pour la croissance des daphnies, le paramètre sélectionné dans cette étude a été la taille moyenne des daphnies pour chaque lot, mesurée en fin de test. Les résultats sont présentés sous forme d'histogrammes dans la figure 19. L'analyse de variance ANOVA ($p \leq 0.05$) montre une différence significative entre la taille moyenne des daphnies du lot PCP technique 0.100 mg/l et celle du lot témoin. Pour les autres lots, aucune différence significative statistiquement n'a été observée.

Il apparaît donc dans cette étude, une toxicité chronique du pentachlorophénol différente selon que le PCP testé est pur ou technique.

Seul le produit technique, à une concentration nominale de 0.100 mg/l, induit des différences statistiquement significatives pour les paramètres de toxicité "taille moyenne des daphnies" sur 28 jours par rapport au témoin.

Pour d'autres critères comme la fréquence des pontes, critère généralement non étudié dans les tests de toxicité chroniques 21/28 jours *Daphnia magna*, seul le lot de PCP pur à 0.010 mg/l ne diffère pas du témoin.

Les concentrations minimales sans effet (ou NOEC, No Observable Effect Concentration) pour les critères de reproduction et de croissance sont 0.050 mg/l pour le PCP technique et supérieure à 100 mg/l pour le PCP pur.

Pour le PCP technique, il existe peu de données de toxicité chronique sur *Daphnia magna* : Stephenson *et al.* (1991b) ont comparé la toxicité du produit technique et du produit pur sur toute la vie de *Daphnia magna*. Ils ont trouvé une NOEC pour un PCP technique de 0.100 mg/l pour les critères de reproduction sur 21 jours. Cette valeur est légèrement plus élevée que celle trouvée ici : l'explication réside certainement dans la qualité de l'eau employée dans les expérimentations (la dureté de l'eau naturelle employé par ces chercheurs était de 220 mg/l en CaCO₃ alors que notre milieu d'essai a une dureté de 160 mg/l). D'autres facteurs non normalisés comme la qualité et la quantité de nourriture pendant le test pourraient aussi influencer les résultats.

3. Influence du pH sur la biodisponibilité et la toxicité du pcp

3.1. Toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*

La variation du pH et son influence sur la toxicité du PCP sur *Vibrio fischeri* (inhibition de luminescence à 15 minutes) ont été étudiées ici. Les réponses toxiques en mg/l de PCP mesuré sont reportées dans le tableau 12 ; elles indiquent une toxicité plus importante lorsque le pH baisse (pH 6.2) pour tous les composés.

Cette toxicité plus élevée s'explique par une biodisponibilité plus élevée de la forme moléculaire liposoluble. Il est en effet bien établi qu'une forme moléculaire non dissociée est plus lipophile que la forme ionique correspondante ; cette forme non dissociée sera par conséquent plus biodisponible car plus facilement absorbable par les membranes biologiques. Ceci a été observé pour plusieurs chlorophénols sur la bactérie *Vibrio fischeri* par Svenson et Zhang (1995). Ces auteurs ont démontré que 5 des 6 chlorophénols étudiés, montrent une toxicité essentiellement due à leur forme moléculaire (phénol).

3.2 Toxicité vis-à-vis de *Daphnia magna*-24 heures

Les CE 50-24 heures montrent (tableau 13) que la toxicité du PCP est directement proportionnelle au pH de la solution du milieu d'essai et par conséquent à la fraction PCP ionique / PCP moléculaire.

Lorsque l'on exprime les CE 50-24h pour les produits techniques en PCP, il apparaît que la réponse n'est pas significativement différente de celle du produit pur.

Les réponses obtenues en toxicité aiguë sur *Daphnia magna* sont comparables à celles trouvées dans la littérature. En effet, les valeurs de CE 50-48H sont comprises entre 0.3 et 1.5 mg/l pour le PCP pur (Stephenson *et al.*, 1991a).

D'après Liber et Solomon (1994), les eaux considérées comme dures, c'est à dire ayant une concentration en CaCO₃ supérieure à 250 mg/l, donnent sur *Daphnia magna* des valeurs de CE 50 pour le pentachlorophénol plus élevées (supérieures à 1 mg/l) que des milieux de

pH début/fin test	CE 50-72H				CE 50-120H			
	1	2	3	4	1	2	3	4
pH 6.8±0.1/ pH 5±0.7		3.6 (2.9-4.4)	3.8 (3.1-4.5)	1.7 (1.2-2.2)		2.3 (1.7-3.0)	3.2 (2.5-3.9)	1.6 (1.3-1.9)
pH 7.4±0.1/ pH 7.2±0.1	8.3 (6.8-9.7)				9.3 (8.3-10.2)			
pH 7.8±0.1/ pH 7.6±0.1			13.3 (12.3)	13.6 (12.5)			14.7 (13.8-15.6)	9 (7.4-10.5)
pH 8.6±0.1/ pH 7.9±0.1	NE	10.4 (9.4-11.3)			5.9 (5-7.3)	12.6 (11.3)		

Tableau 14 : CE 50 "inhibition de croissance" 72 et 120 heures *Chlorella vulgaris* réalisé sur du PCP pur (Carlo Erba) selon la ligne directrice OCDE 201. Les résultats sont calculés par loi gamma et exprimés en mg/l de PCP, concentration nominale.

faible dureté (CaCO_3 inférieure à 150 mg/l, CE 50-48H plus basses inférieures à 0.6 mg/l). Ceci pourrait également expliquer les valeurs basses de CE 50-24H observées dans cette expérimentation (où la dureté du milieu utilisé est aux environ de 140 mg/l en CaCO_3) par rapport à la littérature.

3.3. Toxicité vis-à-vis de *Chlorella vulgaris*

Quatre essais dupliqués réalisés à deux pH différents ont été effectués (tableau 14).

Les résultats montrent de nettes différences entre les réponses obtenues pour les pH de départ voisins de 7 et les pH de départ voisins de 9.

Les réponses obtenues pour les pH neutres montrent une toxicité largement plus forte que celles obtenues pour les pH plus basiques ; la valeur de la CE 50 est environ quatre fois plus basse pour une valeur de pH de 6.8 ± 0.1 au départ par rapport à un pH de départ de 8.6 ± 0.1 . Cette étude confirme une toxicité du pentachlorophénol sur les chlorelles étroitement liée au pH du milieu utilisé dans les tests.

Ces résultats en accord avec ceux de Crossland et Wolff (1985) indiquent clairement que la toxicité du PCP et du PCPNa technique est plus élevée lorsque le pH est plus bas.

Nous avons trouvé une relation directe entre le pH du milieu et le Log CE 50 : le coefficient de corrélation à 72 heures entre la réponse toxique (en mg/l) et le pH est de 0.89 ce qui est très acceptable .

Les CE 50-120 heures sont, excepté au pH le plus bas ($\text{pH } 6.8 \pm 0.1$), plus élevées à 72 heures qu'à 120 heures ; ceci est abondamment démontré dans la littérature pour les molécules du type phénol. (Aoyama *et al.*, 1987).

Cependant, cette affirmation n'est plus vérifiée à un pH de 6.8 ± 0.1 (départ) où les CE 50 calculées à 120 heures montrent une toxicité plus importante que celle calculées à 72 heures pour les trois essais effectués.

Nous avons constaté lors de la réalisation de ces essais un pH exceptionnellement bas mesuré en fin de test pour les essais dont le pH de départ est inférieur à 7.

Cette constatation est également vraie pour des essais sans pesticide dont le pH de départ est inférieur à 7 ; les pH obtenus à 120 heures montrent des valeurs très basses inférieures ou égales à 4. Lorsque l'on observe les chlorelles au microscope (grossissement 600 fois), on constate que les cellules sont grandes et peu nombreuses. Par contre, les milieux dont le pH final est plus élevé montre des cellules plus petites et beaucoup plus nombreuses. Il apparaît donc que la division des chlorelles est fortement inhibée par un pH de départ légèrement inférieur à 7. Leur état morphophysiologique (grosses cellules peu nombreuses avec vacuole centrale importante) indique un ralentissement de la division cellulaire et donc de la croissance des suspensions algales.

CE 50 5 et 15 minutes *Vibrio fischeri*

Concentration en PCP mesurée	Formulation aqueuse de PCPNa technique à 4.3 % m/m	Formulation organique de PCP technique à 4.9 % m/m
CE 50-5 min	$2.87 \cdot 10^{-3} \%$	$0.42 \cdot 10^{-3} \%$
CE 50-15 min	$2.87 \cdot 10^{-3} \%$	$0.44 \cdot 10^{-3} \%$

Tableau 15 : CE 50-5 minutes et 15 minutes *Vibrio fischeri* des deux formulations aqueuses employées pour le traitement des blochets.

4. Comportement des pesticides à partir de bois traités dans le compartiment aquatique

4.1. Bois traités au pentachlorophénol/pentachlorophénate de sodium

Le but de cette étude est de comparer la cinétique de relargage du PCP à partir de bois traités par du pentachlorophénol dans une solution organique (formulation commerciale Duratrete KMG liquide diluée dans du xylène pour obtenir une concentration finale en PCP de 5%, voir partie matériel) à celle du PCP provenant de bois traités par une solution aqueuse de pentachlorophénol de sodium (PCPNa KMG solide dilué dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration finale de 5% en matière active).

Le protocole de délavage est inspiré de la norme française NF X 41-565 et de la norme européenne X P ENV 1250-2, il a été défini dans la partie Matériel et Méthodes

Après trempage 3 minutes, l'apport de PCP est de 118 ± 14 mg pour 100 g de bois dans le cas de la formulation aqueuse (PCPNa) et 104 ± 29 mg pour 100g de bois dans le cas de la formulation organique : les blochets sont ensuite séchés, à 65 ± 5 % d'hygrométrie et 20 ± 1 °C, 11 semaines avant leur utilisation.

La toxicité sur la bactérie luminescente, des formulations employées pour l'imprégnation des blochets est présentée dans le tableau 15 : elle indique une très forte toxicité de ces deux formulations, notamment de la formulation organique.

Les différentes concentrations en pesticide obtenues dans les eaux de délavage sont présentées dans le tableau 16 et les résultats de toxicité sur *Vibrio fischeri* (inhibition de luminescence à 15 minutes) sont reportés dans le tableau 17.

Il est important de noter que les pH des lixiviats sont tous compris entre 6.3 et 6.5, sans ajustement préalable ce qui correspond presque à la sensibilité maximale de la bactérie *Vibrio fischeri*.

4.1.1. Cinétique du relargage du PCP dans l'eau

Le relargage du PCPNa dans les eaux de délavage de bois traités est plus important que celui du PCP (tableau 16). Ainsi, des concentrations de pentachlorophénol de l'ordre de 35 mg/l dans la première heure sont trouvées pour les bois traités PCPNa alors que seulement 2 mg/l sont retrouvés dans les eaux de délavage des bois traités par une formulation organique de PCP. Cet écart est moins important dans les lixiviats suivants.

Ces concentrations en PCP correspondent à celles trouvées par Goodrich-Mahoney et *al.* (1993) dans une étude de terrain s'intéressant au délavage du PCP à partir de poteaux électriques. Ces auteurs ont en effet trouvé des concentrations en PCP inférieures à 3 mg/l pour 75 % de leur lixiviats provenant de poteaux imprégnés sous vide par une formulation d'huile lourde à 5% m/m de PCP.

Durée de délavage successive (en heures) après renouvellement total des eaux de délavage	Concentration de PCP en mg/l dans les extraits aqueux provenant de blochets traités par		
	formulation aqueuse PCPNa	formulation organique PCP	non traités
1h	69	2	0
2h	34	1.3	0
4h	26	1.5	0
Période de séchage intermédiaire de 16 heures			
8h	16	1.9	0
16h	14	1.9	0
48h	14	2.6	0

Tableau 16 : Concentrations en pentachlorophénol, mesurées par HPLC, obtenues dans les lixiviats de bois traités au PCP, au PCPNa et de bois non traités. Les lixiviats sont récoltés après chaque période de délavage et renouvelés par 500 ml d'eau ultrapure.

Traitement	CE 50-15min <i>Vibrio fischeri</i>				
	PCPNa		PCP		Témoïn
	% v/v	CE 50 mg/l PCP	% v/v	CE 50 mg/l PCP	% v/v
Durée de délavage					
1h	1.5	1.04	19	0.38	35
2h	4	1.36	24	0.31	31
4h	3.7	0.96	23	0.35	33
Période de séchage intermédiaire de 16 heures					
8h	4	0.64	16	0.30	18
16h	5.2	0.73	13.5	0.26	18
48h	5.2	0.73	10.5	0.27	14

Tableau 17 : Concentration en lixiviat (en %) induisant 50 % d'inhibition de la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* à 15 minutes. Les CE 50-15 minutes correspondantes sont exprimées en mg/l de PCP.

4.1.2. Ecotoxicité des lixiviats

Pour les bois traités au PCPNa (tableau 17), les trois premières CE 50-15 min exprimées en mg/l de PCP sont légèrement supérieures à 1 mg/l .

La CE 50-15 minutes du PCP pour la bactérie luminescente à un pH de 6.2 et 7 est respectivement de 0.75 et 1.0 mg/l de PCP (voir tableau 12). La toxicité est donc ici essentiellement dûe à la présence du pesticide dans les lixiviats.

Pour les trois derniers lixiviats (suivant la période intermédiaire de séchage), nous obtenons des CE 50 exprimées en mg/l de PCP légèrement inférieures à celle du PCP seul. Cette toxicité légèrement plus importante peut résulter de produits extraits du bois en même temps que le PCP.

Pour les bois traités au PCP (tableau 17), les CE 50-15 min en mg/l de PCP dans les trois premiers lixiviats sont largement plus faibles que la CE 50-15 min du PCP seul (dilué dans de l'eau ultrapure, voir tableau 12).

Cette toxicité des lixiviats plus importante que celle du PCP dans l'eau pourrait s'expliquer par le délavage de certaines molécules présentes dans la formulation organique (esters aliphatiques, aldéhydes, alcools....) encore présentes dans le bois malgré la période de séchage des blochets (11 semaines).

Pour les trois derniers lixiviats, la toxicité augmente encore légèrement par rapport aux trois premiers échantillons : la même observation que pour les bois traités PCPNa peut être faite, c'est à dire une présence de composés extractibles toxiques pour la bactérie.

En conclusion, on peut noter que la toxicité des lixiviats est, pour les trois essais, plus importante après la période de séchage intermédiaire de 16 heures. Ceci pourrait s'expliquer soit par une oxydation de composés extractibles, soit par un processus physique de séchage permettant d'accélérer la migration de ces composés et du pesticide vers la surface du bois.

CE 50 5 et 15 minutes <i>Vibrio fischeri</i>				
	cyperméthrine pure	propiconazole pure	Formulation aqueuse contenant de la propiconazole et de la cyperméthrine	Formulation organique contenant de la propiconazole et de la cyperméthrine
concentration nominale	quel que soit le protocole utilisé	20 mg/l dans eau ultrapure	0.71 % m/m propico 0.09 % m/m cyper diluée dans de l'eau ultrapure	0.71 % m/m propico 0.06 % m/m cyper diluée dans de l'éthanol
CE 50 5 min	NT	6.4 mg/l (6.1-6.8)	0.17 % (0.13-0.22)	$0.52 \cdot 10^{-3}$ % ($0.35 \cdot 10^{-3}$ - $0.75 \cdot 10^{-3}$)
CE 50 15 min	NT	5.9 mg/l (5.7-6.1)	0.16 % (0.13-0.20)	$0.63 \cdot 10^{-3}$ % ($0.4 \cdot 10^{-3}$ - $0.95 \cdot 10^{-3}$)

Tableaux 18 : CE 50-5 minutes et 15 minutes *Vibrio fischeri* de chaque matière active pure et des deux formulations aqueuse et organique, employées pour le traitement des blochets.

4.2. Bois traités par une solution aqueuse ou une solution organique contenant de la propiconazole et de la cyperméthrine

Après imprégnation par trempage de blochets de pin, l'apport de propiconazole est de 48 ± 7 mg pour 100 g de bois dans le cas de la formulation aqueuse et 45.1 ± 4 mg pour 100 g de bois dans le cas de la formulation organique : les blochets sont ensuite mis à sécher à 65 ± 5 % d'hygrométrie et $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 11 semaines avant leur utilisation.

La toxicité de la propiconazole pure, de la cyperméthrine pure ainsi que des deux formulations d'imprégnation sur *Vibrio fischeri* sont reportés dans le tableau 18.

Les résultats obtenus pour la cyperméthrine montrent une absence de toxicité (NT) sur la bactérie luminescente dans les conditions expérimentales de l'essai.

Plusieurs dilutions aqueuses de cyperméthrines à différents pH ainsi que plusieurs dilutions de la matière active dans des solvants organiques (méthanol, éthanol..) ont été analysées en microtox.

Le milieu osmotique (NaCl 2%) a également été remplacé par du NaHCO_3 à 5%.

Quel que soit le protocole utilisé, la CE 50 de la cyperméthrine n'a pu être obtenue (absence de toxicité) sur la bactérie luminescente alors que les mêmes solutions (cyperméthrine à 100 $\mu\text{g/l}$ dans 10 % de méthanol) ont donné des réponses toxiques très fortes sur *Daphnia magna* (CE 50-24 h = 3 $\mu\text{g/l}$).

Pour la propiconazole, la toxicité sur la bactérie luminescente est moyennement élevée (CE 50-15 min = 5.9 mg/l).

Enfin, les deux formulations utilisées pour le traitement des blochets ont été testées sur microtox : on obtient une réponse forte pour la formulation aqueuse et très forte pour la formulation organique.

4.2.1. Cinétique de délavage de la propiconazole à partir du bois traité

Les cinétiques de délavage de la propiconazole selon la formulation utilisée pour le traitement des blochets sont quasiment identiques (tableau 19). Cependant, les concentrations de propiconazole dans les eaux de délavage sont légèrement plus importantes dans les bois traités par la formulation aqueuse par rapport aux bois traités par la formulation organique.

La faible différence de concentration de matière active dans le bois selon le traitement (48 ± 7 mg pour 100g de bois pour la formulation aqueuse contre 45 ± 4 mg pour 100 g de bois pour la formulation organique) n'explique pas cette différence de relargage en faveur des bois traités par la formulation aqueuse.

Les teneurs en cyperméthrine ont été analysées dans les lixiviats : les concentrations obtenues sont très faibles et en règle générale inférieures à 10 $\mu\text{g/l}$ pour les deux formulations utilisées.

Durée de délavage successive (en heure) après renouvellement total des eaux de délavage	Concentrations de propiconazole en mg/l dans les extraits aqueux provenant de blochets traités par		
	formulation aqueuse de propiconazole	formulation organique de propiconazole	non traités
1h	6.6	3.7	0
2h	3.3	1.7	0
4h	2.3	1.3	0
Période de séchage intermédiaire de 16 heures			
8h	2.6	1.5	0
16h	2	1.1	0
48h	2.2	1.4	0

Tableau 19 : Concentrations en propiconazole obtenues dans les lixiviats de bois traités par une formulation aqueuse et une formulation organique (analyse par GC-ECD après extraction). Les lixiviats sont récoltés après chaque période de délavage et renouvelés par 500 ml d'eau ultrapure.

CE 50-15min <i>Vibrio fischeri</i>					
Traitement	Formulation aqueuse		Formulation organique		Témo in
	% v/v	CE 50 mg/l Propiconazole	% v/v	CE 50 mg/l Propiconazole	
Durée de délavage					% v/v
1h	36.2	2.4	56	2.1	60
2h	44	1.5	62	1.1	58
4h	45	1.0	49	0.6	74
Période de séchage intermédiaire de 16 heures					
8h	35.2	0.91	35.2	0.30	39.8
16h	34.8	0.70	32.2	0.26	40.2
48h	28.4	0.62	29.4	0.27	35.7

Tableau 20 : Concentration en lixiviat (en % v:v) induisant 50 % d'inhibition de la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* à 15 minutes. Les CE 50-15 minutes correspondantes sont exprimées en mg/l de propiconazole.

Le rapport initial des deux matières actives dans la formulation n'est pas conservé dans les lixiviats : ce rapport est d'environ 8/1 en faveur de la propiconazole dans la formulation aqueuse et d'environ 12/1 dans la formulation organique. Dans les lixiviats, un rapport d'environ 400/1 en faveur de la propiconazole est trouvé pour les deux formulations : ceci peut s'expliquer par une meilleure rétention de la cyperméthine dans le bois et également par une très faible solubilité de cette matière active dans l'eau (inférieure à 0.2 mg/l) par rapport à la propiconazole (environ 100 mg/l).

4.2.2. Ecotoxicité des lixiviats

Dans les trois premières fractions de délavage, on constate une faible différence de toxicité entre les deux traitements (tableau 20).

Les lixiviats provenant des bois traités par la solution organique sont considérés comme non toxiques (les CE 50-15 min obtenues sont supérieures à 45 %). Les lixiviats correspondant aux mêmes temps d'agitation pour les bois traités par la formulation aqueuse donnent des CE 50-15 min comprises entre 35 et 45 % indiquant une très faible toxicité.

L'explication réside dans un délavage plus important de la propiconazole pour les bois traités par la formulation aqueuse.

En tenant compte de la teneur en propiconazole des lixiviats, il apparaît que l'inhibition de luminescence de 50 % de la bactérie est obtenue pour des concentrations très faibles de propiconazole (5 à 6 fois plus faible qu'avec la propiconazole pure). La présence de constituants naturels du bois extraits en même temps que le fongicide pourrait expliquer cette toxicité.

Après la période de séchage intermédiaire des blochets de 16 heures, les extraits sont plus toxiques que ceux précédant le séchage. Les produits naturels du bois seraient en cause comme l'indique les résultats des témoins.

Plus généralement, les concentrations en propiconazole obtenues dans ces essais sont supérieures aux valeurs de CL 50-96H obtenues sur des macroinvertébrés benthiques comprises entre 0.9 mg/l et 1.3 mg/l (Aanes et Baekken, 1994). Il apparaît donc que de telles concentrations en pesticides sont susceptibles de provoquer des risques non négligeables, en toxicité aiguë, sur certains macroinvertébrés présents dans nos rivières dans le cas d'un délavage important.

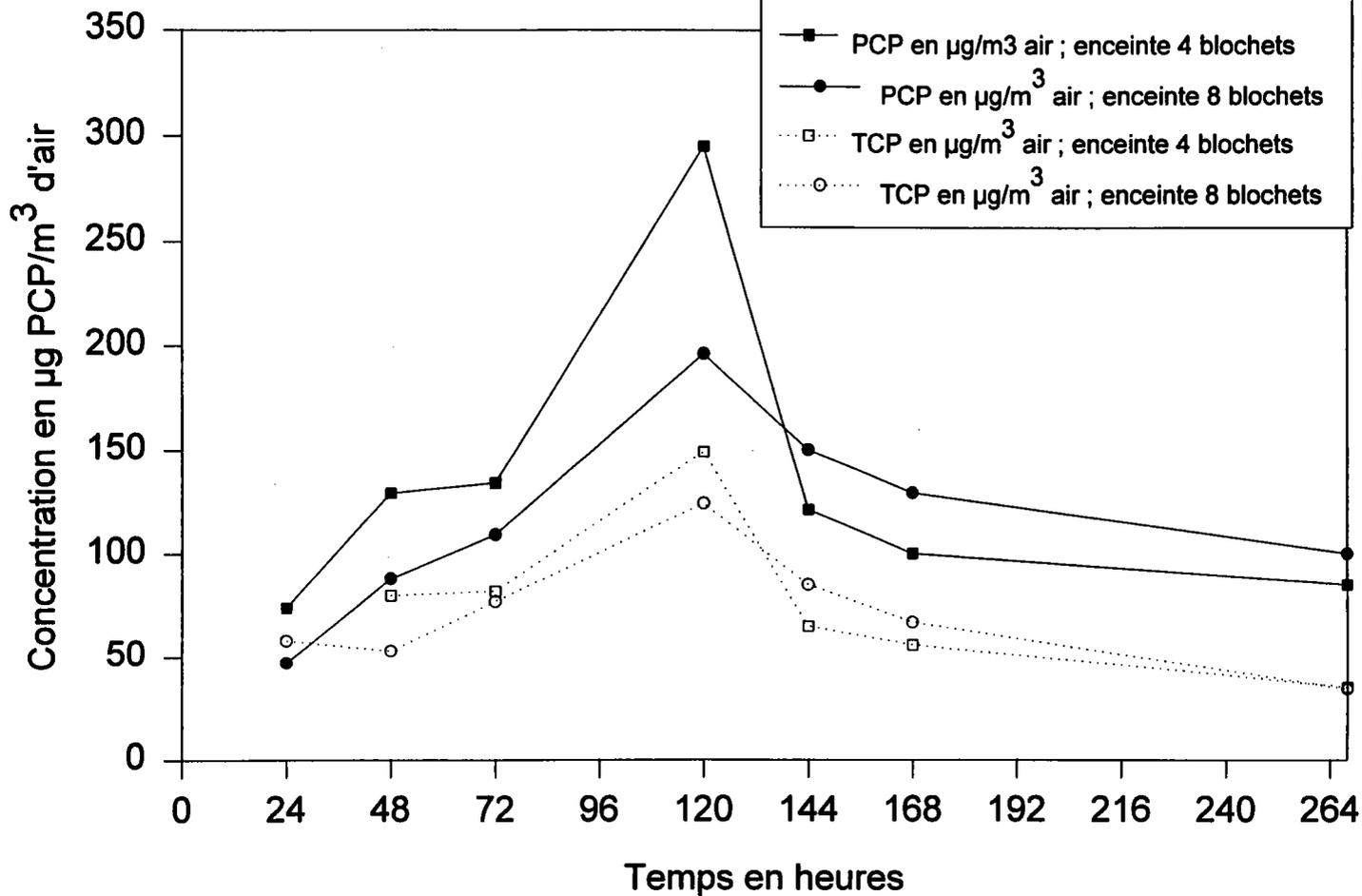


Figure 20 : cinétique d'émission du pentachlorophénol et du tétrachlorophénol à partir de bois traités dans l'air de l'enceinte

CHAPITRE 7 : COMPORTEMENT DES PESTICIDES DANS L'AIR À PARTIR DE BOIS TRAITÉS

1. EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES : MISE AU POINT DU MODÈLE

1.1. Récapitulatif des conditions des essais préliminaires

Les blochets ont été positionnés dans l'enceinte pour ces essais préliminaires, "en ligne" c'est à dire dans l'axe de circulation de l'air avec un nombre de 8, 4 ou 2 blochets par enceinte (figure 11, partie Matériels et Méthodes).

Le traitement des blochets a été réalisé par trempage court 3 minutes, l'installation des échantillons dans la chambre d'essai a été effectuée 1 heure 30 après l'imprégnation (il n'y a donc pas eu de période de séchage du bois après l'imprégnation).

Un ventilateur a été installé dans l'enceinte afin de pratiquer un brassage de l'air dans la chambre d'essai.

Les paramètres climatiques choisis comme conditions standards pour l'enceinte de 1 m³ sont:

- température de 23°C
- humidité relative de 45 %
- vitesse de l'air : 0.3 m/s
- débit d'air : 3.5 litre/heure

1.2. Résultats préliminaires

La cinétique d'émanation du PCP à partir du bois traité a été étudiée pour plusieurs taux de charge : 2.7 et 5.4 m²/m³. Le taux de charge (ou ratio m²/m³) correspond au rapport de la surface de bois traité (en m²) au volume de l'enceinte (en m³).

La cinétique d'émanation du pentachlorophénol dans l'air de l'enceinte est présentée dans la figure 20.

Deux enceintes ont été utilisées dans cet essai ; une enceinte contenant 4 blochets et une enceinte contenant 8 blochets placés selon la disposition "en ligne".

On constate que

- les valeurs de concentration en PCP dans l'air ne sont pas supérieures dans l'enceinte contenant 8 blochets par rapport à l'enceinte contenant 4 blochets.
- le tétrachlorophénol (contaminant du PCP technique) est également détecté : les cinétiques d'émanations sont parallèles à celles du PCP tout en étant plus faibles

Ces résultats traduisent un problème de méthodologie dans la mesure où la concentration du pesticide dans l'air n'est pas supérieure lorsque le nombre de blochets traités est plus élevé.

Ces résultats s'expliquent par un nombre trop important d'échantillons de bois traités dans l'enceinte provoquant une saturation de l'air par le PCP (cette saturation se produisant déjà

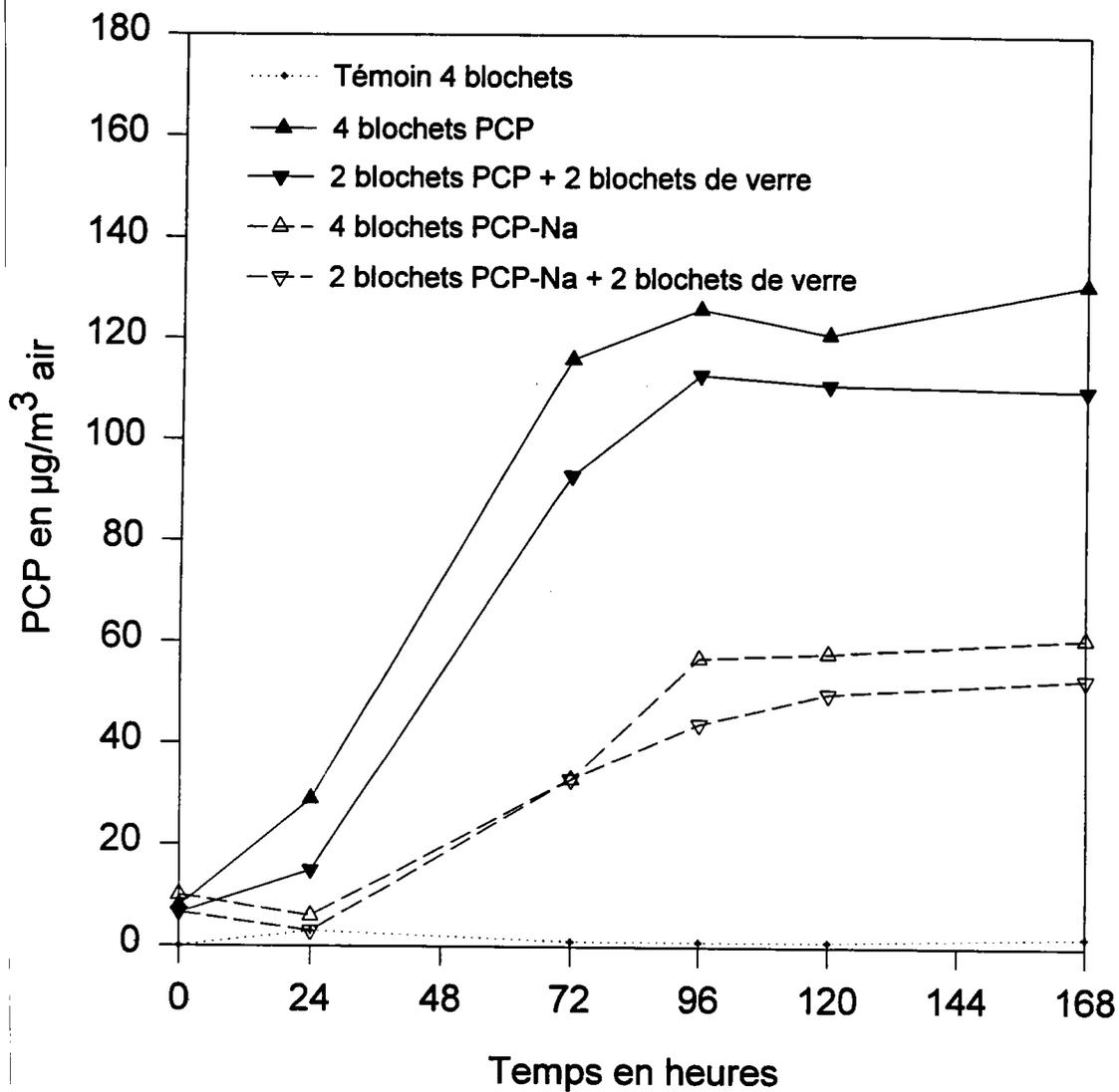


Figure 22 : profils des cinétiques d'émission du pentachlorophénol à partir de bois traités par du PCP en formulation organique et PCPNa en formulation aqueuse

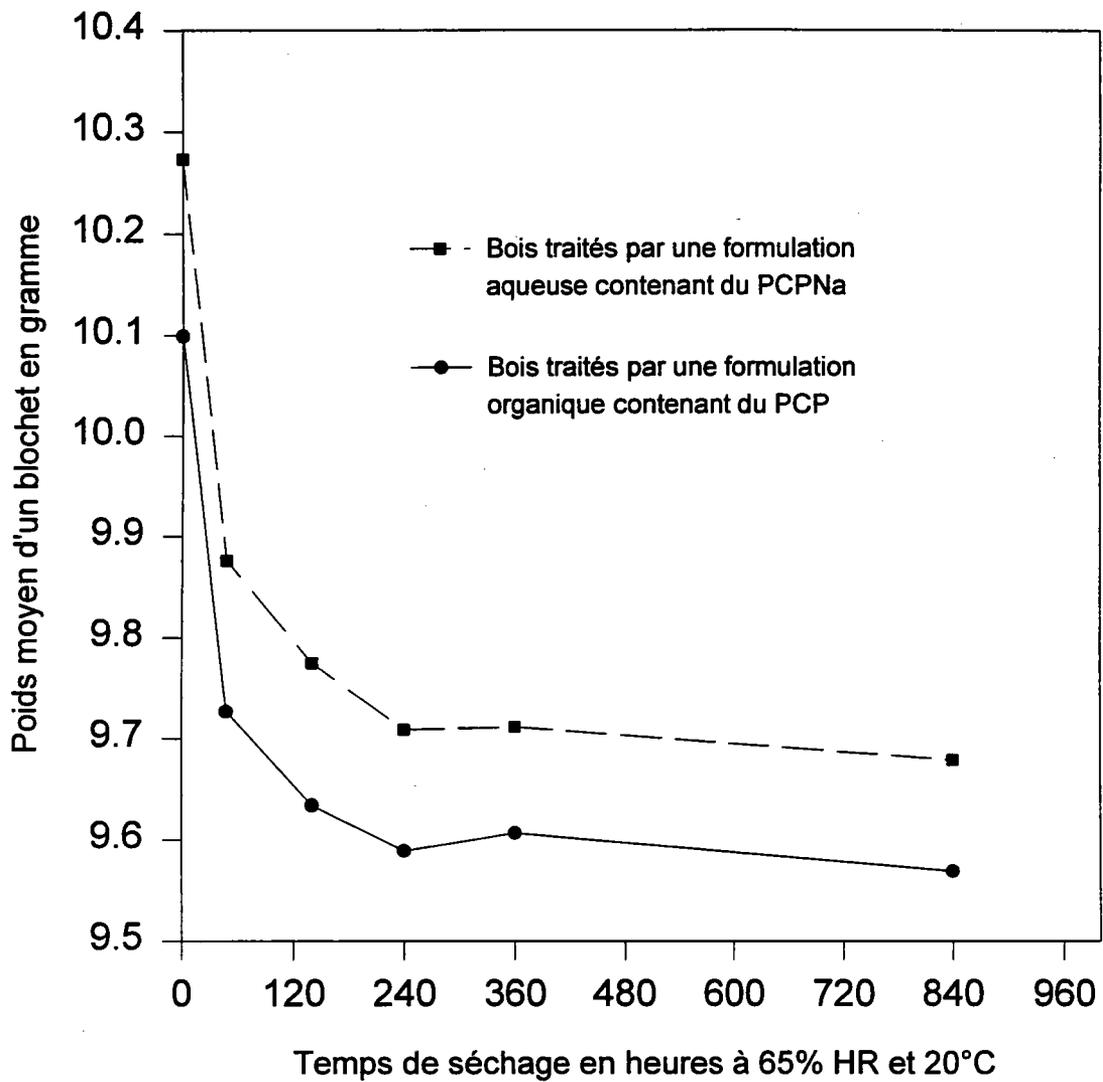


Figure 21 : séchage des blochets à 65% HR et 20°C après traitement par une formulation organique ou une formulation aqueuse contenant du pentachlorophénol.

avec 4 blochets) ainsi qu'une gêne du brassage de l'air avec redéposition du pesticide sur des échantillons voisins).

Il apparait clairement que le protocole choisi précédemment n'est pas adapté aux essais de volatilisation des matières actives dans l'air.

Les problèmes de saturation de pesticide dans l'air sont dûs à un taux de charge trop élevé. La non homogénéité des mouvements de l'air dans la chambre, accentuée par la présence des ventilateurs, empêche toute compréhension et exploitation des résultats.

2. EXPÉRIENCES DÉFINITIVES

Les blochets traités utilisés pour les manipulations ultérieures seront séchés au moins 3 semaines avant les essais (504 heures), ce qui selon le graphe de la figure 21 nous permet d'être certain de ne plus avoir d'évaporation de solvant après cette date.

En fonction des résultats obtenus dans les expériences préliminaires, les conditions d'essai sélectionnées pour ces expériences définitives seront définies comme suit :

- séchage des blochets durant 3 semaines minimum avant leur installation dans les chambres d'essai
- positionnement des blochets selon la disposition "en barillet", c'est à dire dans un plan perpendiculaire au flux d'air circulant.
- suppression du ventilateur dans les chambres d'essais
- réduction du taux de charge par remplacement des blochets non traités par des blochets en verre borosilicaté afin d'obtenir le même encombrement stérique tout en diminuant les adsorptions "parasite".

2.1. Cinétique d'émission du PCP à partir de bois traités PCP ou PCPNa

Les profils d'émission obtenus (figure 22) nous permettent de constater que :

- les comportements du PCP et du PCPNa diffèrent dans le compartiment atmosphérique
- le relargage du PCP à partir de bois traités par une formulation organique contenant du PCP est bien plus important que celui provenant de bois traités par une formulation aqueuse contenant du PCPNa
- les concentrations augmentent jusqu'à 96 heures pour atteindre des valeurs stables (plateau: nous avons estimé que la phase plateau est obtenue lorsque la concentration détectée ne varie pas de $\pm 10\%$ par rapport à la valeur précédente. Par ailleurs un minimum de trois prélèvements constants à $\pm 10\%$ permet de dire que l'on a atteint cette phase plateau).
- les valeurs stables formant le plateau sont atteintes au même moment quelque soit le traitement (PCP ou PCPNa) ; ces valeurs définissent la concentration pseudo-stationnaire du pesticide dans l'air pour un taux de charge et un temps de séchage particulier.
- les concentrations obtenues en phase plateau sont supérieures pour 4 blochets traités par

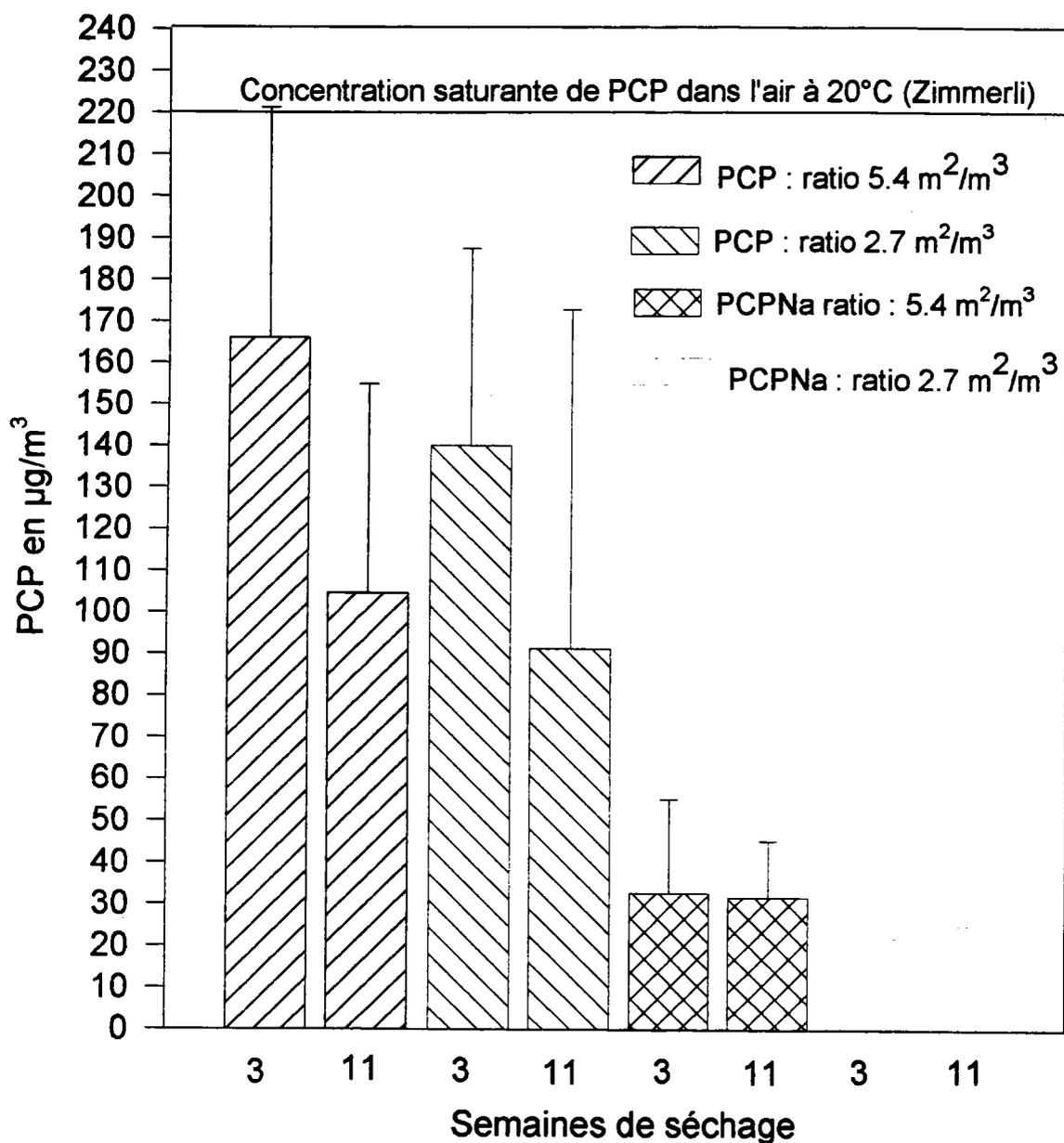


Figure 23 : influence du temps de séchage sur la volatilisation de PCP à partir de bois traités PCP ou PCPNa. Moyenne de trois concentrations de PCP dans l'air (à l'équilibre) correspondant à 3 manipulations.

rapport à 2 blochets traités + 2 blochets en verre borosilicaté.

Pour expliquer les profils de cinétique obtenus, on peut avancer l'hypothèse d'une forte adsorption du pesticide sur les parois des chambres d'essais, dans les tubes en téflon ainsi que sur les blochets en verre borosilicaté (jusqu'à la valeur du plateau) puis d'une saturation des sites d'adsorption du pesticide, les valeurs de plateau étant alors atteintes.

Ces hypothèses seront discutées ultérieurement de manière plus approfondie dans la partie adsorption des pesticides (paragraphe 2.5).

2.2. Influence du temps de séchage sur la volatilisation

La volatilisation du pesticide à partir du bois traités et séchés pendant 3 ou 11 semaines avant utilisation a été étudiée sur 3 manipulations successives ; les valeurs obtenues sont exprimées en $\mu\text{g PCP}/\text{m}^3$ d'air.

Ces valeurs sont reportées sous forme d'histogramme dans la figure 23 : chaque histogramme représente la moyenne de 3 concentrations de PCP dans l'air (accompagnée de son écart-type) obtenue pour 3 manipulations similaires. Chaque concentration correspond à la phase "plateau" obtenue au delà de 96 heures.

La valeur de saturation du pesticide (dont le calcul est indiqué en annexe 1) est représenté par une barre horizontale.

On constate que : - les valeurs de PCP dans l'air sont bien plus importantes lorsque le bois est traité par une solution organique de PCP par rapport au traitement par une solution aqueuse de PCPNa.

- pour les bois traités par la formulation organique de PCP, le séchage a un impact non négligeable sur la concentration de PCP dans l'air. Les concentrations détectées avec des blochets séchés 11 semaines baissent d'environ 35 % pour le taux de charge de $5.4 \text{ m}^2/\text{m}^3$ et de 34 % pour le taux de charge de $2.7 \text{ m}^2/\text{m}^3$ par rapport aux valeurs détectées après 3 semaines de séchage.

- pour les bois traités par la formulation aqueuse de PCPNa, les concentrations de PCP dans l'air ne sont pas affectées par le séchage du bois. On remarque une stabilisation des concentrations de PCP obtenues dans l'air de l'enceinte quelque soit le taux de charge utilisé.

En fait, le PCPNa n'ayant pas de tension de vapeur et ne se volatilisant pas, ce que nous détectons dans les solvants récupérés après bullage est du PCP. Cette constatation a été démontrée par l'analyse puisque les temps de rétention du PCP et du PCPNa en GC-ECD ne sont pas les mêmes.

Il est possible qu'une partie du PCPNa se transforme en forme moléculaire en raison de l'acidité du bois de résineux (à titre indicatif, la mesure du pH d'échantillons de pin sylvestre indique un pH de 5, cette valeur est proche du pKa de 4.7 du pesticide). C'est cette forme moléculaire, PCP, qui sera détecté par bullage après volatilisation.

	Protocole utilisé et types de résultats	4 blochets traités			2 blochets traités	4 blochets non traités
		non séchés	séchés 3 S	séchés 11 S	séchés 11 S	séchés 11 S
P C P	Séchage du bois					
	μg de PCP piégé dans toluène	105	185	62	24	1
	μg de PCP adsorbé sur les parois	104	22	7	3	1
	μg de PCP adsorbé dans les tubes téflons	65	NE	2	1	<1
	Total PCP volatilisé (piégage + adsorption) en μg	274	207	71	26	2
	% PCP adsorbé/PCP volatilisé	62%	NE	13%	14%	50%

P C P N A	μg de PCP piégé dans toluène		40	38	
	μg de PCP adsorbé sur les parois		7	4	
	μg de PCP adsorbé dans les tubes téflons		NE	1	
	Total PCP volatilisé (piégage + adsorption) en μg		NE	43	
	% PCP adsorbé/PCP volatilisé		NE	12%	

Tableau 21 : PCP récupéré par piégage dans les ampoules à solvant (toluène) et par adsorption sur les parois des enceintes et dans les tubes téflon. Les résultats sont exprimés en μg de PCP et également en % de PCP adsorbé par rapport à la totalité du pesticide volatilisé; NE signifie non étudié

2.3. Variabilité et reproductibilité des résultats obtenus

Les résultats bruts correspondant aux cinétiques d'émanations du PCP de ces trois essais sont donnés en annexe 2.

La variabilité des résultats peut résulter des facteurs suivants :

- manipulations successives ne pouvant être réalisées simultanément pour des raisons d'encombrement de l'enceinte 1 m³ (seulement 5 chambres d'essais au maximum, 4 essais et un témoin, peuvent être disposées dans l'enceinte 1 m³ ce qui correspond à une manipulation).

- imprégnations successives réalisées pour les différents temps de séchage de chaque manipulation.

- échantillonnage des blochets dans chaque lot d'imprégnation (malgré le fait que celui-ci soit effectué selon des critères de sélection strictes).

Pour chaque manipulation, la différence des concentrations du PCP en fonction du taux de charge est significative.

Cependant, lorsque l'on groupe les résultats des 3 essais, cette différence est moins nette compte tenu des résultats de la manipulation 2 où les concentrations de PCP dans l'air étaient plus élevées que dans les deux autres, pour un même taux de charge (annexe 2).

Les résultats obtenus montrent donc une variabilité non négligeable mais qui paraît, vu les facteurs de variabilité additionnels décrits ci-dessus, acceptable.

2.4. Adsorption du PCP sur les parois de l'enceinte et dans les tubes téflons

Nous avons évalué quantitativement l'adsorption du pesticide sur le verre borosilicaté de l'enceinte expérimentale ainsi que dans les tubes en téflon au cours des essais préliminaires et définitifs.

Tichenor (1987) et Jayjock *et al.* (1995) montrent effectivement que l'adsorption sur les parois d'un modèle de petites enceintes n'est pas un phénomène négligeable même si le matériel utilisé pour les parois de la chambre est inerte.

Les parois de l'enceinte et les tubes téflon ont été rincés à plusieurs reprises par de l'acétone qui sera analysé en GC-ECD pour sa teneur en pesticide.

Les résultats des adsorptions sont présentés dans le tableau 21 : les émanations de pesticides ont été mesurées toutes les 24 heures jusqu'à 310 heures. En fin de manipulation, le PCP adsorbé sur les parois et dans les tubes en téflon a été quantifié selon le protocole précédemment décrit.

Ces études d'adsorption ont également été réalisées lors des études préliminaires : elles montrent une forte adsorption du PCP dans l'enceinte expérimentale notamment sur le ventilateur.

En plus de cette adsorption sur le ventilateur, la difficulté rencontrée pour mesurer la vitesse de l'air dans l'enceinte nous a conduit à éliminer cet élément plus perturbateur qu'utile. Ces résultats en présence de ventilateur sont donnés en annexe 3.

Les résultats présentés dans le tableau 21 nous permettent de constater que :

- l'adsorption du PCP est toujours plus importante sur les parois de l'enceinte que dans les tubes en téflon.

- l'adsorption du pesticide est très importante lorsque les blochets ne sont pas séchés (environ 60 % des émanations)

- l'adsorption sur les parois des enceintes est significative et est de l'ordre de 10 à 20 % des émanations totales lorsque les bois sont séchés au moins 3 semaines avant l'essai.

Ces valeurs sont confirmées par Prueger et Pfeiffer (1994) qui ont trouvé des pourcentages d'adsorption de 23 ± 5 % du total des émanations sur les parois d'un modèle de 1.5 litre dans le cadre d'une étude de volatilisation d'un pesticide (métolachlore) à partir du sol.

Il apparaît que le phénomène d'adsorption n'est pas négligeable lorsque l'on étudie les émanations d'un pesticide à partir de bois traités dans un modèle d'enceinte.

La grande différence d'adsorption existant entre les bois séchés et les bois non séchés peut s'expliquer par la volatilisation des solvants qui favorise l'adsorption du pesticide sur les parois de l'enceinte.

2.5. Influence du taux de charge

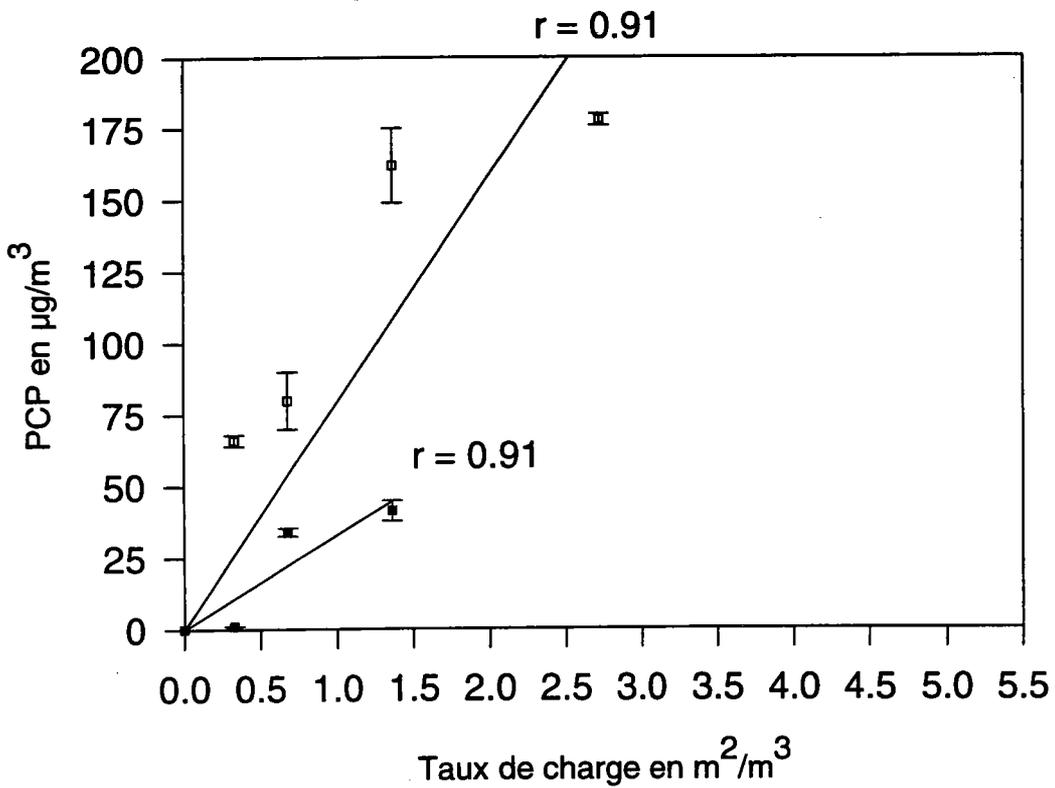
Le taux de charge ou ratio m^2/m^3 correspond au rapport de la surface du matériel testé susceptible d'émettre des composés dans le compartiment aérien sur le volume d'air de l'enceinte (chambre d'habitation par exemple). D'après Schenk *et al.*(1993), le ratio communément trouvé dans les habitations où l'on retrouve du bois traité est généralement compris entre 0.2 et $1.2 m^2/m^3$.

Or, dans notre modèle d'enceinte, ce ratio est égal à 5.4 pour 4 blochets par enceinte et 2.7 pour 2 blochets par enceinte. Nous sommes par conséquent au dessus des valeurs que l'on peut trouver en réalité ; nous avons donc baissé le ratio m^2/m^3 utilisé dans les études suivantes afin d'être plus proche des conditions réelles.

a) Concentrations détectées pour de faibles ratios

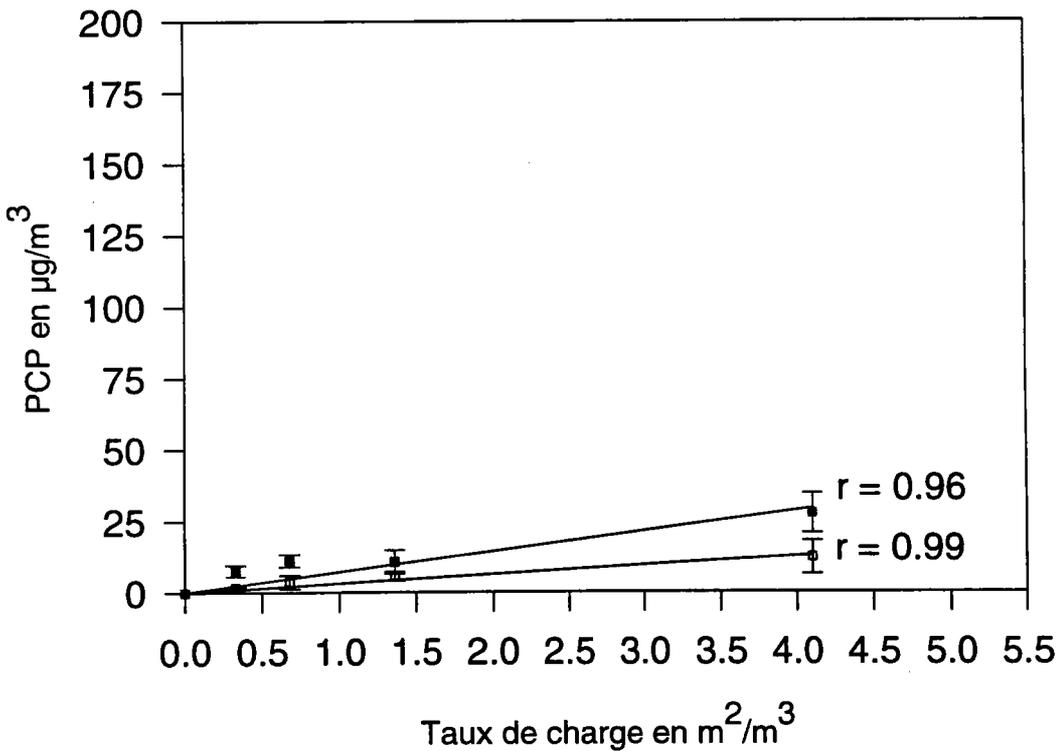
Pour obtenir des faibles ratio, nous avons diminué la valeur du taux de charge selon deux protocoles différents:

- en réduisant le nombre de blochets par enceinte jusqu'à la valeur de $1.36 m^2/m^3$ correspondant à 1 blochet par enceinte (c'est à dire $47.5 cm^2/3500 cm^3 = 0.00475 m^2/0.0035m^3=1.36$). Les blochets manquants sont remplacés par des blochets en verre ; ceci dans le but de réduire le ratio m^2/m^3 sans affecter l'encombrement de la chambre (afin que les



□ Blochets séchés 3 semaines ■ Blochets séchés 11 semaines

Figure 24 : concentrations de PCP dans l'air de l'enceinte en fonction du taux de charge pour des blochets traités PCP séchés 3 ou 11 semaines



□ Blochets séchés 3 semaines ■ Blochets séchés 11 semaines

Figure 25 : concentration de PCP dans l'air de l'enceinte en fonction du taux de charge pour des blochets traités PCPNa séchés 3 ou 11 semaines

mouvements d'air dans la chambre ne soit pas affectés).

- en réduisant la surface de bois traitée sur le dernier blochet présent dans l'enceinte pour obtenir des taux de charge de $0.67 \text{ m}^2/\text{m}^3$ et de $0.33 \text{ m}^2/\text{m}^3$ correspondant à des valeurs que l'on peut trouver dans des locaux habités. Une partie de la surface du blochet a été imperméabilisée par une couche de colle polymérique (Tivosan) empêchant toute émanation du pesticide au travers de la surface du bois

Ce colmatage est pratiqué proportionnellement aux trois coupes de bois existant sur le blochet EN 113 (coupe radiale, coupe tangentielle et coupe longitudinale) : ceci dans le but de ne pas favoriser une émanation préférentielle du pesticide par rapport à un type de coupe. Il est en effet connu que le relargage des matières actives de bois traité dans l'air ou dans l'eau se produit de manière préférentielle à partir de la coupe transversale.

Ces blocs partiellement colmatés ont été utilisés pour étudier la corrélation entre le taux de charge et les concentrations de PCP détectées dans l'air de l'enceinte pour de faibles valeurs de ratio : les résultats sont représentés dans la figure 24 pour les bois traités par du PCP et dans la figure 25 pour les bois traités par du PCPNa.

Quatre taux de charge ont été étudiés parallèlement à un témoin sur des bois traités au PCP ou au PCPNa : 0.33, 0.67, 1.36 et 2.7 dans le cas du PCP et 0.33, 0.67, 1.36 et 4.05 dans le cas du PCPNa.

La courbe obtenue pour les bois traités PCP (figure 24) montre de fortes augmentations des concentrations de PCP pour de faibles variations du taux de charge comprises entre 0 et $1.36 \text{ m}^2/\text{m}^3$ et de plus faibles augmentations pour des taux de charge dépassant $1.36 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

On peut cependant calculer les paramètres d'une proportionnalité directe ($y = ax$) entre les concentrations de PCP dans l'air et le taux de charge pour les ratios utilisés dans cette manipulation :

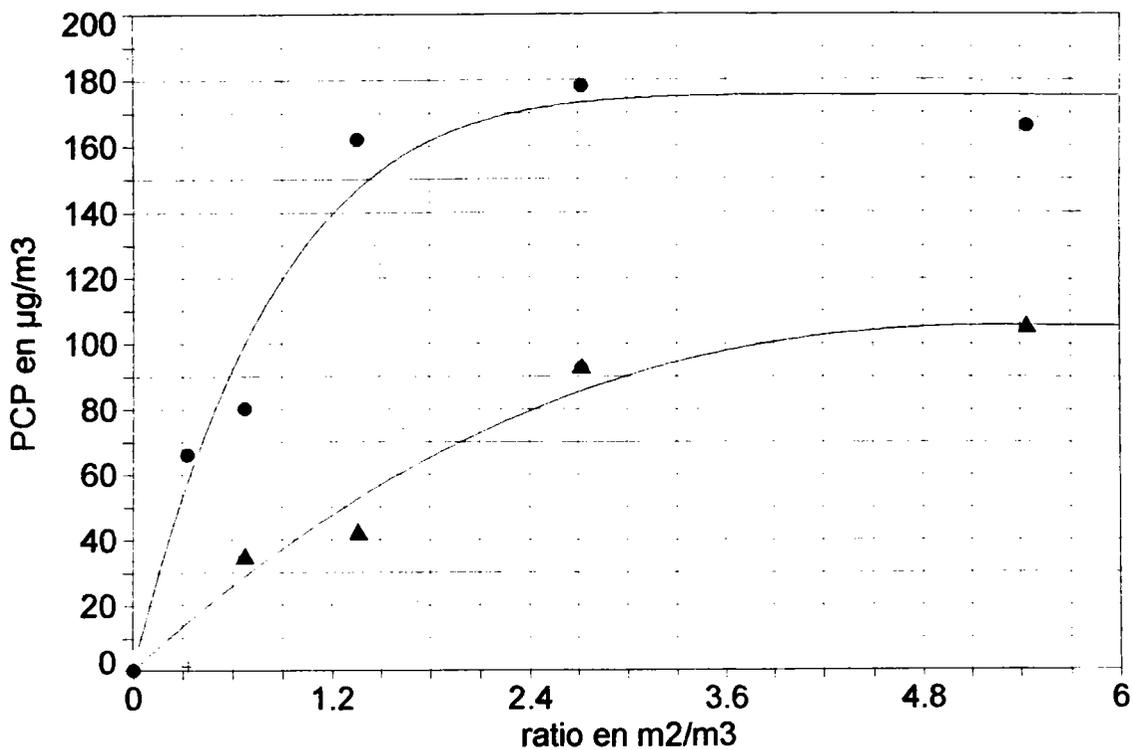
- les coefficients de corrélation r sont de 0.91 pour les courbes "concentrations PCP dans l'air versus le taux de charge" pour des blocs utilisés après 3 et 11 semaines de séchage. Ces valeurs du coefficient de corrélation r sont bonnes mais ne sont pas excellentes pour démontrer une proportionnalité directe entre les émanations de pesticide et le taux de charge.

- les concentrations détectées avec des blocs séchés 3 semaines sont supérieures à celle correspondant aux essais réalisés avec des blocs séchés 11 semaines

Pour les concentrations en PCP obtenues à partir de bois traités PCPNa en fonction du taux de charge (figure 25) nous constatons que :

- la proportionnalité directe ($y = ax$) calculée sur les 5 valeurs obtenues pour chaque conditionnement des blocs présente des coefficients de corrélation r satisfaisants : $r = 0.96$ pour 3 semaines de conditionnement et $r = 0.99$ pour 11 semaines de conditionnement.

- les concentrations détectées à 11 semaines sont supérieures à celle détectées à 3 semaines, à l'inverse de ce qui est obtenu avec les bois traités au PCP.



● blochets traités au PCP et séchés 3 semaines

▲ blochets traités au PCP et séchés 11 semaines

Figure 26 : concentration de PCP dans l'air en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en fonction du ratio m^2/m^3 (valeurs provenant de plusieurs manipulations). Régression par la fonction exponentielle $y = a(1 - e^{-bt})$ avec un coefficient de corrélation $r = 0.98$.

Cela confirme les observations faites dans le paragraphe "influence du séchage" qui met en évidence des concentrations en PCP dans l'air à partir de bois traités PCPNa non influencées par le séchage.

b) Modélisation de la courbe "concentration en fonction du taux de charge" pour tous les ratios étudiés

L'ensemble des résultats obtenus avec les différents taux de charge (0.33 à 5.4 m²/m³ ; voir figure 26) permet d'obtenir des profils de courbes PCP en fonction du ratio "asymptotique" de type exponentielle (figure 26).

Ces courbes "concentration de PCP dans l'air versus le taux de charge" peuvent alors être modélisées par une simple régression linéaire $C = a \cdot (1 - e^{-bR})$.

Ce type d'équation a déjà été utilisé par des auteurs s'intéressant aux cinétiques d'émission de produits chimiques à partir de matériaux émetteurs (Colombo *et al.*, 1990).

Les coefficients de corrélation r sont alors de 0.98 pour les deux temps de séchage 3 et 11 semaines (figure 26). Le type de fonction utilisée pour lisser la courbe nous permet de vérifier que, lorsque la valeur du ratio

$$\begin{aligned} R &\rightarrow \infty \\ e^{-bR} &\rightarrow 0 \\ a(1 - e^{-bR}) &\rightarrow a \end{aligned}$$

La valeur du paramètre a , définie par le lissage de la courbe, nous donnera l'asymptote de la courbe.

Dans le cas du traitement au pentachlorophénol avec séchage de 3 semaines des blochets traités (figure 26), il apparaît que lorsque le taux de charge tend vers de grandes valeurs, les concentrations de pesticides dans l'air tendent vers 190 µg/m³. Cette valeur est proche de la concentration saturante du pesticide dans l'air définie par Zimmerli (1982) qui est de 220±20 µg/m³. On peut donc considérer que lorsque le ratio tend vers de grandes valeurs, la concentration de PCP dans l'air tend vers la concentration de vapeur saturante. Cette concentration de vapeur saturante étant l'asymptote de la courbe PCP versus le taux de charge.

Pour les blochets traités au PCP séchés 11 semaines, la modélisation conduit au même type de fonction. Dans ce cas, la concentration asymptotique de la courbe, lorsque R tend vers l'infini, est de 160 µg/m³. Cette valeur est inférieure à la concentration de vapeur saturante du PCP dans l'air et nous permet de penser que la concentration de pesticide dans le bois a été modifiée lors du séchage par une évaporation du pesticide dans l'air et par une diffusion du pesticide vers l'intérieur du bois.

Pour les bois traités au PCPNa, la modélisation par la même fonction $y = a(1 - e^{-bR})$ ne permet pas d'améliorer les coefficients de corrélation obtenus précédemment ($r=0.99$ pour la proportionnalité directe). Les coefficients obtenus sont en effet de $r = 0.82$ et $r = 0.95$ respectivement pour 3 et 11 semaines. On s'aperçoit également que les courbes tendent vers la valeur asymptotique située à 35 µg/m³. Cette valeur est largement inférieure à la

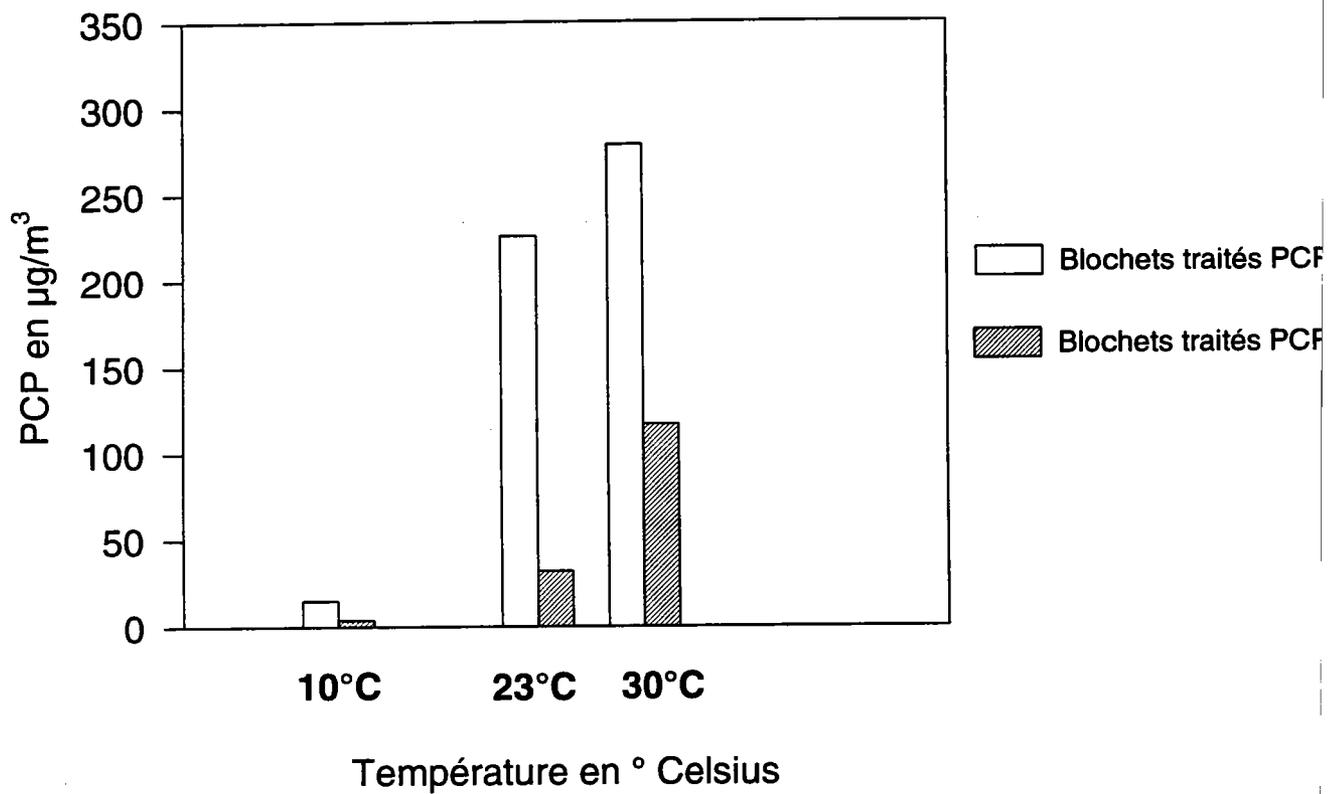


Figure 27 : influence de la température sur les émanations de PCP à partir de bois traités PCP ou PCPNa séchés 11 semaines (le ratio est de 2.7 et hygrométrie fixée à 45 %)

concentration saturante du PCP dans l'air et prouve que les quantités de PCP disponibles pour la volatisation dans le bois sont limitées. Les quantités de PCP détectées résultent à notre avis de la transformation de PCPNa en PCP dans le bois.

La valeur du taux de charge et le temps de séchage sont donc des paramètres essentiels lorsque l'on dose les émanations de pesticide à partir de bois traités dans le compartiment aérien. Le choix des valeurs de ce taux de charge est très important et devrait correspondre aux taux de charge que l'on est susceptible de trouver dans les locaux d'habitation.

Une modélisation de la concentration atmosphérique du pesticide en fonction du taux de charge est donc, dans la majorité des cas, nécessaire à l'exploitation des résultats afin d'extrapoler les résultats expérimentaux à la réalité.

2.6. Influence des facteurs climatiques sur les émanations du PCP

Toutes les expérimentations réalisées jusqu'ici ont été conduites dans des conditions fixes de température 23°C et d'hygrométrie 45 % avec un renouvellement d'air des chambres d'essais réglé à 1 par heure. Ces caractéristiques climatiques sont couramment utilisées pour le dosage des pesticides dans l'air.

Il est intéressant de connaître l'influence de ces paramètres sur les émissions de pesticide dans le but de connaître les variations susceptibles de se produire dans les cas réels c'est à dire dans les locaux d'habitation.

2.6.1. Influence de la température

Nous avons fait varier la température, lorsque la phase plateau a été atteinte, tout en gardant l'hygrométrie constante à 45 % ; les résultats sont présentés dans la figure 27.

On constate que l'influence de la température sur les émanations de PCP est très importante pour les bois traités au PCP ou au PCPNa. De grandes variations sont mesurées lorsque l'on passe de 10°C à 30°C tout en gardant la même hygrométrie de 45 %.

De nombreux auteurs ont constaté les mêmes effets de la température sur les émanations du PCP : Ingram *et al.* (1981a) montrent un effet stimulant de l'augmentation de la température sur les émanations de PCP à partir de bois traités pour trois types de formulation à base de pentachlorophénol. Gebefügi *et al.* (1979) et Gebefügi (1989) ont montré une augmentation des concentrations de PCP dans l'air lorsque la température augmente, cette observation ayant été faite dans une pièce d'habitation traitée par du PCP : cependant les auteurs n'ont pas mis en évidence de relation simple entre la température et les émanations car la condensation est apparue dans leur étude comme un facteur non contrôlable.

Cette augmentation de la concentration du PCP dans l'air s'explique tout d'abord par l'importance fondamentale de la température sur la pression de vapeur saturante d'un pesticide. L'équation de Clayperon-Clausius, $\log P = \Delta H_v / 2,3RT + \text{constante}$, donne la relation existant entre la pression de vapeur de la substance P en pascal, la température T en degré Kelvin et

la chaleur latente ΔH_v (ou chaleur de vaporisation de changement d'état, liquide ou solide à gazeux). Ceci a comme conséquence l'augmentation de la concentration saturante de la substance dans l'air.

Asakawa *et al.* (1994) a montré dans une étude de terrain faite sur les concentrations de chlordane (termicide organochloré) détectées dans l'air de locaux d'habitation, une très forte corrélation entre les valeurs de concentrations détectées et la température des locaux. L'étude montre en effet un maximum de concentration observé en été lorsque les températures sont les plus élevées.

2.6.2. Influence du renouvellement de l'air

Toutes les manipulations précédentes avaient été effectuées avec un renouvellement d'air de la chambre d'essai constant et égal à 1, c'est à dire correspondant à 1 renouvellement d'air par heure.

Nous avons fait varier, dans cette expérience, le débit d'air afin d'étudier son influence sur les émanations du PCP à partir de bois traités. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Renouvellement de la totalité de l'air de l'enceinte par heure (h^{-1})	ratio 1.3		ratio 4	
	PCP en $\mu g/m^3$	Taux de volatilisation en $\mu g/m^2 \cdot h$	PCP en $\mu g/m^3$	Taux de volatilisation en $\mu g/m^2 \cdot h$
R=1	10.5	7.8	25	6.1
R=2	7.5	11.4	11.7	6.6
R=4	7.6	23.2	15.2	15.4

Tableau 22 : Variation des concentrations d'équilibre du PCP dans l'air, à partir de bois traités PCPNa séchés 11 semaines après l'imprégnation, en fonction du renouvellement de l'air de l'enceinte, à 23 °C et 45 % d'hygrométrie. Les résultats sont exprimés en concentration de pesticide dans l'air $\mu g/m^3$ et en taux de volatilisation (quantité de pesticide volatilisé par unité de surface et par unité de temps) $\mu g/m^2 \cdot h$.

Ces résultats nous indiquent qu'un renouvellement plus important de l'air dans la chambre d'essai entraîne une baisse des concentrations de PCP détectées dans l'air de l'enceinte. Cependant, si l'on ramène cette concentration au taux de volatilisation du pesticide à partir

Type de modèle ou étude de terrain	Imprégnation du bois	flux d'air en l/h	Taux de charge	PCP détecté en $\mu\text{g}/\text{m}^3$	références
modèle : pièce expérimentale				34 % HR, 25°C: 1 à 160 43 % HR, 28°C 14 à 158	Gebefügi <i>et al.</i> 1979
étude de terrain				hiver : 45±3 85±26 été : 0.8±0.4 1.3±0.5	
étude de terrain	1-4 semaines après traitement 5-10 semaines après traitement			grenier 21 salon 9.3 chambre 5.8 grenier 4.7 salon 2.3 chambre 2.1	Rentokil Ltd non publié 1980
modèle : cylindre en PVC de 42,8 litre	traitement par trois types de formulation	60 l/h HR 65 %	1.4	à 40°C: 220±70 à 30°C: 83±32 à 23°C: 27±17	Ingram <i>et al.</i> 1981a
modèle : réacteur de 3.5 cm de diamètre \propto 45cm	trempage ou pression + couche ammonium quaternaire 5 %	10.5 l/h		1.5 à 580 6-125	Warren <i>et al.</i> 1982
étude de terrain	traitement curatif			0.4 à 4.4	Dobbs <i>et al.</i> 1983
étude de terrain				4.9 13.3 $\mu\text{g}/\text{g}$ poussière	Krause <i>et al.</i> 1987
étude de terrain sur 573 locaux d'habitation	avant Déc. 1987			< 0.01 (9.8%) 0.01-0.1 (69%) 0.1-0.25 (8.6%) 0.25-0.5 (8.9%) 0.5-0.75 (2.4%)	Blessing et Derra, 1992

Tableau 23 : Concentration de PCP en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ détectées dans des locaux d'habitation ou par des modèles de laboratoire selon différents auteurs.

du bois en $\mu\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{h}$ (Van Leenput *et al.*, 1987), on s'aperçoit que ce taux augmente légèrement lorsque l'on passe de 1 à 2 renouvellement par heure pour les deux ratios sélectionnés et de manière plus importante lorsque l'on passe de 2 à 4 renouvellement par heure.

L'augmentation du renouvellement de l'air de l'enceinte augmente le taux d'émission du pesticide à partir du bois. Ceci a été vérifié par Tichenor et Guo (1991) sur les émissions de formaldéhyde à partir de bois ; lorsque le renouvellement de l'air augmente, la concentration de produit testé dans l'air diminue par dilution. Cette baisse de concentration dans l'air augmente la différence de pression de vapeur entre la source émettrice et l'environnement aérien. Comme la tension de vapeur est le principal facteur contrôlant la volatilisation, le taux d'émission du pesticide va augmenter.

Ingram *et al.* (1981b) a également étudié l'influence du flux d'air sur les émanations de PCP à partir de bois traités, ces émanations de PCP sont plus faibles lorsque le flux passe de 12 à 24 l/h (ce qui correspond à un passage de $R=0.28$ à $R=0.56$ dans son modèle de 42.8 litres) puis remontent légèrement lorsqu'il fixe son renouvellement à 48 l/h (correspond à $R=1.1$ dans son modèle).

La même constatation a été faite cette fois avec des renouvellements voisins de ceux utilisés dans notre expérimentation (1, 2 et 5 h^{-1}) sur les émanations d'un triazole à partir de bois traités par Van Leenput *et al.* (1987) : les valeurs de triazole dans l'air baissent quand le renouvellement de l'air augmente.

2.7. Evaluation du risque

2.7.1. Présentation du problème et résultats de la littérature

L'utilisation de bois traités à l'intérieur de locaux d'habitation peut donner lieu à la présence de produits actifs dans l'air. Ces matières actives peuvent alors être inhalées par les habitants sur des périodes de quelques jours à quelques années et poser un risque pour la santé humaine.

Afin d'évaluer ce risque, plusieurs études ont tenté de quantifier la présence de PCP dans l'air ambiant de pièces d'habitation. Dans la majorité de ces études, les concentrations de PCP dans les locaux d'habitation ont été analysées sur les lieux mêmes ; ce sont ce que nous appellerons dans la suite de cette partie les études de terrain.

Une minorité de ces études s'est attachée à développer des modèles de laboratoire permettant de simuler ce qui se passe en situation réelle (c'est le cas de notre étude) ; l'avantage de ces modèles de laboratoire par rapport aux études de terrain est de pouvoir simuler plusieurs situations types pouvant se produire en réalité en fonction de climats spécifiques (hygrométrie, température particulière) ou bien encore de taux de charge ou de renouvellements d'air particuliers. Ceci dans le but de prédire les concentrations en pesticide que l'on pourrait trouver dans l'air des locaux d'habitation.

L'étude de la volatilisation du PCP à partir de bois traités a commencé par des études de laboratoire (Morgan et Purslow, 1973). Ces auteurs se sont alors intéressés à la diminution par évaporation de la teneur en PCP dans les bois traités. La conclusion de leur étude montrait que des bois traités par immersion dans une formulation à 5% de PCP perdaient 20 % de leur teneur initial en PCP par volatilisation au bout de 6 mois.

Puis, une étude réalisée par Arsenault en 1976 a montré des concentrations de PCP dans l'air d'ateliers de traitement du bois par autoclave comprises entre $14 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et $297 \mu\text{g}/\text{m}^3$; ces concentrations importantes de PCP dans l'air auxquelles étaient exposés les travailleurs de cette scierie ont été corrélées à des teneurs de PCP non négligeables dans les urines de l'ordre de 1 à 3 ppm. La présence de PCP dans les urines de personnes exposées professionnellement à de fortes concentrations du pesticide dans l'air ont été confirmées par Dahms et Metzner en 1979.

D'autres études ont évalué le risque lié à l'exposition non professionnelle : ainsi, des modèles de laboratoires et des études de terrain ont été réalisées dans des locaux d'habitation. Le tableau 23 nous indique les concentrations de PCP dans l'air fournies par des études de terrain ou des modèles de laboratoire.

Pour les études de terrain, on constate que :

- les concentrations de PCP sont globalement comprises entre 0.01 et $85 \mu\text{g}/\text{m}^3$.
- les concentrations les plus élevées sont détectées après des laps de temps relativement courts suivant le traitement des bois (Rentokil).
- les études ayant lieu quelques années après le traitement montrent des concentrations extrêmement faibles dont les valeurs sont dans leur majorité inférieures à $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Blessing et Derra, 1992).
- les concentrations en PCP sont plus importantes sur les poussières que dans l'air ambiant (Krause *et al.*, 1987)
- les valeurs détectées dans l'air ont été mesurées après avoir fermé les locaux d'habitation au minimum 1 jour avant le prélèvement pour analyse.
- les taux de charge ou bien encore les dates de traitement sont rarement indiqués dans ces études.
- les facteurs environnementaux (hygrométrie, température..) et les modes de prélèvement (fréquence, position...) sont rarement mentionnés.

Pour les rares modèles développés en laboratoire :

- les concentrations de PCP dans l'air sont toujours supérieures à celles que l'on trouve dans les études de terrain.
- les fluctuations des concentrations détectées par le même modèle ne sont pas négligeables (Gebefügi *et al.*, 1979)
- les caractéristiques du modèle (taille et volume de l'enceinte) et le protocole utilisé (fréquence des prélèvements, méthode de capture du pesticide...) sont variables selon les auteurs.

En résumé, les valeurs trouvées dans les études de terrain ou les modèles de laboratoire ne sont pas contradictoires mais complémentaires. Il y a, en général, une tendance à la surestimation des concentrations détectées par les modèles de laboratoire par rapport aux études de terrain. Ceci s'explique par des variations importantes obtenues dans les modèles expérimentaux dues à des facteurs non contrôlés (condensation sur les parois, taux de charge Gebefügi *et al.*, 1979) ou encore à des variations volontaires et contrôlées de certains facteurs comme la température ou l'hygrométrie (Waren *et al.*, 1982).

Si l'on se place dans des conditions expérimentales simulant une situation réelle, la valeur du pesticide retrouvée dans l'air correspondra souvent à la valeur trouvée par le modèle (Gebefügi *et al.*, 1979).

2.7.2. Calcul par régression linéaire ($[C]=a \cdot R$ pour les bois traités au PCPNa et $[C]=a \cdot (1 - e^{-bR})$ pour les bois traités au PCP) des concentrations obtenues par le modèle pour $r = 0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$

Comme nous l'avons déterminé dans la paragraphe 2.5 "importance du taux de charge", la meilleure régression obtenue est de type $[C]=a \cdot R$ pour les bois traités au PCPNa et de type $[C]=a \cdot (1 - e^{-bR})$ pour les bois traités au PCP. Grâce à ces deux régressions, nous pouvons calculer les concentrations de PCP dans l'air correspondant à un taux de charge égal à $0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

On obtient ainsi, après extrapolation, les concentrations de PCP dans l'air suivantes :

Traitement du bois	PCP		PCPNa	
	3 semaines	11 semaines	3 semaines	11 semaines
Date de prélèvement après imprégnation				
Taux de charge $0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$	37 (8-66)	9 (2.3-20)	0.6	1.4
0.6	90.3 (69.5-111)	24.2 (15.9-32.6)	1.9	4.3
1.2	138 (118-158)	44.8 (32-58)	3.8	8.6

Tableau 24 : Concentrations calculées par modélisation de la courbe "concentration PCP dans l'air en fonction du taux de charge" pour des ratio de 0.2, 0.4 et $1.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$. Les concentrations sont exprimées en μg de PCP par m^3 d'air.

Ces concentrations, pour les bois traités par du pentachlorophénol, et pour des prélèvements réalisés à 3 semaines, sont légèrement plus élevées que celles fournies par les études de terrain (Gebefügi *et al.*, 1979).

Les valeurs obtenues dans cette étude sont du même ordre de grandeur que les concentrations

fournies par les rares modèles de laboratoire. On note cependant que les renouvellements d'air sélectionnés dans ces modèles sont relativement élevés et correspondent peu à ce que l'on trouve dans des locaux d'habitation (inférieurs en général à 1 renouvellement par heure, Zimmerli 1982).

2.7.3. Concentrations aériennes acceptables et évaluation du risque

Il n'y a pas actuellement de limites officielles concernant la concentration aérienne des pesticides dans les locaux d'habitation.

Cependant il existe une valeur journalière acceptable (VJA ou ADI, Acceptable Daily Intake) définie comme étant l'exposition journalière à une substance durant la vie d'un homme n'entraînant pas de risque appréciable pour sa santé.

Cette valeur VJA a été fixée pour le PCP en 1987 par le WHO (World Health Organization) à 3 µg PCP/kg de poids corporel (après ajout d'un facteur de sécurité de 1000 sur la NOEL "oral rat" de 3 mg/kg) ce qui représente 180 µg de PCP pour un homme de 60 kg.

La conversion de cette VJA en concentration aérienne acceptable (CAA ou AAC, Acceptable Air Concentration) peut être réalisé comme suit : $CAA = VJA/V * F$

V étant le volume d'air moyen inhalé pour 24 heures par un homme de 60 kg dont la valeur est fixée à 18.5 m³

F étant la fraction de pesticide inhalée dont la valeur est fixée à 1 (c'est à dire 100% ; en considérant que la voie d'intoxication par le tractus est la principale voie de contamination, comme l'ont prouvé plusieurs auteurs) .

Comme la contribution à cette valeur journalière admissible provoquée par l'inhalation de ce pesticide ne doit pas dépasser 10 % (Dobbs, 1983) la concentration acceptable dans l'air pour le PCP serait de :

$$CAA = 18 \mu\text{g}/18.5 \text{ m}^3 = 0.97 \mu\text{g}/\text{m}^3 \approx 1 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Or, il apparait que les valeurs calculées dans le cas de notre modèle pour un ratio réaliste de 0.2 m²/m³ (tableau 24) dépassent cette concentration aérienne acceptable dans tous les cas excepté pour la concentration calculée pour les bois traités par la formulation aqueuse PCPNa séchés 3 semaines.

Ces valeurs de concentration probables de PCP dans l'air pour un ratio de 0.2 m²/m³ indiquent un risque pour la santé humaine non négligeable.

Cependant, il faut noter que le PCP, ses sels et ester n'est plus autorisé comme produit actif dans les formulations de traitement pour bois d'intérieur en France depuis Mars 1991 (J.O.n°L 85).

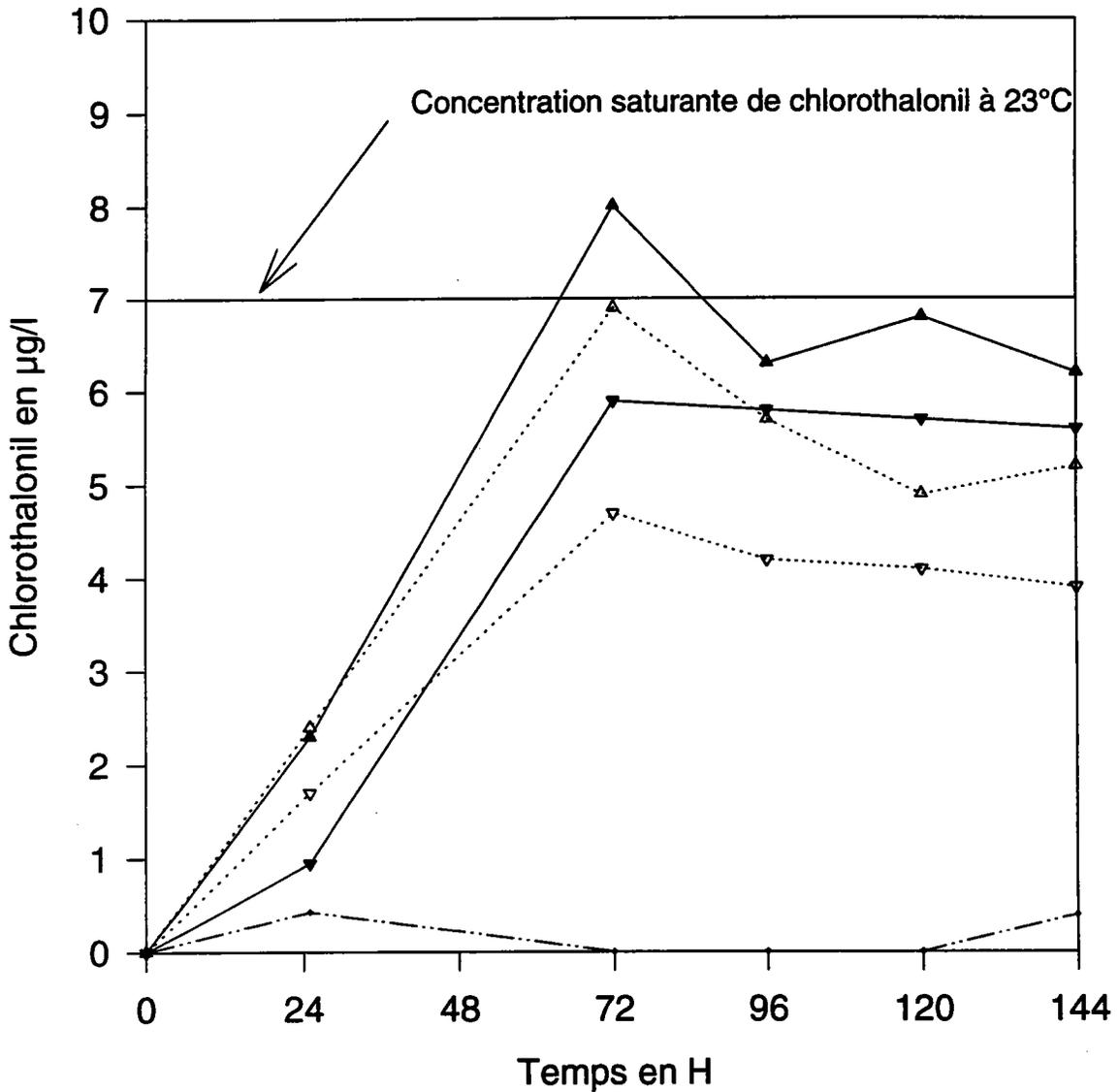
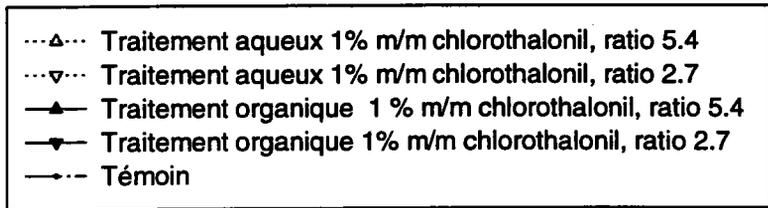


Figure 28 : cinétique d'émission du chlorothalonil à partir de bois traités par une formulation aqueuse ou organique à 1% m/m chlorothalonil. Les blochets sont séchés 3 semaines.

3. APPLICATIONS DU MODÈLE À D'AUTRES FONGICIDES

3.1. Etude des émissions de chlorothalonil à partir de bois traités

Le chlorothalonil est un fongicide utilisé depuis quelques années dans la préservation du bois, en remplacement du pentachlorophénol. Sa tension de vapeur est plus faible que celle du PCP ($2 \cdot 10^{-7}$ mmHg contre $1.5 \cdot 10^{-5}$ mm Hg pour le PCP).

3.1.1. Profils de cinétique d'émission obtenues

Nous avons utilisé dans les manipulations concernant l'étude de l'émission de chlorothalonil à partir de bois traités, une formulation commerciale hydrodispersable ainsi qu'une formulation organique (chlorothalonil technique dilué dans du xylène) à 5 et 1 % m/m de matière active.

Les profils de cinétiques d'émission du chlorothalonil à partir du bois traité par une formulation à 1 % de matière active (figure 28) nous permettent de constater :

- une obtention rapide des valeurs stables avec un plateau vers 48/72 heures.
- des concentrations de chlorothalonil dans l'air nettement plus basses que celles obtenues pour le PCP (dû a une tension de vapeur plus faible).
- des concentrations en chlorothalonil dans l'air plus importantes lorsque le traitement est réalisé par une formulation organique, par rapport à une formulation aqueuse, bien que l'imprégnation du bois soit plus importante avec la formulation aqueuse.

3.1.2. Influence de la concentration en produit actif dans la formulation d'imprégnation

Après imprégnation par trempage court 3 minutes, l'apport en chlorothalonil est, pour les imprégnations réalisées par la formulation organique et aqueuse à 1 %, respectivement de 4.9 ± 0.8 mg et 6.4 ± 1.1 mg pour 100 g de bois et pour les imprégnations réalisées par la formulation organique et aqueuse 5% respectivement de 25 ± 1.8 mg et 39.7 ± 2.6 mg pour 100 g de bois.

Les bois traités par ces formulations ont été séchés 3 semaines avant la réalisation des essais.

Ces essais (figure 29) montrent que :

- les concentrations de chlorothalonil détectées dans l'air sont toujours plus importantes lorsque les bois sont traités par une formulation organique (c'est à dire par du chlorothalonil dilué dans du xylène), ceci même pour des concentrations de chlorothalonil dans les bois légèrement supérieures lorsque l'imprégnation est réalisée par la formulation aqueuse.
- les concentrations de chlorothalonil dans l'air sont différentes selon la teneur en fongicide dans la formulation : elles sont plus importantes lorsque les bois sont traités par des formulations à 5 % comparativement au traitement à 1 %. Cependant, le rapport de 1 à 5 de teneur en matière active dans les bois en fonction des imprégnation 1 ou 5 % n'est pas conservé dans l'air. On observe tout au plus une baisse de 10 à 30 % des émanations lorsque l'on passe de 5 à 1 % m/m en chlorothalonil.
- les observations faites avec le PCP se confirment également ici : on ne retrouve pas une

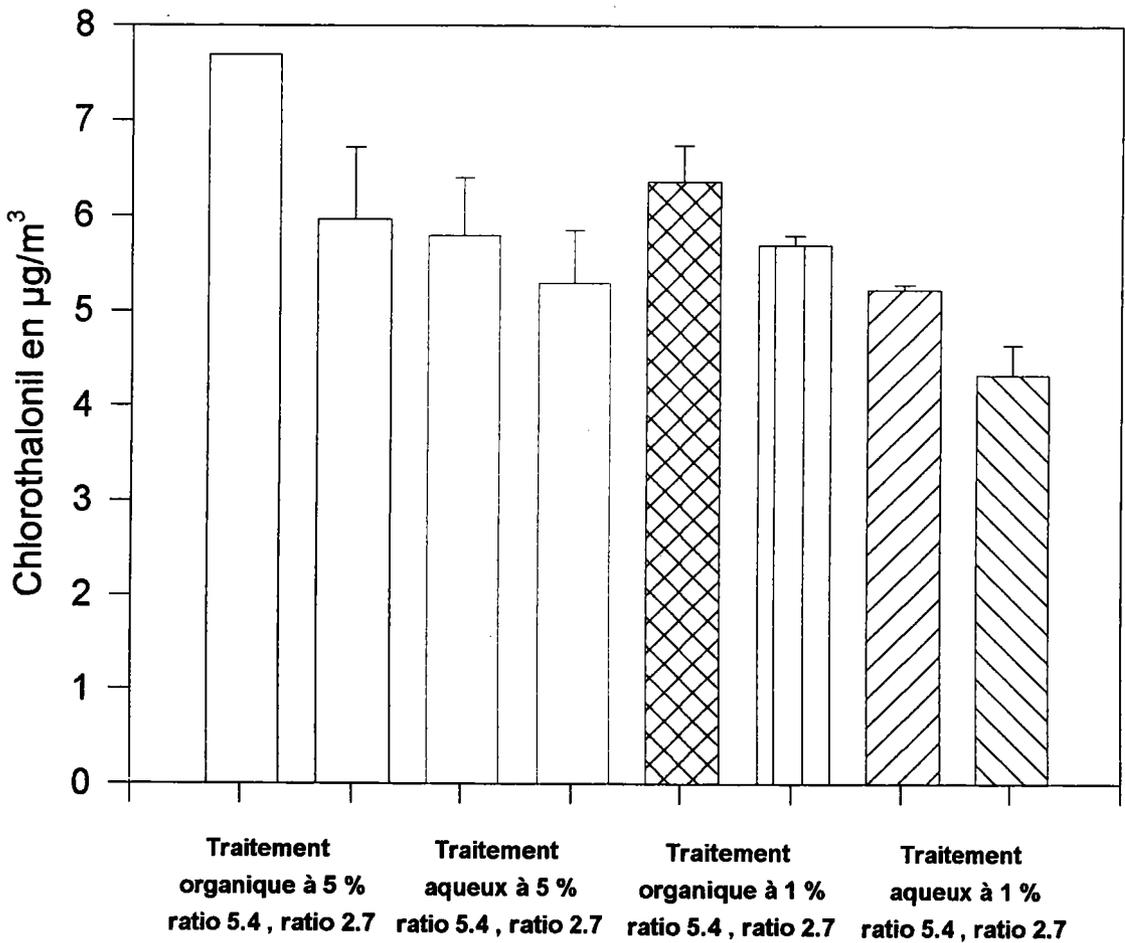


Figure n°29 : Concentrations de chlorothalonil dans l'air en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à la phase plateau en fonction du type de traitement et de la concentration en matière active dans la formulation : 5 ou 1 %. Les blochets sont séchés 3 semaines.

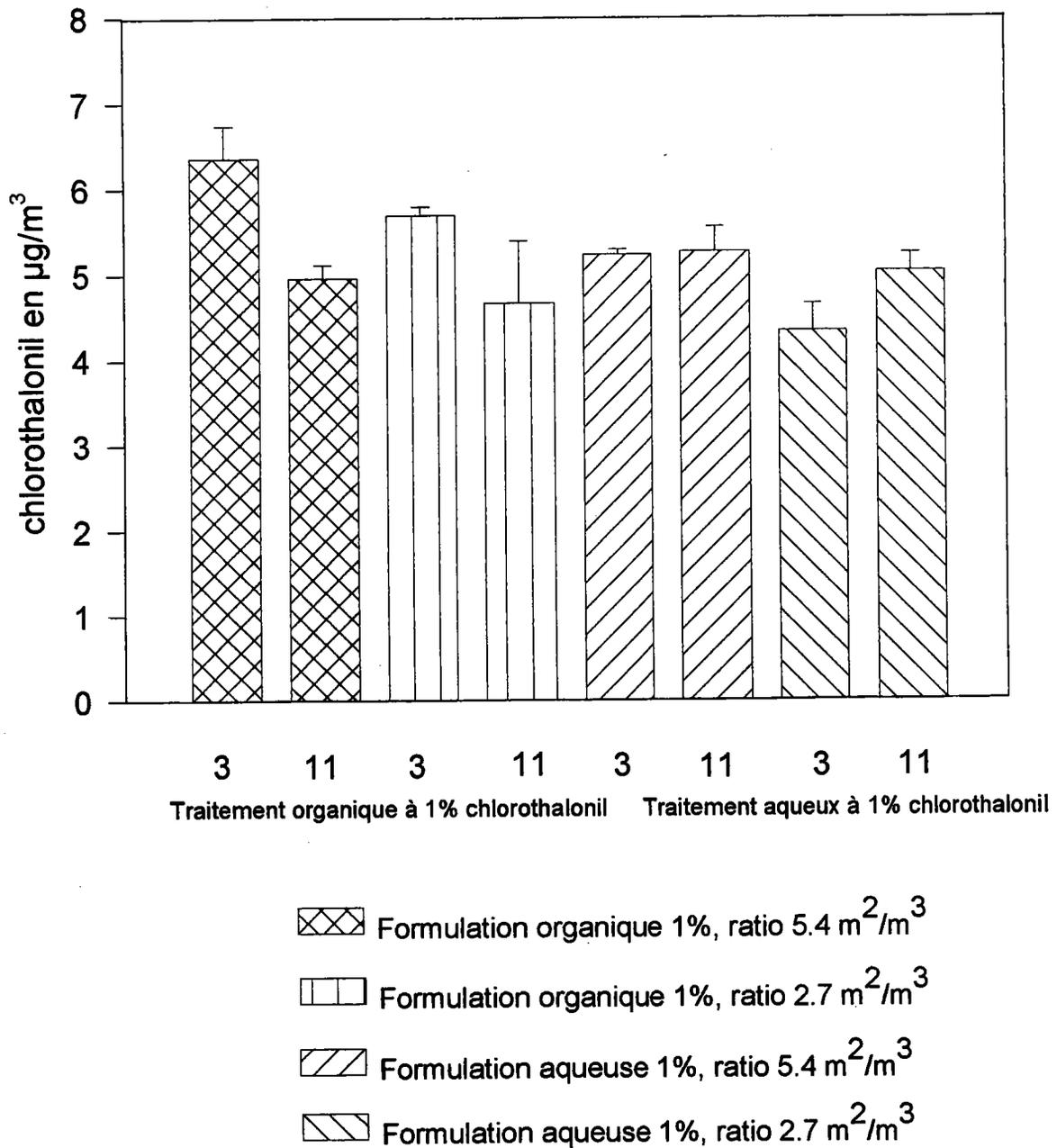


Figure 30 : Influence du temps de séchage pour les bois traités par une formulation aqueuse (rouge) ou organique (vert) à 1 % m:m chlorothalonil. Concentrations de chlorothalonil dans l'air à l'équilibre (plateau).

concentration 2 fois plus faible lorsque l'on divise le ratio par 2 c'est à dire lorsque l'on passe de $5.4 \text{ m}^2/\text{m}^3$ à $2.7 \text{ m}^2/\text{m}^3$ mais une baisse des concentrations comprise entre 10 et 25 %.

3.1.3. Influence du temps de séchage

Tout comme pour le pentachlorophénol, nous avons étudié l'influence du temps de séchage des blochets traités sur les émanations du chlorothalonil par la formulation aqueuse et organique à 1% de chlorothalonil.

Les blochets ont été séchés 3 et 12 semaines ; les résultats correspondant à la moyenne des 3 premières valeurs stables du plateau pour chaque manipulation (accompagnée de leur écart-type), sont représentés dans la figure 30 :

- les valeurs de plateau atteintes sont toutes comprises entre 4 et $6.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de chlorothalonil dans l'air.
- pour la formulation organique 1%, nous constatons une baisse des émissions de chlorothalonil dans l'air d'environ 20 % pour les deux taux de charge sélectionnés.
- pour la formulation aqueuse 1%, il n'y a pas d'effet du temps de séchage sur les émanations du chlorothalonil dans l'air.
- le temps de séchage diminue l'émanation du pesticide lorsque le bois est traité par une formulation organique mais n'a pas d'influence en cas de traitement par une formulation aqueuse.

3.1.4. Influence du taux de charge

L'influence de la variation du ratio "surface de bois traité sur volume de l'enceinte" a été étudiée afin de modéliser la courbe "concentration de chlorothalonil dans l'air via le taux de charge". Ceci dans le but de calculer les valeurs de concentration de chlorothalonil dans l'air que l'on peut obtenir pour des ratios réalistes de $0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

Nous avons procédé à la baisse du taux de charge en réduisant le nombre de blochets et la surface de diffusion du pesticide.

a) Variation du taux de charge de 5.4 à $1.35 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

Cette étude sur la relation liant le taux de charge aux valeurs de concentrations du chlorothalonil dans l'air de l'enceinte a été réalisée à l'aide de blochets séchés pendant 15 semaines après l'imprégnation par une formulation aqueuse à 5 % et 1 % m/m (figure 31).

Les résultats sont présentés dans la figure 31 : les profils des courbes sont semblables aux profils obtenus pour le pentachlorophénol lors de l'étude du taux de charge.

On constate que les courbes "concentrations de chlorothalonil dans l'air (une fois la phase

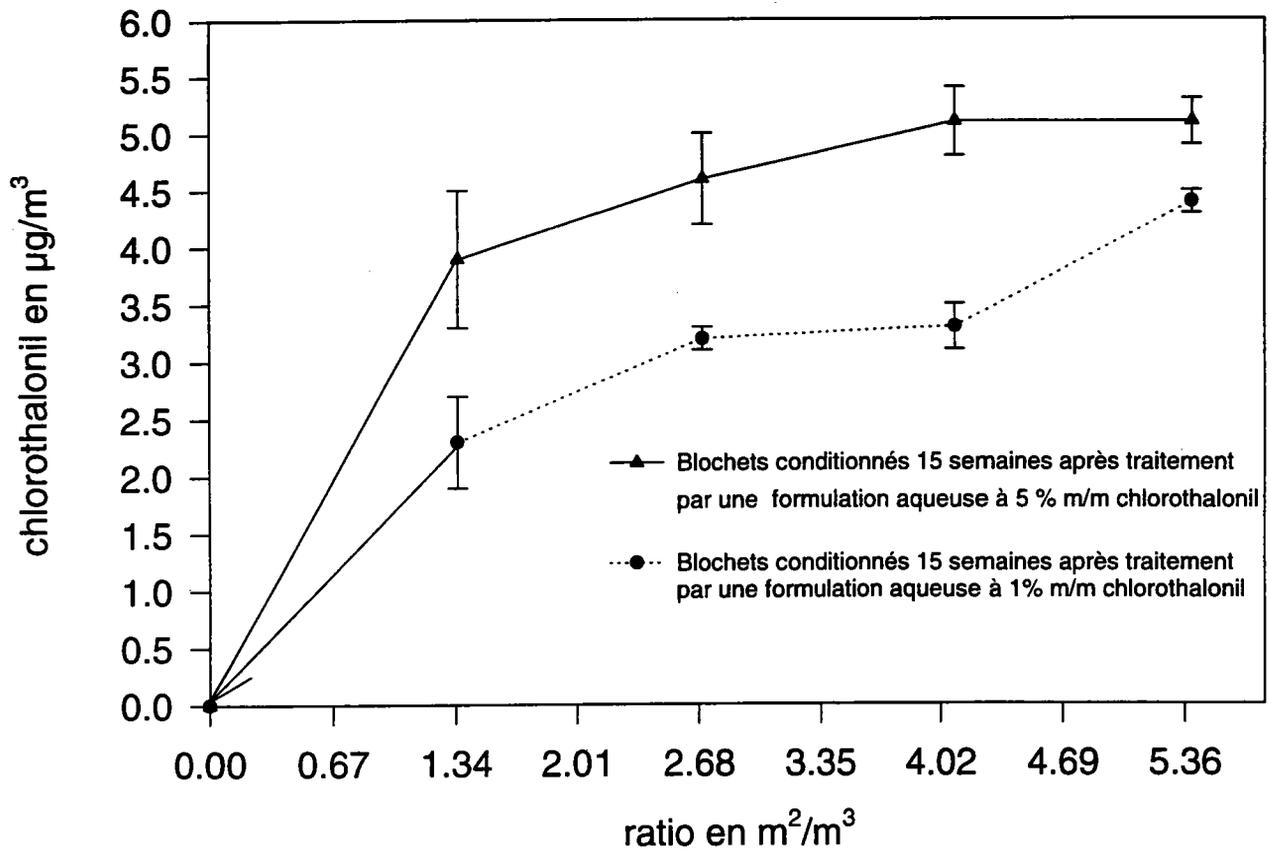


Figure 31 : Concentrations en chlorothalonil dans l'air de l'enceinte mesurée à la phase plateau en fonction de la variation du taux de charge. Les blocs sont conditionnés 15 semaines avant utilisation

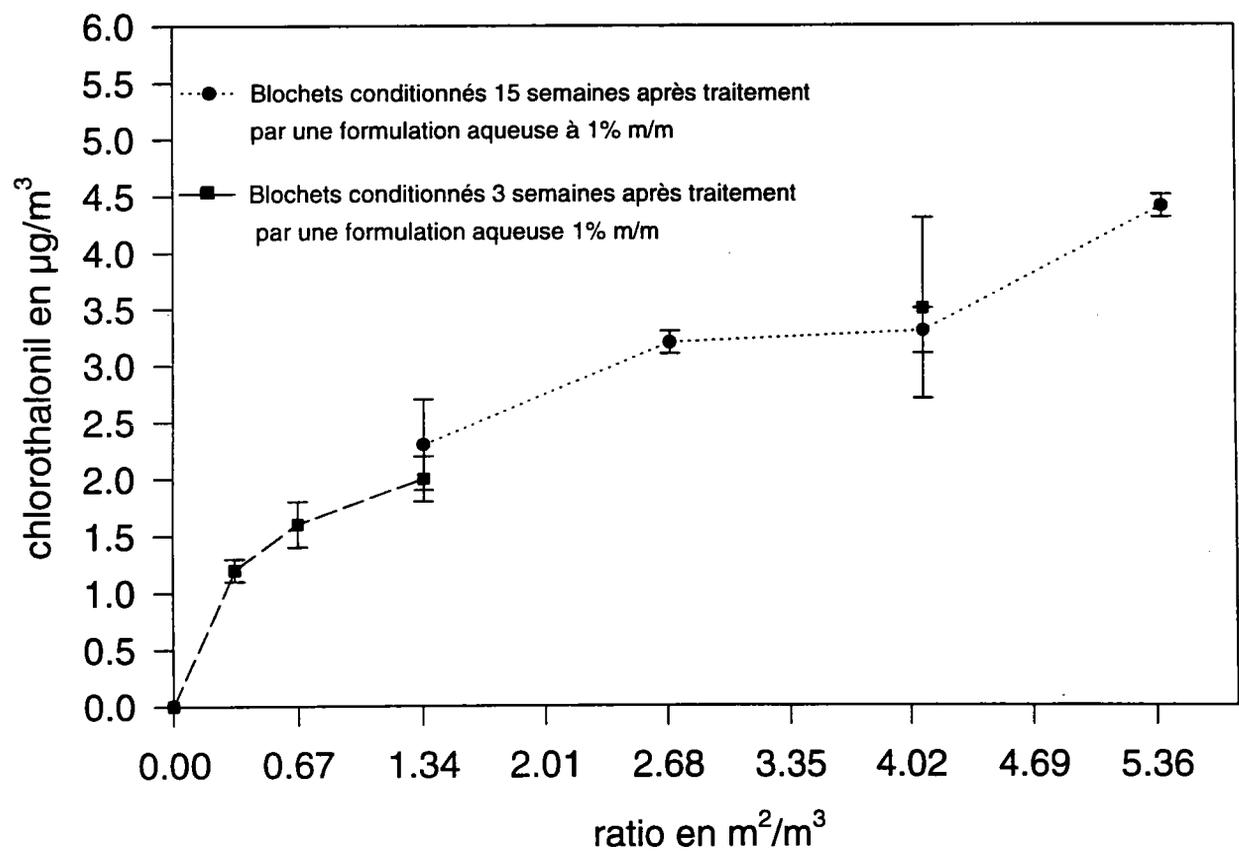


Figure 32 : Concentrations en chlorothalonil dans l'air de l'enceinte mesurées à la phase plateau en fonction de la variation du taux de charge. Les blocs sont conditionnés 3 ou 15 semaines avant leur utilisation

plateau atteinte) en fonction du taux de charge" montrent :

- un profil caractéristique "asymptotique" tendant vers la valeur de $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (voir calcul de la concentration saturante du chlorothalonil dans l'air, annexe 1)
- des valeurs de chlorothalonil dans l'air plus importantes pour les bois traités par la formulation contenant 5 % de chlorothalonil.
- un profil de courbe pour les bois traités par la formulation à 1 % m/m chlorothalonil semblable à celle contenant 5% du pesticide mais situé dans une gamme de concentration inférieure de $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

b) Variation du taux de charge de 4.1 à $0.33 \text{ m}^2/\text{m}^3$

Cette manipulation a été réalisée sur des blochets imprégnés par la formulation aqueuse à 1 % de chlorothalonil m/m puis conditionnés 3 semaines avant leur prélèvement (figure 32). Le même profil de courbe que précédemment est obtenu.

c) Modélisation de la courbe "concentration chlorothalonil dans l'air en fonction du ratio"

* Imprégnation par la formulation à 1%

Si l'on superpose les deux conditionnements des bois traités par la formulation à 1% (3 et 15 semaines de séchage), correspondant chacun à un protocole de réduction du ratio énuméré précédemment, on constate que la première manipulation (taux de charge compris entre 1.35 et $5.4 \text{ m}^2/\text{m}^3$) prolonge parfaitement les valeurs trouvées par la deuxième manipulation (taux de charge compris entre 0.33 et $4.1 \text{ m}^2/\text{m}^3$; figure 33).

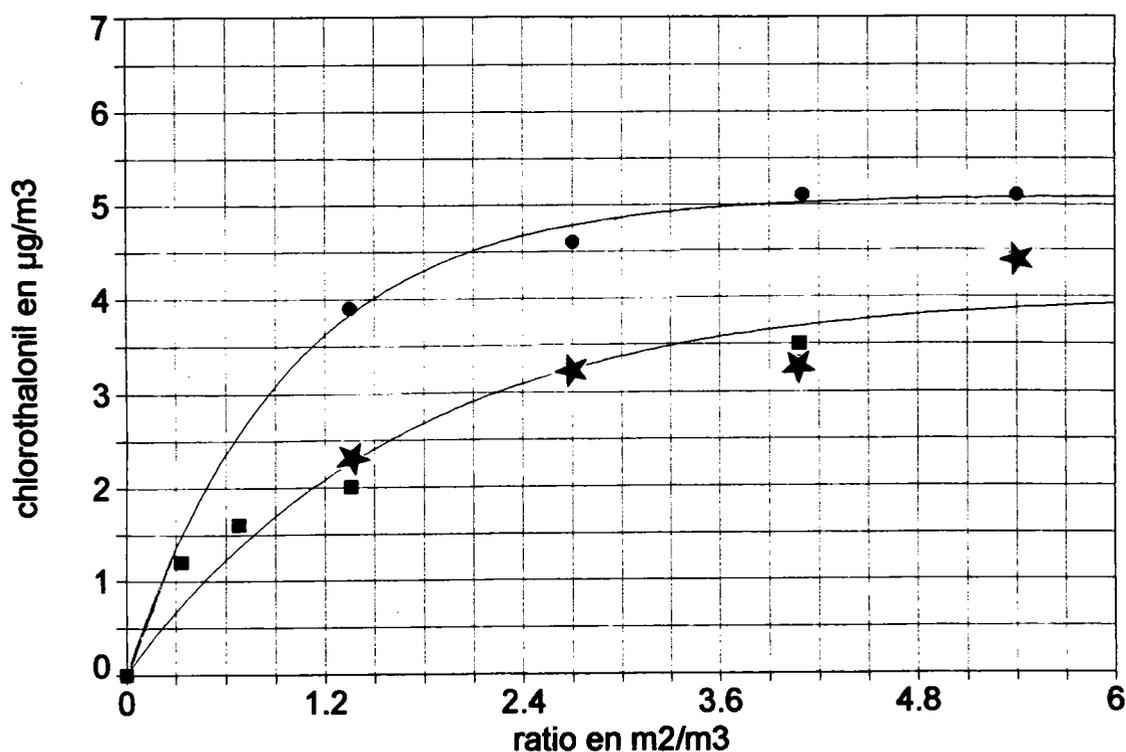
L'explication réside certainement dans le fait que le séchage des bois traités par la formulation aqueuse 1 % chlorothalonil ne fait pas baisser significativement les émissions de chlorothalonil dans l'air (comme nous l'avons constaté dans le paragraphe 3.1.3 influence du séchage).

Si l'on modélise les valeurs obtenues dans les deux manipulations par la même fonction exponentielle $y = a(1 - e^{-bR})$ nous obtenons des coefficients de corrélation satisfaisants ($r = 0.96$; figure 33).

* imprégnation par la formulation 5 %

La modélisation par la même fonction $y = a(1 - e^{-bR})$, donne un coefficient égal à 0.99 , ce qui est également très satisfaisant (figure 33).

Pour les deux modèles, nous constatons que lorsque le ratio R tend vers des valeurs très importantes, les concentrations de chlorothalonil dans l'air tendent vers des asymptotes qui sont respectivement égales à 4.3 et $4.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les imprégnations 1 et 5 %. Ces valeurs sont proches de la concentration saturante de chlorothalonil fournie par la littérature (aux environs de $6 \mu\text{g}/\text{m}^3$). On peut donc affirmer que pour la régression linéaire de la courbe "concentration en fonction du ratio" par la fonction exponentielle $y = a(1 - e^{-bR})$, la valeur du



- blochets traités par une formulation à 5 % de chlorothalonil (séchage 15 semaines)
- blochets traités par une formulation à 1 % de chlorothalonil
- séchage 3 semaines
- ★ séchage 15 semaines

Figure 33 : concentration en chlorothalonil dans l'air en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en fonction du ratio m^2/m^3 pour des blochets traités par une formulation aqueuse à 5 % ou 1% de matière active. La régression est réalisée par la fonction $y = a(1 - e^{-bx})$ avec un coefficient de corrélation $r = 0.99$ pour l'imprégnation réalisée par la formulation à 5 % et $r = 0.96$ pour l'imprégnation réalisée par la formulation 1% (3 et 11 semaines de séchage).

paramètre "a "correspond pratiquement à la concentration de vapeur saturante du chlorothalonil.

3.1.5. Evaluation du risque lié aux émissions de chlorothalonil dans les locaux d'habitation

Les émissions de chlorothalonil à partir de bois traités par des formulations aqueuses ou organiques contenant ce pesticide ont été étudiées dans les paragraphes précédents pour un climat de 23°C et 45 % d'humidité relative.

Les concentrations du pesticide dans l'air en fonction du taux de charge ont été déterminées pour des dates de prélèvement des blochets de 3 et 15 semaines après le traitement des bois. Les valeurs des concentrations de chlorothalonil dans l'air correspondant aux ratio de 0.2, 0.4 et 0.6 m²/m³ sont calculées par les modélisations précédentes et sont présentées dans le tableau suivant pour les deux imprégnations 1 et 5% :

Traitement du bois	Formulation aqueuse 1% m/m chlorothalonil	Formulation aqueuse 5 % m/m chlorothalonil
Date de prélèvement après imprégnation	3 / 15 semaines	15 semaines
Taux de charge de 0.2 m ² /m ³	0.44 µg/m ³ (0.26-0.63)	1.5 µg/m ³ (0.96-2.1)
Taux de charge de 0.6 m ² /m ³	1.2 µg/m ³ (0.76-1.6)	3.3 µg/m ³ (2.5-4)
Taux de charge de 1.2 m ² /m ³	2.1 µg/m ³ (1.5-2.6)	4.4 µg/m ³ (3.9-4.8)

Tableau 24 : Concentrations de chlorothalonil à l'équilibre en µg/m³ d'air calculées par modélisation de la courbe "concentration Chlorothalonil en fonction du taux de charge" pour un ratio de 0.2, 0.6 et 1.2 m²/m³ par la fonction $y = a(1 - e^{-bx})$. Les valeurs sont accompagnées de leur intervalle de confiance.

a) Calcul des concentrations aériennes acceptables

La valeur journalière acceptable pour le chlorothalonil, calculée sur la base de tests toxicologiques réalisés sur mammifères (rats) donne une dose sans effet de 1.8 mg/kg.

Un facteur de sécurité de 200 est ajouté, ce qui donne une valeur journalière admissible de 0.01 mg/kg de poids corporel (Jouany, 1993). Cela nous permet d'obtenir une valeur journalière de 0.6 mg pour un homme de 60 kg.

La contribution à cette valeur journalière acceptable par l'exposition à cette substance dans l'air ne doit, en théorie, pas dépasser les 10 % (Dobbs et Williams, 1983).

Cela nous donne une concentration aérienne acceptable de :

$$\text{CAA} = 60\mu\text{g}/18.5 \text{ m}^3 = 3.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Les émanations présentées par le chlorothalonil dans cette étude, c'est à dire à partir de bois traités par des formulations aqueuses de 5 ou 1 % m/m chlorothalonil ne présentent que peu de risque pour la santé humaine pour des taux de charge inférieurs à 0.6 m²/m³ (selon le calcul de la concentration aérienne acceptable).

Ce risque est en effet peu important 3 à 15 semaines après le traitement du bois pour les imprégnations réalisées par la formulation aqueuse à 1 % .

Pour les imprégnations réalisées par la formulation à 5%, la valeur obtenue pour un ratio de 0.6 et 1.2 dépasse la concentration aérienne acceptable. Le risque n'est ici pas négligeable.

Cependant, la même critique que celle faite pour le PCP peut être émise à ce niveau. Le calcul de la valeur journalière admissible peut être remis en question puisqu'il fait appel à une VJA déterminée par des tests toxicologiques faisant intervenir des voies d'absorption du toxique *per os* et rarement par inhalation.

Il serait donc préférable de calculer cette concentration aérienne acceptable à partir d'une valeur journalière acceptable estimée par des tests d'absorption par inhalation d'un pesticide.

b) Comparaison des résultats par rapport à la littérature

Très peu d'études traitent des concentrations atmosphériques de chlorothalonil auxquelles l'homme peut être exposé lors de ses activités professionnelles (locaux de fabrication du pesticide, entrepôts de stockage des matières actives, serres horticoles...) ou dans le cadre de la vie courante (locaux d'habitation possédant du bois traité par ce fongicide).

Pour l'exposition professionnelle, quelques études ont déterminé les valeurs de chlorothalonil présentes dans l'air de serres horticoles, ceci dans le but d'évaluer le risque encouru par les ouvriers agricoles exposés (Brouwer *et al.*, 1992). D'autres études ont analysé les concentrations de cette matière active présentes dans les ateliers de fabrication du pesticide (Benmei *et al.*, 1992). Dans ces deux types d'études, les concentrations détectées sont largement supérieures à 100 µg/m³ et font encourir un risque non négligeable aux populations exposées. Dans le domaine de la préservation du bois, il n'existe pas d'études ayant évalué

l'exposition professionnelle des travailleurs à ce fongicide lors du traitement des bois.

L'exposition non professionnelle de la population générale, comme celle de personnes vivant dans des locaux d'habitations où du bois traité ou de la peinture contenant ce fongicide sont présents, n'a jamais été étudiée sauf par Zimmerli (1977).

Cet auteur a en effet dosé le chlorothalonil dans l'air d'une pièce où les murs et le plafond ont été peints avec une peinture contenant 0.8 % m/m de chlorothalonil. Les conditions climatiques lors des prélèvements étaient proches de celles sélectionnées pour notre étude: température 20°C, l'hygrométrie 58 %, renouvellement d'air inférieur à 0.1. Quatre mois après l'application de la peinture, les concentrations détectées dans l'air de la pièce pour un taux de charge de 1.2, étaient de 2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. L'auteur a trouvé des concentrations plus importantes (5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) lorsque la température était de 27°C.

Ces valeurs confirment les données trouvées dans notre étude ; nous trouvons effectivement après modélisation des concentrations de 2.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1.5-2.6) de chlorothalonil dans l'air pour un ratio de 1.2 m^2/m^3 (dans le cas d'une imprégnation par la formulation aqueuse 1%).

L'étude réalisée par Zimmerli concerne une application de peinture : la rétention du produit sur les murs est obligatoirement moins bonne que celle d'une formulation dans le bois.

Ceci montre que notre modèle a tendance à légèrement surestimer les concentrations trouvées sur le terrain.

Une étude menée par Kawamoto et Urano (1989) fait état de concentrations de chlorothalonil dans l'air d'un récipient hermétique (bouteille) contenant de l'eau saturée par du chlorothalonil (0.6 mg/l) de l'ordre de 5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à 25°C . Ces concentrations confirment celles de notre étude tout en sachant que la problématique posée n'est pas la même puisque les interactions du pesticide avec la matrice bois et avec la formulation elle même ne sont pas comparables à celles du chlorothalonil dans l'eau.

3.2. Etude des émissions de propiconazole à partir de bois traités

Comme nous l'avons indiqué dans la partie Matériel concernant la propiconazole, deux formulations commerciales ont été employées, une formulation hydrodispersable diluée dans de l'eau ultrapure et une formulation organique, toutes deux présentant une concentration en propiconazole de 0.71 % m/m.

3.2.1. Profils d'émission de la propiconazole à partir de bois traités

a) Bois traités par trempage court

* Bois traités par des formulations à 0.7 % m/m de propiconazole

Les blochets ont été imprégnés par les deux formulations précédemment décrites puis conditionnés pendant 3 semaines : cela correspondant à un apport moyen de 48 ± 07 mg de propiconazole pour 100 g de bois pour la formulation aqueuse et 45.1 ± 4 mg de propiconazole pour 100 g de bois pour la formulation organique (trempage de 15 minutes car la formulation est moins bien absorbée par le bois).

Les manipulations se sont déroulées pendant 168 heures, avec une analyse toute les 24 ou 48 heures. Les ratios sélectionnés ont été de 5.4 et $2.7 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

Les concentrations de propiconazole dans l'air de l'enceinte obtenues pour les deux types d'imprégnation sont nulles. Aucune trace de propiconazole n'a été détectée dans l'air de l'enceinte pour les conditions climatiques sélectionnées (climat standard de 23°C et 45 % d'humidité relative), du moins dans la limite de détection de la méthode analytique retenue. Cette limite de détection, par GC-ECD, est de $5 \cdot 10^{-9}$ g/ml dans le solvant, ce qui correspond à $0.007 \mu\text{g}$ de propiconazole par m^3 d'air après 216 heures de bullage pour 1 ml de solvant (toluène).

En fin de manipulation, des bullages de durées plus importantes ont été réalisés, sans toutefois montrer la présence de quelconques traces du pesticide.

Il ne nous a donc pas été possible de déterminer le profil de concentration de la propiconazole dans les conditions standards de la manipulation ; nous pouvons cependant affirmer que les valeurs de propiconazole dans l'air sont inférieures à $0.007 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour des ratios importants de $5.4 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

b) Bois traités par imprégnation sous vide

Les blochets sont imprégnés sous vide, après avoir été séchés à 103°C pendant 18 heures, par la formulation aqueuse ou la formulation organique diluée de manière à obtenir la concentration efficace de la formulation.

Cette concentration efficace, appelée encore valeur critique, est de $86 \text{ kg}/\text{m}^3$ (correspondant à $610 \text{ g}/\text{m}^3$ propiconazole) pour la formulation organique et $91.5 \text{ kg}/\text{m}^3$ (correspondant à 410

g/m³ de propiconazole) pour la formulation aqueuse.

Afin d'avoir le même apport de matière active par volume de bois, c'est à dire 610 g de propiconazole par m³, la valeur critique de la formulation aqueuse est portée à 132.6 kg/m³. L'apport en propiconazole pour 100 g de bois imprégné par la formulation organique est de **134 ± 5 mg** ; la distribution de la propiconazole dans le bois ne sera pas la même puisque l'imprégnation sous vide pénètre quasiment toute la profondeur du blochet.

Pour la formulation aqueuse cet apport en propiconazole est de **121 ± 9 mg** pour 100 g de bois.

Les blochets sont positionnés 24 heures après leur imprégnation dans les enceintes d'essai sous un climat de 23°C et 45 % HR.

L'essai se déroule par la suite suivant le même protocole que précédemment avec un bullage de l'air dans des ampoules réfrigérées afin de réduire l'évaporation du solvant. Ceci nous permettra de pratiquer des bullages très longs, le principe étant de faire buller l'air dans un minimum de solvant. Deux ampoules à buller placées en série sont utilisées pour chaque enceinte. Les résultats sont exprimés en µg de propiconazole par m³ d'air. Lors de chaque prélèvement, le solvant est récupéré dans l'ampoule et remplacé par du solvant de qualité "pesticide".

Les solvants récupérés sont évaporés sous vide (à 60°C, afin de récupérer un volume final de 1 ml) puis immédiatement dosés en GC-ECD.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Période d'essai en jours	Concentration en propiconazole dans l'air en µg/m ³	
	Solvant organique	Solvant aqueux
0-13	0.012	0.012
13-22	0.010	0.010
22-31	0.012	0.009
31-39	0.012	< 0.007

Tableau 25 : Concentration en propiconazole dans l'air de l'enceinte au cours des différentes périodes d'essai. Les blochets ont été imprégnés sous vide par une solution aqueuse ou organique de propiconazole. Conditions de l'essai : taux de charge 5.4, pas de séchage des blochets, climat standard.

3.2.2. Evaluation du risque

La valeur journalière admissible pour la propiconazole a été fixée à 2.4 mg par homme (60 kg) et par jour (OMS, 1987). Nous pouvons à partir de cette valeur calculé une concentration aérienne acceptable selon la méthodologie décrite par Dobbs et Williams (1983).

La contribution à cette valeur journalière acceptable par l'exposition à cette substance dans l'air ne devant pas dépasser 10 %, nous obtenons une concentration aérienne acceptable de

$$CAA = VJA/F = 240\mu\text{g}/18.5 \text{ m}^3 = 13 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Pour les imprégnations par trempage et quelque soit la formulation employée (aqueuse ou organique), les concentrations de propiconazole détectées dans nos expériences sont, soit inférieures à la limite de détection de la propiconazole ($0.007 \mu\text{g}/\text{m}^3$) dans l'air pour des imprégnations par trempage court, soit inférieures à $0.012 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour des imprégnations sous vide. Dans tous les cas, ces concentrations de propiconazole dans l'air sont largement inférieures à la concentration aérienne acceptable.

Le facteur de sécurité existant entre la concentration mesurée et la concentration acceptable est de 1800 pour les imprégnations par trempage et de 1000 pour les imprégnations sous vide; ceci est largement suffisant pour garantir un risque négligeable pour les habitants de locaux contenant du bois traité par trempage ou sous vide par des formulations contenant ce fongicide (aux valeurs efficaces prises dans notre étude).

Il est intéressant de remarquer que les valeurs détectées dans l'air sont largement inférieures à la tension de vapeur saturante du pesticide dans l'air, qui pour une température de 23°C est comprise entre 18 et $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (annexe 1).

L'explication de ce phénomène réside vraisemblablement dans une affinité de la propiconazole avec la matrice "bois" très importante, ce qui a tendance à faire baisser l'évaporation du pesticide à partir du bois traité.

On peut également penser à une bonne interaction du pesticide avec le solvant aqueux ou organique facilitant alors l'entraînement du pesticide dans la matrice bois lors de l'imprégnation.

DISCUSSION

1. Bilan des résultats de toxicité obtenus dans le compartiment aquatique

2. Compartiment aérien

- 2.1. Influence de la tension de vapeur sur les émanations de pesticide à partir de bois traités**
- 2.2. Influence du taux de charge sur la volatilisation**
- 2.3. Modifications apportées à la norme AFNOR NF X 41-566.**
- 2.4. Avantages et inconvénients des petites enceintes expérimentales**

CHAPITRE 8 : DISCUSSION GENERALE

1. Compartiment aquatique

Les résultats présentés dans le chapitre 6 sur la toxicité aquatique des bois avec ou sans traitement chimique ainsi que le comportement des fongicides dans l'eau montrent :

- une toxicité non négligeable des lixiviats provenant de bois non traités sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* ainsi qu'une absence de toxicité sur le crustacé cladocère *Daphnia magna*. La toxicité observée sur la bactérie luminescente s'est vérifiée sur plusieurs essences notamment sur certains résineux (pin sylvestre et maritime) et sur certains feuillus (chêne). Très peu d'études se sont intéressées au problème posé par la toxicité de lixiviats de bois non traités : une étude canadienne (Hydroqual laboratories Ltd, 1992) a montré une toxicité aiguë importante (sur daphnies, bactéries luminescentes et poissons) de lixiviats provenant de bois de peuplier dont l'utilisation au Canada est très importante. La toxicité des lixiviats a dans ce cas pu être reliée à la présence de quantités importantes de phénols.

Dans notre étude, la toxicité des lixiviats a seulement été observée sur la bactérie luminescente mais elle n'a pu être imputé à une classe d'extractibles particulière : les analyses de tanins (phénols totaux) et de monoterpènes dans les eaux de délavage n'ont pas montré de corrélation directe entre les quantités détectées et la toxicité. Il se peut qu'une autre classe de tanins, non révélée par la méthode d'analyse choisie soit responsable de la toxicité (Scalbert *et al.*, 1989). La toxicité peut aussi résulter d'une synergie entre plusieurs classes d'extractibles.

- une toxicité intrinsèque des fongicides étudiés importante sur les organismes aquatiques.

Le pentachlorophénol, tout comme le chlorothalonil et dans une moindre mesure la propiconazole, montrent une toxicité importante vis-à-vis des organismes aquatiques (annexe 5).

- l'importance du pH pour la toxicité aquatique du pentachlorophénol. Ceci s'est vérifié sur tous les organismes employés dans les tests : bactérie, algues et daphnies. La variation de toxicité la plus importante en fonction du pH a été constatée chez l'algue verte *Chlorella vulgaris* avec une toxicité 4 fois plus importante pour une baisse de pH de 2 unités (de 6.8 à 8.6). De nombreux auteurs ont constaté l'importance du pH dans la toxicité aquatique des chlorophénols (Shigeoka *et al.*, 1988 ; Svenson et Zhang, 1995) en démontrant une toxicité étroitement liée à la présence de la forme dissociée, plus lipophile et donc plus facilement absorbable.

- une toxicité aiguë du pentachlorophénol équivalente pour le produit pur à celle du produit technique, ceci pour la bactérie luminescente et le crustacé cladocère.

- à long terme par contre, le produit technique se révèle significativement plus toxique

que le produit pur (étude réalisée sur l'algue verte *Chlorella vulgaris* et sur le crustacé *Daphnia magna*).

Cette constatation a été faite par Stephenson *et al.* (1991b) sans toutefois avoir pu corrélérer l'augmentation de la toxicité observée pour le produit technique à la présence d'une impureté spécifique ; il est néanmoins clairement établi que des polychlorodibenzodioxines (PCDD) ainsi que des polychlorodibenzofuranes (PCDF) présents dans le PCP technique sont responsables de l'augmentation de la toxicité aquatique du produit technique.

- un comportement différent des matières actives dans le compartiment aquatique à partir de bois traités par les deux formes du pentachlorophénol, PCP et PCPNa avec un relargage plus important du pesticide lorsque les bois sont traités par la forme ionique du pesticide (PCPNa).

L'impact sur le compartiment aquatique de lixiviats provenant de bois traités par du PCPNa est donc important ; pour les bois traités par du PCP en formulation organique l'impact est plus faible mais néanmoins non négligeable (les valeurs de qualité des eaux fixées à 10 µg/l de PCP par le WHO, 1987, sont dépassées).

Le relargage préférentiel du PCPNa dans l'eau peut s'expliquer par :

- une solubilité plus importante du PCPNa dans l'eau par rapport au PCP.
- une fixation plus importante au niveau du bois de la forme moléculaire
- un rôle important joué par la formulation sur la fixation du pesticide dans le bois lors de l'imprégnation.

Dans le cas de bois traités par une formulation aqueuse ou organique de propiconazole, un relargage faible de la propiconazole dans l'eau a été constaté. Ce relargage est légèrement plus important dans le cas du traitement par la formulation aqueuse (ceci bien que la concentration en matière active soit plus importante dans le cas de bois traités par la formulation aqueuse). Malgré le fait que les concentrations en propiconazole dans les eaux de délavage soient légèrement supérieures aux CL 50-96 heures obtenues sur des macro-invertébrés benthiques (Aanes et Baekken, 1994) l'impact sur le compartiment aquatique de bois traités par de la propiconazole reste faible.

Plus généralement, nous avons vérifié que le délavage de matière active à partir de bois traité dépend :

- des propriétés physico-chimiques des matières actives utilisées (solubilité dans l'eau, pKa...).
- de l'affinité des matières actives avec la matrice bois.
- du type de formulation employée (aqueuse ou organique) avec un relargage moins important des fongicides dans le milieu aquatique dans le cas de traitement par des formulations organiques.

La toxicité des lixiviats évaluée sur *Vibrio fischeri* a montré une bonne corrélation avec la présence du pesticide ; un rôle important dans la réponse toxique des matières extractibles du bois a également été démontré.

2. Compartiment aérien

2.1. Influence de la tension de vapeur sur les émanations de pesticide dans l'air à partir de bois traités

La tension ou pression de vapeur est définie comme la pression de saturation au-dessus d'une substance solide ou liquide (voir annexe 1). C'est un paramètre d'une importance fondamentale lorsque l'on étudie la volatilisation d'un pesticide à partir d'un matériel émetteur qui est ici le bois traité.

Cette tension de vapeur est calculée expérimentalement selon sa valeur théorique estimée par calcul (ligne directrice OCDE 104), ceci dans le cas d'une substance pure.

La tension de vapeur indique la capacité que possède une substance pure à se volatiliser à partir d'un état liquide ou solide. Dans cette étude, les trois pesticides étudiés ont des valeurs de tension de vapeur fournies par la littérature permettant de les classer du plus volatil vers le moins volatil dans l'ordre :

*Pentachlorophénol (10^{-4} mm Hg ; moyenne de 4 valeurs) > Propiconazole ($1.4 \cdot 10^{-6}$ mm Hg ; moyenne de 3 valeurs) > Chlorothalonil ($4.5 \cdot 10^{-7}$ mmHg, moyenne de 2 valeurs).

Cependant cet ordre n'est pas retrouvé lorsque l'on dose les concentrations de pesticide dans l'air, ces valeurs donnant l'ordre suivant (de la concentration la plus forte vers la concentration la plus faible) : Pentachlorophénol > Chlorothalonil > Propiconazole.

En fait, les tensions de vapeur, calculées pour des substances pures, ne tiennent pas compte de la rétention du pesticide dans la matrice imprégnée, dans notre cas le bois. Celui-ci va retenir plus ou moins fortement le pesticide : sa concentration dans l'air sera donc obligatoirement inférieure ou égale à la concentration saturante (Zimmerli, 1982) calculée à partir de la pression de vapeur de la molécule.

Dans le cas des molécules étudiées précédemment, nous avons observé une rétention différente des matières actives dans le bois. En effet, si cette rétention était nulle, et dans le cas de substances pures, les concentrations de pesticide dans l'air observées seraient proches (inférieures ou égales) de la concentration saturante de la molécule dans l'air, ceci pour des concentrations suffisantes de pesticide dans le bois et pour des valeurs de ratio tendant vers l'infini, soit :

220 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le PCP

19 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour la propiconazole

5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le chlorothalonil

à 20°C (ceci à partir des tensions de vapeur fournies par la littérature)

La pression de vapeur des pesticides utilisés dans le traitement des bois ne peut donc être directement corrélée aux émanations du pesticide dans l'air du fait de la rétention par la matrice bois qui tend à réduire la volatilisation.

2.2. Influence du taux de charge sur la volatilisation

Comme nous l'avons observé dans le cas du pentachlorophénol et du chlorothalonil, le taux de charge est un facteur essentiel lors de l'étude des émanations de pesticide à partir de bois traités.

En effet, sa valeur dans les petites enceintes sera souvent supérieure à celle que l'on trouve sur le terrain (taux de charge conseillé par le Ministère de la Santé Allemand : $0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$, Petrowitz, 1986).

La relation liant les concentrations de pesticide dans l'air n'est toutefois pas directement proportionnelle au taux de charge.

On observe en effet une saturation des concentrations du pesticide vers $180 \text{ } \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les émanations de PCP provenant de bois traités par du pentachlorophénol séchés 3 semaines, ceci lorsque le taux de charge dépasse $1.36 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (figure 26). Pour les mêmes blochets séchés cette fois 11 semaines, la saturation située plus bas (vers $100 \text{ } \mu\text{g}/\text{m}^3$) a lieu pour des taux de charge supérieurs à $2.4 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

Pour les bois traités par des formulations contenant du chlorothalonil, la concentration de chlorothalonil pour des taux de charge élevés tend vers la concentration saturante ($6 \text{ } \mu\text{g}/\text{m}^3$ à 23°C) pour les imprégnations par une formulation à 5 % ; pour les imprégnations par une formulation à 1 %, les concentrations à l'équilibre tendent vers une valeur asymptotique plus basse ($4.3 \text{ } \mu\text{g}/\text{m}^3$).

Ces valeurs de saturations observées pour les courbes "concentration en fonction du taux de charge" dépendent de :

- la concentration saturante du pesticide dans l'air
- la quantité de pesticide disponible à la surface du bois pour la volatilisation.

Cette quantité finie de pesticide présente à la surface du bois dépend :

* des concentrations de matières actives "injectées" lors de l'imprégnation par la formulation

* des teneurs restant disponibles à la surface du bois lors de la réalisation de l'essai. La quantité de pesticide disponible à la surface du bois diminue constamment en fonction du temps, par volatilisation et par migration du pesticide vers l'intérieur du bois (Haloui *et al.*, 1995).

Il semble donc que la teneur en matière active dans le bois influe directement sur la valeur de l'asymptote que l'on obtient pour des concentrations de matière active dans l'air correspondant à des taux de charge tendant vers l'infini.

2.3. Modifications apportées à la norme AFNOR NF X 41-566

Les études de volatilisation réalisées grâce à notre modèle expérimental nous ont conduits à modifier considérablement les conditions expérimentales utilisées initialement et calquées sur celles de la norme AFNOR NF X 41-566. Les modifications de cette norme sont donc nécessaires pour que les essais d'émanations soient réalistes.

Les modifications permettant l'amélioration de la méthodologie portent sur les paramètres suivants :

- séchage du bois avant essai (non précisé dans la norme)

Les échantillons de bois doivent être séchés au minimum trois semaines avant leur placement dans la chambre d'essai. Cette période de séchage permettra l'obtention de cinétiques comportant une phase "plateau" et concerne essentiellement les pesticides à tension de vapeur élevée ou moyenne.

- réduction du taux de charge de 10.8 à 5.4 jusqu'à 1.3 m^2/m^3 voir inférieur à 1 m^2/m^3 .

En effet, un nombre trop important de blochets dans l'enceinte empêche toute modélisation de la concentration en fonction du taux de charge car les valeurs de ratio sont trop éloignées des valeurs que l'on retrouve sur le terrain. En effet, dans le cas de pesticide ayant une tension de vapeur relativement élevée (cas du PCP), les concentrations obtenues pour des taux de charge supérieurs à 2.7 m^2/m^3 sont proches des valeurs saturantes du pesticide dans l'air.

- un positionnement des échantillons dans l'enceinte perpendiculaire au flux laminaire de l'air. Ceci dans le but de réduire les perturbations de l'air dans l'enceinte, les phénomènes de redéposition des pesticides sur les blochets situés en aval du flux laminaire d'air et le taux de charge.

- la suppression du ventilateur

En effet, le ventilateur est source d'adsorptions nous avons trouvé que les quantités détectées dans les ampoules à solvant en absence de ventilateur sont toujours supérieures aux quantités détectées lors de la présence de ventilateur dans la chambre témoin (voir paragraphe 2.5., adsorption du PCP). La différence observée correspond vraisemblablement à la quantité de pesticide adsorbée sur le ventilateur.

Les quelques modifications apportées à la norme expérimentale AFNOR X 41-566 ont permis d'améliorer le protocole ainsi que les résultats obtenus en les rendant reproductibles et surtout exploitables. Une valeur pseudo-stationnaire (moyenne des 3 premières valeurs du plateau accompagnée de son écart-type) pour un temps de séchage et un taux de charge définis, difficile à évaluer en suivant le protocole de la norme expérimentale, est devenue aisément calculable par l'obtention d'un plateau.

Cette moyenne pourra alors être intégrée à la courbe "concentration du pesticide en fonction du taux de charge" et permettra après modélisation de calculer les concentrations que l'on sera susceptible d'obtenir dans le cas de ratio inférieurs à 1 m^2/m^3 .

Une nouvelle norme européenne concernant la volatilisation de pesticide à partir de bois

traités est parue en 1995 (AFNOR, XP ENV 1250-1) ; cette norme intègre une période de séchage du bois avant expérimentation. Cependant, elle conserve toujours un nombre important de blochets et la présence du ventilateur dans la chambre d'essai. Il serait prudent, si ce ventilateur doit être conservé, de spécifier qu'il soit en matière non adsorbante.

2.4. Avantages et inconvénient du modèle de petites enceintes

Les avantages d'une modélisation de pesticide dans l'air à partir de petites enceintes sont :

- un encombrement réduit permettant de réaliser plusieurs essais simultanément ainsi qu'une manipulation aisée des chambres d'essai : ceci permet d'étudier l'effet du taux de charge sur la volatilisation dans la même manipulation.
- un taux de charge relativement élevé permettant de doser des pesticides dans l'air dont la tension de vapeur est faible ou la rétention dans le bois importante.
- la suppression des phénomènes de condensation sur les parois par la disposition des chambres d'essai 3.5 litres dans une grande enceinte régulée en température et en hygrométrie.

Les petites enceintes expérimentales présentent des inconvénients non négligeable dont :

- la difficulté de travailler à des taux de charge faibles et inférieurs à $1.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$: des problèmes se posent alors pour ce qui concerne la taille des échantillons de bois étudiés. Nous n'avons pas pu étudier pour cette raison des conditions de taux de charge de l'ordre de $0.2 \text{ m}^2/\text{m}^3$ comme cela est recommandé par le ministère de la santé allemand. Pour travailler à ces taux de charge réalistes une augmentation de la taille de l'enceinte expérimentales serait nécessaire : il est en effet plus aisé de jouer sur ce paramètre que de réduire considérablement la taille des échantillons.

- le recours quasiment obligatoire à la modélisation de la courbe "concentration du pesticide en fonction du taux de charge" par une fonction du type $y=a(1-e^{-bR})$

- le recours à la réduction des surfaces de traitement du bois (par une colle) dans le but de réduire le ratio dans le cas d'un pesticide à forte tension de vapeur.

- une surestimation des concentrations de pesticides que l'on trouvera en situation réelle d'un facteur de 1 à 4.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La préservation du bois est un domaine peu connu du grand public ; son rôle dans l'utilisation et le développement de constructions ou d'ouvrages à base de bois est fondamental puisque c'est en préservant le bois que l'on permet à ce biomatériau de conserver ses propriétés mécaniques et esthétiques.

Comme pour bon nombre d'activités industrielles, la préservation du bois ne se réalise hélas pas sans conséquences sur l'environnement.

Ces dernières années ont vu le développement de recherches dans ce domaine cherchant à évaluer et à réduire l'impact de cette activité industrielle sur l'environnement.

Trois étapes cruciales dans le cycle de vie du bois traité peuvent mener à une contamination de l'environnement par des matières actives :

1. le traitement du bois réalisé en scierie : le bois y est le plus souvent imprégné par trempage court ou par autoclave.

La contamination de l'environnement proche d'une telle activité industrielle a engendré souvent une pollution chronique des sols par des matières actives utilisées en préservation du bois, dans le cas de l'utilisation des organochlorés en particulier.

Quelques rares cas de contaminations de cours d'eaux voisins menant à une toxicité aiguë ont également été constatés (McNeill, 1989).

De nouvelles techniques ainsi que des recommandations de "bon usage du traitement des bois" ont permis de réduire ces pollutions à la source (PNUE, 1994).

3. le devenir du bois traité en fin de vie.

Le bois traité en fin de vie doit-il être considéré comme un déchet et dans ce cas suivre les procédures de mise en décharge ou peut-il être valorisé ou recyclé par des procédés acceptables économiquement ?

Ce sont les questions qui se pose actuellement aux professionnels du bois

Entre ces deux étapes du bois traité se situe le travail de cette étude :

2. la contamination des compartiments de l'environnement (air, eau, sol) par l'émission de pesticide à partir de bois traité pendant sa durée de vie en service.

Les deux compartiments de l'environnement, air et eau, ont été étudiés ici. Cependant l'impact du relargage de matière active à partir de bois traités sur le compartiment sol ne doit pas être oublié. Actuellement des recherches pré-normatives sont en cours au niveau européen dans le but de définir une norme expérimentale permettant d'approcher ce risque de contamination du sol par le bois traité (Measurement and testing, 1995).

Pour le **compartiment aquatique**, la toxicité des matières actives s'est révélée importante dans

le cas du PCP et du chlorothalonil et relativement importante dans le cas de la propiconazole. Il faut souligner le rôle joué par les impuretés présentes dans le pentachlorophénol technique provoquant une augmentation de la toxicité chronique du produit technique lorsqu'on la compare à la substance pure.

Le rôle de certains facteurs environnementaux comme le pH a également été mis en évidence; pour une molécule ionisable comme le PCP, le pH du milieu et le pKa de la molécule régulent la toxicité en influençant le rapport des concentrations de la forme moléculaire bioabsorbable et de la forme ionique hydrosoluble.

Pour le comportement de ces matières actives à partir de bois traités (pentachlorophénol, pentachlorophénate de sodium et propiconazole) dans le compartiment aquatique, une nette différence a été mise en évidence entre les deux formes du pentachlorophénol avec un relargage plus important de la forme dissociée. Ceci s'est accompagné d'une plus grande toxicité des lixiviats provenant de bois traités au PCPNa ; pour les bois traités au PCP, un rôle probable de la formulation sur la toxicité des lixiviats a également été mis en évidence. Enfin, pour la propiconazole, le relargage dans l'eau s'est révélé faible et la toxicité des lixiviats s'est montrée proche de celle des témoins.

La toxicité des bois témoins nous a permis de mettre en évidence un relargage à partir du bois de substances extractibles dotées d'une certaine toxicité vis à vis de la bactérie luminescente *Vibrio fischeri*. Les molécules responsables de cette toxicité n'ont pas pu être identifiées pour l'instant.

Pour le **compartiment aérien**, l'optimisation de la méthodologie utilisant des enceintes expérimentales de petites tailles a permis l'étude du comportement des fongicides dans l'air.

A nouveau, une différence entre les deux formes du pentachlorophénol a été constatée, avec une volatilisation plus importante de PCP à partir de bois traités par la formulation organique de pentachlorophénol qu'avec la formulation aqueuse de PCPNa. Cette émission est nettement réduite au bout de 3 mois de séchage pour le traitement par la formulation organique.

Le chlorothalonil a montré un comportement dans le compartiment aérien peu différent selon le type de formulation employée, aqueuse ou organique, avec cependant une émission légèrement plus faible dans le cas de la formulation aqueuse.

Enfin, la propiconazole s'est montrée très peu volatile à partir de bois traité avec des concentrations dans l'air proches de la limite de détection analytique, ceci malgré une tension de vapeur non négligeable supérieure à celle du chlorothalonil et proche de celle du pentachlorophénol.

Cette étude a souligné l'importance fondamentale du taux de charge (rapport m^2 de bois traités sur le volume d'air en m^3) et de la tension de vapeur pour toute évaluation du comportement de pesticide dans l'air à partir d'une matière émettrice.

Une forte rétention de la matrice bois a été notée dans le cas de la propiconazole ce qui montre que la relation liant la concentration pseudo-stationnaire du pesticide dans l'air à sa tension de vapeur n'est pas directe.

Une nouvelle méthodologie améliorant le protocole de la norme française AFNOR X 41-566, concernant l'étude des émissions de pesticides à partir de bois traités, a également été définie (séchage du bois, positionnement des blochets, suppression du ventilateur...). Elle nous a permis d'obtenir des valeurs de concentrations pseudo-stationnaire de pesticide dans l'air des enceintes, cohérentes et reproductibles.

Cette étude a également montré l'importance de la nature de la formulation sur le relargage de pesticide dans l'environnement à partir de bois traités.

Nous avons constaté que, pour des applications intérieures de bois traités, la qualité de l'air est un élément à prendre en considération : les formulations aqueuses doivent être alors recommandées car la volatilisation de pesticide est en règle générale inférieure à celle de bois traités par des formulations organiques.

Pour des applications externes de bois traités, la qualité de l'eau est prépondérante ; des formulations organiques semblent alors mieux adaptées.

Il faut cependant éviter de tirer des conclusions hâtives. Les agents fixateurs des matières actives dans la matrice bois jouent un rôle important dans la fixation des pesticides, ce rôle n'a pas été étudié dans cette étude.

Pour terminer, les perspectives de l'application de l'écotoxicologie dans le domaine de la préservation du bois sont nombreuses :

En effet, la nécessité de réaliser au moins deux tests de toxicité aquatique pour les produits formulés candidats à l'accréditation C.T.B.P+ réalisée au C.T.B.A. permet de juger de leur sûreté par rapport à l'environnement.

L'intégration de technologies propres ou dépolluantes dans le domaine de la préservation du bois est un secteur en développement ; de nouveaux procédés d'imprégnations, à faibles impacts environnementaux sont en cours d'étude au C.T.B.A. L'application de tests d'écotoxicité à ces nouvelles techniques est nécessaire pour évaluer leur impact sur l'environnement.

La biodégradation de bois traités ou la biorémédiation de sols pollués par des matières actives utilisées en préservation du bois est en cours d'étude : pour évaluer l'efficacité de ces procédés biotechnologiques et de leur réelle dépollution, les études écotoxicologiques sont primordiales.

Enfin, la valorisation énergétique du bois traité en fin de vie, nécessite une évaluation des risques liés aux produits de combustions gazeux et solides (cendres) sur les compartiments de l'environnement ; cette évaluation intègre obligatoirement une approche impliquant des tests biologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- AANES K.J. et BAEKKEN T., 1994, Acute and long-term effects of propiconazole on freshwater invertebrate communities and periphyton in experimental streams, Norwegian J.Agricult. Sci., 13, 179-193.
- ADAMS N., GOULDING K.H. et DOBBS A.J., 1985, Toxicity of eight water-soluble organic chemicals to *Selenastrum capricornutum*: a study of methods for calculating toxic values using different growth parameters, Arch.Environ.Contam.Toxicol., 14, 333-345.
- ADEMA D.M.M. et VINK G.J., 1981, A comparative study of the toxicity of 1,1,2-trichloroethane, dieldrin, pentachlorophenol and 3,4 dichloroaniline for marine and fresh water organisms, Chemosphere, 10, 6, 533-554.
- AFNOR, 1984, Détermination de l'inhibition de mobilité de *Daphnia magna*, NF T 90-301.
- AFNOR, 1986, Essai d'inhibition de la croissance des végétaux par une substance, NF X 31-202 (ISO 11269-2).
- AFNOR, 1988, Entraînement par l'eau de composants actifs des produits de préservation à partir de bois traités, X 41-565.
- AFNOR, 1991, Détermination de l'inhibition de luminescence de *Photobacterium phosphoreum*, NF T 90-320.
- AFNOR, 1992, Entraînement par l'air de composants actifs des produits de préservation à partir de bois traités, X 41-566.
- AFNOR, 1993, Détermination des effets des polluants sur la flore du sol, X 31-203.
- AFNOR, 1994, Détermination des effets des polluants sur la flore du sol, NF X 31-203 (ISO 11269-1).
- AFNOR, 1995, Mesurage des pertes de matières actives et d'autres composants du produit de préservation à partir de bois traités, partie 1, XP ENV 1250-1.
- AFNOR, 1995, Mesurage des pertes de matières actives et d'autres composants du produit de préservation à partir de bois traités, partie 2, XP ENV 1250-2.
- AOYAMA I., OKAMURA H. et YAGI M., 1987, The interaction effects of toxic chemical combinations on *Chlorella ellipsoidea*, Toxicity Assessment, 2, 341-355.
- ARSENAULT R.D., 1976, Pentachlorophenol and contained chlorinated dibenzodioxins in the environment, American Wood-Preservers Association, 122-148..

ASAKAWA F., JITSUNARI F., TAKEDA N., MANABE Y., SUNA S. et FUKUNAGA I., 1994, Indoor air concentration of chlordane, and its seasonal variation, Bull.Environ.Contam.Toxicol., 52, 546-553.

AVAT F., 1993, Contribution à l'étude des traitements thermiques du bois jusqu'à 300°C: transformation chimiques et caractérisations physico-chimiques, rapport de thèse.

BACH B. et PEDERSEN N.B., 1977, Contact dermatitis from a wood preservative containing tetrachloroisophthalonitrile, Contact Dermatis, 3, 142.

BAUCHINGER M., DRESP M., SCHMID E. et HAUF R., 1982, Chromosomes changes in lymphocytes after occupational exposure to pentachlorophenol, Mutation Res., 102, 83-88.

BELLIN C.A. et O'CONNOR G.A. (1990), Plant uptake of pentachlorophenol from sludge amended soils, J.Environ.Qual., 19, 598-602.

BENMEI C., XIANGPU W. et MINRU X., 1992, Gas chromatographic determination of chlorothalonil concentration in the air of workshops, Analisis, 20, 291-293.

BESSI H., RAST C., NGUYEN-BA G. et VASSEUR P., 1994, Chlorothalonil promotes morphological transformation in hamster embryo cells but does not inhibit gap junctional intercellular communication either in SHE cells or in the V79 cell line, Cancer J., 7, 248-258.

BLAKE G. et MERLIN G., 1990, Etude de l'impact d'un xénobiotique sur le milieu aquatique: approche méthodologique, The challenge -Safety and Environment-, Cannes 1990, Document IRG/WP/3600, 169-179.

BLESSING R. et DERRA R., 1992, Holzschutzmittelbelastungen durch pentachlorphenol und lindan in wohn-und aufenthalträumen, Staub-Reinhalung der luft, 265-271.

B.O., 1995, Bulletin Officiel du ministère de la santé, Avis du CSHPF du 11 juillet 1995, n°95/37.

BROUWER D.H., BROUWER R., DE MIK G., MAAS C.L. et VAN HEMMEN J.J., 1992, Pesticides in the cultivation of carnations in the cultivation of carnations in greenhouses: part 1-Exposure and concomitant health risk, Am.Ind.Hyg.Assoc.J., 53, 575-581.

BUA, 1986, Ges.Dt.Chemiker, ed., Pentachlorophenol report of the advisory group for existing chemicals which are relevant from an environmental point of view, Weinheim, Deerfield Beach, VCH Publishers, 183 p.

BULICH A., HUYNH H. et ULITZER S., 1995, Measuring chronic toxicity using luminescence bacteria, Microbics corporation, carlsbad C A.

CAIRNS J., 1983, Are single toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? , Hydrobiologia, 100, 47-57.

CALLELA A., BALDASANO J.M. et MULET A., 1986, Toxicity analysis of leachates from hazardous wastes via microtox and *Daphnia magna*, Toxicity.Assess., 1, 73-83.

- CHOI J. et AOMINE S., 1972, Effects of soil on the activity of pentachlorophenol, *Soil Sci.Plant Nutr.*, 18, 255-260.
- COLOMBO A., DE BORTOLI M., PECCHIO E., SCHAUBENBURG H. et SCHLITT H. et VISSERS H., 1990, Chamber testing of organic emission from building and furnishing materials, *The science of the total environment*, 91, 237-249.
- COWGILL U.M., EMMEL H.W., HOPKINS D.L., APPLGATH S.L. et TAKAHASHI I.T., 1986, The influence of water on reproductive success and chemical composition of laboratory reared populations of *Daphnia magna*, *Water.Res.*, 20, 317-323.
- CROSSLAND N.O. et WOLFF C.J.M., 1985, Fate and biological effects of pentachlorophenol in outdoor ponds, *Environ.Toxicol.Chem.*, 4, 73-86.
- C.T.B.A., 1994, contrat européen "forest", n° MA2B CT 920003, Tanins and wood preservation.
- C.T.B.A., 1995, contrat européen "measurement and testing", Development of test methods as a proposal for a CEN standard to determine the impact of wood preservatives on soil inhabiting organisms and higher plants.
- CULLEN M.C. et CONNELL D.W., 1994, Pesticide bioaccumulation in cattle, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 28, 221-231.
- DAHMS A. et METZNER W., 1979, Zur analytic von pentachlorphenol und tetrachlorphenol in der luft und im urin, *Holz als Roh- und Werkstoff*, 37, 341-344.
- DAVIES P.E., 1985, The toxicology and the metabolism of chlorothalonil in fish. *Metabolism, enzymatics and detoxification in Salmo spp and Galaxias spp*, *Aquat.Toxicol.*, 7, 277-299.
- DAVIES P.E., 1988, Disappearance rates of chlorothalonil (TCIN) in the aquatic environment, *Bull.Environ.Contam.Toxicol.*, 40, 405-409.
- DAVIES P.E., COOK L.S.J et GOENARSO D., 1994, Sublethal response to pesticides of several species of australian freshwater fish and crustaceans and rainbow trout, *Environ.Toxicol. and Chem.*, 13, 1341-1354.
- DE BERTOLDI M., GRISELLI M., GIOVANNETTI M. et BARALE P., 1980, Mutagenicity of pesticides evaluated by means of gene-conversion in *Saccharomyces cerevisiae* and in *Aspergillus nidulans*, *Environ.Mutagenesis*, 2, 359-370.
- DIN 38412 Teil 11, 1982, Testverfahren mit wasserorganismen gruppe L., Bestimmung der wirkung von wasserinhaltsstoffen auf kleinkrebse (Daphnien-kurz-zeittest).
- DOBBS A.J. et GRANT C., 1980, Pesticide volatilisation rates : a new measurement of the vapour pressure of pentachlorophenol at room temperature, *Pestic.Sci.*, 11, 29-32.
- DOBBS A.J. et WILLIAMS N., 1983, Indoor air pollution from pesticides used in wood remedial treatments, *Environ.Pollut.(series B)*, 6, 271-296.

EHRlich W., 1990, The effect of pentachlorophenol and its metabolite tetrachlorohydroquinone on cell growth and the induction of DNA damage in chinese hamster ovary cells, *Mutation Res.*, 244, 299-302.

ELENDT B.P., 1990a, Influence of water composition on the chronic toxicity of 3,4-Dichloroaniline to *Daphnia magna*, *Water Res.*, 24, 1169-1172.

ELENDT B.P. et BIAS W-R., 1990b, Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standart medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*, *Water Res.*, 9, 1157-1167.

EN 335-1, 1992, Définition des classes de risque d'attaque biologique.

EN 350-1, 1994, Durabilité naturelle du bois massif.

ERIKSSON K.E. et WOOD T.M., 1985 , Biodegradation of cellulose, Biosynthesis and biodegradation of wood components, Academic press , p 469.

ERNST W., DOE K., JONAH P., YOUNG J., JULIEN G. et HENNIGAR P., 1991, The toxicity of chlorothalonil to aquatic fauna and the impact of its operational use on a pond ecosystem, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21, 1-9.

European Concerted Action EUR 12294 EN, 1989, Indoor air quality and its impact on man, Sick building syndrome- a practical guide, report n°4, 1-33.

FABRE B., AYELE J., MAZET M. et LAFRANCE P., 1990, Removal of pentachlorophenol by adsorption onto various materials: the effect of organic co-adsorbates (humic substances and lindane), *Revue des Sciences de l'eau*, 3, 277-292.

FAHRIG R., NILSSON C.A. et RAPPE C., 1978, Genetic activity of chlorophenols and chlorophenol impurities., dans Rao K.R. ed., *Pentachlorophenol : chemistry, pharmacology and environmental toxicology*, New York, London, Plenum Press, 325-338.

FERRANDO M.D., JANSSEN C.R., ANDREU E. et PERSOONE G., 1993, Ecotoxicological studies with the freshwater Rotifer *Brachionus calyciflorus*, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 26, 1-9.

FISHER S.W., 1990, The pH dependent accumulation of PCP in aquatic microcosmes with sediment, *Aquat. Toxicol.*, 18, 199-218.

FOUNTAIN J.E., JOSHIPURA P.B. et KELIHER P.N., 1976, Some observations regarding pentachlorophenol levels in Haverford Township, Pennsylvania, *Water Res.*, 10, 185-188.

FREUDENBERG K. et NEISH A.C., The constitution and biosynthesis of lignin, *Molecular biochemistry and biophysics*, 2, Springer-Verlag, Berlin-heidelberg, 1968, 113.

GALLAGHER E.P., CATTLEY R.C. et DI GIULIO R.T., 1992, The acute toxicity and sublethal effects of chlorothalonil in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Chemosphere*, 24, 3-10.

- GEBEFÜGI I., PARLAR H. et KORTE F., 1979, Occurrence of pentachlorophenol in enclosed environments, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 3, 269-300.
- GEBEFÜGI I., 1989, Chemical exposure in enclosed environments, *Toxicol. Environ. Chem.*, 20-21, 121-127.
- GHOSH S.K. et DOCTOR P.B., 1992, Toxicity screening of phenol using microtox, *Environ. Tox. Wat. Qual.*, 7, 157-163.
- GIFFORD J.S., McFARLANE P.N., MAURICE C.J. et ANDERSON S.M., 1995, PCP in aquatic environments arising from historic contamination at wood processing and preservation sites, in *Proceedings of the 3rd International Wood Preservation Symposium The challenge-Safety and Environment*, Cannes, 209-222.
- GLOOSCHENKO V., HOLDRINET M., LOTT J.N.A. et FRANK R., 1979, Bioconcentration of chlordane by the green alga *Scenedesmus quadricauda*, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 21, 515-520.
- GOODRICH-MAHONEY J.W., MURARKA I.P., HOLCOMBE L.J. et HORN M.E., 1993, Pentachlorophenol-treated wood poles and crossarms : toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) results, *Environ. Internat.*, 19, 535-542.
- GROCHOWALSKI A. et GORSKI L., 1990, Gas chromatographic determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in wood preservatives, *J. Chromatography*, 502, 160-166.
- GRUTTKE H., KRATZ W., PAPENHAUSEN U., WEIGMANN G. et HAQUE A., 1986, Transfer of ¹⁴C-Na-PCP in model-foodchains, *Verhd. Ges. Okol.*, 14, 451-455.
- GUPTA P.K., MUJUMDAR V.S., RAO P.S. et DURVE V.S., 1982, Toxicity of phenol, pentachlorophenol and sodium pentachlorophenate to a freshwater teleost *Lebistes reticulatus* (Peters), *Act. Hydrochim. Hydrobiol.*, 10, 2, 177-181.
- HALOUI A., BOUZON J. et VERGNAUD J.M., 1995, Comparaison of the release in water of PCP used for preservation of wood, *Holzforchung*, 49, 15-19.
- HENDRIKS A.J., MA W.C., BROUNS J.J., de RUITER-DIJKMAN E.M. et GAST R., 1995, Modelling and monitoring organochlorine and heavy metal accumulation in soils, earthworms, and shrews in Rhine-delta floodplains, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29, 115-127.
- HILL E.F. et FLEMING W.J., 1982, Anticholinesterase poisoning of birds: field monitoring and diagnosis of acute poisoning, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1, 27-38.
- HORN W. et MARUTZKY R., 1993, Measuring of organic wood preservatives in indoor air-sampling and 1 m³- chamber tests, *Proceedings of the 6th International conference on Indoor Air quality and climate*, Helsinki, 2, 513-518.
- HYDROQUAL LABORATORIES LTD., 1992, Toxicity of aspen wood leachate to aquatic life, Part 1. Laboratory studies, prepared for :Environmental Protection branch, Northern Interior Region, 1-49.

IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 1987, Sup.7, Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, volumes 42, Lyon, 350-354.

IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 1991, Occupational exposures in insecticide application and some pesticides, Pentachlorophenol, 53, 371-402.

INGRAM L.L., MCGINNIS G.D. et GJOVIK L.R., 1981a, The relative amount of pentachlorophenol volatilization from treated wood, A.W.P.A. association, 102-108.

INGRAM L.L., MCGINNIS G.D. et JASPERSE G., 1981b, The effect of solvent systems on the volatilization of pentachlorophenol from treated wood, A.W.P.A. association, 109-117.

ISO, 1993, Qualité du sol-effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eisenia fetida*), 11268-2.

JAFVERT C.T., 1990, Sorption of organic acid compounds to sediments: initial model development, Environ.Tox.Chem., 9, 1259-1268.

JÄPPINEN P., PUKKALA E. et TOLA S., 1989, Cancer incidence of workers in a finnish sawmill, Scand.J.Work Environ.Health, 15, 18-23.

JAMET P. et EUDELIN V., 1992, Assessment of the movement of triazole fungicides by soil thin-layer chromatography, The science of total Environ., 124, 459-468.

JAYJOCK M.A., DOSHI D.R., NUNGESSER E.H. et SHADE W.D., 1995, Development and evaluation of a source/sink model of indoor air concentrations from isothiazolone-treated wood used indoors, Am.Ind.Hyg.Assoc.J., 56, 546-557.

JANSSON K. et JANSSON V., 1991, Induction of mutation in V79 chinese hamster cells by tetrachlorohydroquinone, a metabolite of pentachlorophenol, Mutation Res., 260, 83-87.

JOUANY J.M., 1993, Métabolisation des produits phytosanitaires et cancers épigénétiques, C.R.Acad.Agric.Fr., 79, 19-25.

J.O., 1989, Arrêté du 10 février 1989, J.O. du 25/02/89.

J.O., 1992, Arrêté du 5 Août 1992, J.O. du 22/09/92.

J.O.C.E., 1991, Neuvième modification de la directive 76/769/CEE du 21 Mars 1991, J.O n°L 85/35.

J.O.C.E., 1994a, Note de consultation sur la prochaine révision de la politique communautaire en ce qui concerne le pentachlorophenol (PCP), n°C 315/4.

J.O.C.E., 1994b, Décision de la commission du 14 septembre relative à l'interdiction du pentachlorophenol (PCP) notifié par l'Allemagne, n° L 316/43.

J.O.C.E., 1994c, Directive 94/60/CE portant quatorzième modification de la directive 76/769/CEE, n° L 365/1.

KAMMENGA J.E., VAN GESTEL C.A.M. et BAKKER J., 1994, Patterns of sensitivity to cadmium and pentachlorophenol among nematodes species from different taxonomic and ecological groups, Arch.Environ.Contam.Toxicol., 27, 88-94.

KAWACHI T., YAHAGI T., KADA T., TAZIMA Y., ISHIDATE M., SASAKI M. et SUGIYAMA T., 1980, Cooperative programme on short-term assays for carcinogenicity in Japan. In : MONTESANO, Bartsch H. and Tamatis L. (eds). Molecular and cellular aspects of carcinogen screening tests, IARC Scientific Publications n°27, Lyon, 323-330.

KAWAMOTO K. et URANO K., 1989, Parameters for predicting fate of organochlorine pesticides in the environment : octanol-water and air-water partition coefficients, Chemosphere, 18, 1987-1996.

KONISHI K., ADACHI H., KITA K. et HORIKOSHI I., 1986, Inhibitory effects of tannic acid on the respiratory chain of *Photobacterium phosphoreum*, Chem.Pharm.Bull., 35, 1169-1175.

KLEKNER V. et KOSARIC N., 1992, Degradation of phenols by algae, Environ. Technology, 13, 493-501.

KLOPFER W., KAUFMANN G., RIPPEN G. et POREMSKI H.J. , 1982, A laboratory method for testing the volatility from aqueous solution: first results and comparison with theory, Contam.Toxicol., 30, 206-213.

KRAHN P.K. et SHRIMPTON J.A., 1988, Stormwater related chlorophenol releases from seven wood protection facilities in British Columbia (Canada), Water Pollut.Res.J.Canada, 23, 45-54.

KRAUSE C., ENGLERT N. et DUBE P., 1987, Pentachlorophenol containing wood preservatives analyses and evaluation, 4th International Conference on indoor air quality and climate, 1, 220-224.

KOZAK V.P., SINSIMAN G.V., CHESTERS G., STENSBY D. et HARKIN J., 1979, Review of the environmental effects of pollutants : 9.chlorophenols, Washington DC, US Environmental protection Agency, report 600/1-79-012.

KUSK K.O. et NYHOLM N., 1991, Evaluation of a phytoplankton toxicity test for water pollution assessment and control, Arch.Environ.Contam.Toxicol., 20, 375-379.

KWOK I. M-Y. et LOEFFLER T., 1993, The biochemical mode of action of some newer azole fungicides, Pestic.Sci., 39, 1-11.

LABAT G., WAYMEL A. et LAMOUR M., 1995, Le pin : matériau à contact alimentaire, dans Proceedings of the 3rd International Symposium "The challenge safety-environment, Cannes, 1-20.

- LEBLANC G.A. et COCHRANE B.J., 1987, Identification of multiple glutathione S-transferases from *Daphnia magna*, *Comp.Biochem.Physiol.*, 1, 39-45.
- LIANG R. et McFARLAND M-J., 1994 , Biodegradation of pentachlorophenol in soil amended with the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Hazardous waste and hazardous materials*, 11, 3, 411-421.
- LIBER K. et SOLOMON K.R., 1994, Acute and chronic toxicity of 2,3,4,6-tetrachlorophenol and pentachlorophenol to *Daphnia* and rotifers, *Arch.Environ.Contam.Toxicol*, 26, 212-221.
- LUKAVSKY J., 1992, The evaluation of algal growth potential (AGP) and toxicity of water by miniaturized growth bioassay, *Water Res.*, 26, 10, 1409-1413.
- MAEDA S., KUSADOME K., ARIMA H., OHKI A. et NAKA K., 1992, Biomethylation of arsenic and its excretion by the alga *Chlorella vulgaris*, *Appl.Organ.Chem.*, 6, 407-413.
- McCONNEL E.E., HUFF J.E., HEJTMANCIK M., PETERS A.C. et PERSING R., 1989 Toxicology and carcinogenesis studies of two grades of pentachlorophenol in B6C3F1 mice, *Fundam.Appl.Toxicol.*, 17, 519-532.
- McKEE M.J. et KNOWLES O., 1987, Levels of protein, RNA, DNA, glycogen and lipid during growth and development of *Daphnia magna* Straus (Crustacea : cladocera), *Freshwater Biology*, 18, 341-351.
- McMURPHY L.M. et RAYBURN A.L., 1993, Nuclear alterations of maize plants grown in soil contaminated with coal fly ash, *Arch.Environ.Contam.Toxicol.*, 25, 520-524.
- McNEILL A., 1989, The effects of a timber preservatives spillage on the ecology of the river Lossie, *J.IWEM*, 3, 496-504.
- Ministère de l'environnement, 1990, Rapport de la direction de la prévention des pollutions. Mission de contrôle des produits : évaluation des risques mutagènes et cancérigènes liés à l'exposition au chlorothalonil, 1990, rapporteur I.Chouroulinkov.
- MOUVET C., MORHAIN E., SUTTER C. et COUTURIEUX N., 1992, Aquatic mosses for the detection and follow-up of accidental discharges in surface waters, *Water Air and Soil Pollution*, 66, 333-348.
- MORGAN J.W.W. et PURSLOW D.F., 1973, Volatile losses of wood preservatives, B.W.P.A. annual convention, 1-20.
- MULLER H.G., 1980, Experiences with test systems using *Daphnia magna*, *Ecotoxicol.Environ. Safety*, 4, 21-25.
- National Cancer Institute, 1977, Bioassay of chlorothalonil for possible carcinogenicity, Tech.Rep.Ser.n°41, DHEW Publ. n° 786841, Washington DC, US Government Printing Office.

NF EN 28692, ISO 8692, 1993, Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec *Scenedesmus subspicatus* et *Selenastrum capricornutum*.

OCDE, 1984, Algues, essai d'inhibition de la croissance, n°201.

OCDE, 1984, *Daphnia* sp., essai d'immobilisation immédiate et essai de reproduction sur 14 jours, n°202.

OCDE, 1992, Poisson, essai de toxicité aiguë, n°203.

OCDE, 1984, Ver de terre, essai de toxicité aiguë, n°207.

OCDE, 1995, Pression de vapeur, n°104.

OZANNE G., 1987, Pentachlorophénol and the environment, B.W.P.A. Annual convention.

PETERSON H.G., BOUTIN C., MARTIN P.A., FREEMARK K.E., RUECKER N.J. et MOODY M.J., 1994, Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations, *Aquat. Toxicology*, 28, 275-292.

PETROWITZ H.J., 1986, Release of active substances of wood preservatives from chemically treated building timbers, *Holz als Roh und werkstoff*, 44, 314-346.

PFLEEGER T.G., RATSCH H.C. et SHIMABUKU A., 1993, A review of terrestrial plants as biomonitors, *Environ. Toxicol. Risk Assess.*, 2, 317-330.

PNUE (Programme des Nations Unies pour l'Environnement) 1994, Aspects environnementaux de la préservation industrielle du bois, rapport d'activité n°20, pp 1-169.

PRUEGER J.H. et PFEIFFER R.L., 1994, Preliminary tests of a laboratory chamber technique intended to simulate pesticide volatility in the field, *J. Environ. Qual.*, 23, 1089-1093.

RASCIO N., DALLA VECHIA F., FERRETTI M., MERLO L. et GHISI R., 1993, Some effects of cadmium on maize plants, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 244-249.

Recommandations pour la qualité de l'eau au Canada : mise à jour, annexe 8, 1994

ROINESTAD K.S., LOUIS J.B. et ROSEN J.D., 1993, Determination of pesticides in indoor air and dust, *J. AOAC international*, 76, 1121-1126.

ROSANOFF K.A. et SIEGEL M., 1981, Mechanism of action and fate of the fungicide Chlorothalonil in biological systems, interactions with mammalian DNA, histones and isolated rat liver nuclei, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 16, 120-128.

ROMIJN C.A.F.M., LUTTIK R. et CANTON J.H., 1994, Presentation of a general algorithm to include effect assessment on secondary poisoning in the derivation of environmental quality criteria. 2. Terrestrial food chains, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 27, 107-127.

- RUBINSTEIN N.I., 1978, Effects of sodium pentachlorophenate on the feeding activity of the lugworm *Arenicola cristata* Stimpson, Rao K.R. ed., Pentachlorophenol : chemistry, pharmacology and environmental toxicology, New York, London, Plenum press, 175-179.
- SANCHEZ D.C., MASON M. et NORRIS C., 1987, Methods and results of characterization of organic emission from indoor material, Atmos.Environ., 21, 337-345.
- SARKANEN K.V. et LUDWIG C.H., 1971, Definition and nomenclature in Lignins, occurrence, formation, structure and reactions. Ed Sarkanen K.V. & Ludwig C.H., Wiley-Interscience, 11-18.
- SAVORY J.G. et PINION L.C., 1958, Chemical aspects of decay of beech wood by *Chaetomium globosum*, Holzforsh., 12-99.
- SCALBERT A., MONTIES B. et JANIN G., 1989, Tannins in wood : comparison of different estimation methods, J.Agric.Food.Chem., 37, 1324-1329.
- SCALBERT A., 1991, Antimicrobial properties of tannins, Phytochemistry, 30, 3875-3883.
- SCALBERT A., 1992, Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues, Plant polyphenols, 259-280.
- SCHENK G., ROTHWEILER H. et SCHLATTER C., 1993, Indoor air as a source for pesticide intake for man, Proceedings of the 6th international conference on indoor air quality and climate, Helsinki, 2, 213-218.
- SCHUYTEMA S., NEBEKER A.V., PETERSON J.A. et GRIFFIS W.L., 1993, Effects of pentachlorophenol-contaminated food organisms on toxicity and bioaccumulation in the frog *Xenopus laevis*, Arch.Environ.Toxicol., 24, 359-364.
- SCHWETZ B.A., KEELER P.A. et GEHRING P.J., 1974, The effect of purified and commercial grade pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development, Toxicol.Appl.Pharmacol., 28, 151-161.
- SHIGEOKA T., SATO Y., TAKEDA Y., YOSHIDA K. et YAMASCHI F., 1988, Acute toxicity of chlorophenols to green algae, *Selenastrum capricornatum* and *Chlorella vulgaris*, and Quantitative Structure-Activity Relationships, Environ.Toxicol.Chem., 7, 847-854.
- SHIMADA M., HABE T., HIGUCHI T., OKAMOTO T. et PANIJPAN B., 1987, Biomimetic approach to lignin degradation II: the mechanism of oxidative C-C bond cleavage reactions of lignin model compounds with natural iron III porphyrin chloride as a heme-enzyme model system, Holzforsch., 41-227.
- SHOFER S.L. et TJEERDEMA R.S., 1993, Comparative disposition and biotransformation of pentachlorophenol in the oyster (*Crassostrea gigas*) and abalone (*Haliotis fulgens*), Pest.Biochem.Physiol., 46, 85-95.

SMITH P.D., BROCKWAY D.L. et STANCIL F.E., 1987, Effects of hardness, alkalinity and pH on the toxicity of pentachlorophenol to *Selenastrum capricornutum* (printz), Environ.Toxicol.Chem., 6, 891-900.

SNELL T.W., MOFFAT B.D., JANSSEN C et PERSOONE G., 1991, Acute toxicity tests using rotifers: effects of cyst age, temperature and salinity on the sensitivity of *Brachyonus calyciflorus*, Ecotoxicol.Environ.Safety, 21, 3, 308-317.

SOARES M.V.M., BAIRD D.J. et CALOW P., 1992, Interclonal variation in the performance of *Daphnia magna* straus in chronic bioassays, Environ.Toxicol.Chem., 11, 1477-1483.

STEHLY G.R. et HAYTON W.L., 1989, Metabolism of pentachlorophenol by fish, Xenobiotica, 19, 75-81.

STEPHENSON G.L., KAUSHIK N.K. et SOLOMON K.R., 1991a, Acute toxicity of a pure and technical grade pentachlorophenol to three species of daphnia, Arch.Environ.Contam.Toxicol., 21, 73-80.

STEPHENSON G.L., KAUSHIK N.K. et SOLOMON K.R., 1991b, Chronic toxicity of a pure and technical grade pentachlorophenol to *Daphnia magna*, Arch.Environ.Contam.Toxicol, 21, 388-394.

SVENSON A. et ZHANG L., 1995, Acute aquatic toxicity of protolysing substances studied as the microtox effect, Ecotoxicol.Environ.Saf., 30, 283-288.

SZALKOWSKI B. et STALLARD, 1977, Effect of pH on the hydrolysis of Chlorothalonil, J.Agric.Food Chem, 25, 1, 208-210.

TAKAGI K., WADA H. et YAMAZAKI S., 1991, Effects of long-term application of a fungicide, chlorothalonil (TPN) on upland ecosystem, Soil Sci.Plant Nutr., 37, 583-590.

TICHENOR B.A., 1987, Organic emission measurements via small chamber testing, B.Seifert, H.Esdorn, M.Fischer, H.Rüden et J.Wegner (Eds), Indoor Air 87, Institute for water, Soil and Air hygiene, Berlin , 1, 8-13.

TICHENOR B.A. et GUO Z., 1991, The effect of ventilation on emission rates of wood finishing materials, Environ.Int., 17, pp 317-323.

TIEN M. et KIRK T.K., 1984, Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium* purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 81-280.

TAKAGI K., WADA H. et YAMAZAKI S., 1991, Effect of a long-term application of a fungicide, chlorothalonil (TPN) on upland ecosystem, Soil Sci.Plant Nutr., 37, 583-590.

ULLRICH V., ROOTS I., HILDEBRANDT A., ESTABROOK R.W. et CONNEY A.H., 1977 , Microsomes and drug oxydation, Pergamon Press, Oxford.

VALKE A. et VAN LEEMPUT L., 1990, Current models used by the european health authorities to evaluate the volatilization of active ingredients from treated wood used inside dwellings, IRG/WP/3565, 45-60.

VAN BEELEN P. et FLEUREN-KEMILÄ K., 1993, Toxic effects of pentachlorophenol and other pollutants on the mineralization of acetate in several soils, Ecotoxicol.Environ.Saf., 26, pp 10-17.

VAN LEENPUT L.J.J., SWYSEN V.E., MEULDERMANS W.E.G. et HEYKANTS J.J.P., 1987, A laboratory experiment predicting aerial levels of azaconazole following use in wood preservation, Pergamon journals, 16, 1281-1288.

VAN GESTEL C.A.M., VAN DIS W.A., VAN BREEMEN E.M. et SPARENBURG P.M., 1989, Development of a standardized reproduction toxicity test with the earthworm species *Eisenia fetida andrei* using copper, pentachlorophenol and 2,4,-dichloroaniline, Ecotoxicol.Environ.Saf., 18, 305-312.

VASSEUR P., FERARD J.F., RAST C. et WEINGERTNER P., 1986, Le test microtox et le contrôle de la qualité des eaux, J.Franç.Hydrobiol., 17, 153-162.

VITTOZZI L. et ANGELIS G., 1991, A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish, Aquat. Toxicol., 167-204.

von MERSI W. et SCHINNER F., 1991, An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodinitrotetrazolium chloride, Biol.Fertil.Soils, 11, 216-220.

WALSH G.E. et MERRILL R.G., 1984, Algal bioassays of industrial and energy process effluents, Algae as ecological indicators, SHUBERT L.E. (Ed), Academic Press, Londres, 329-360.

WANG W. et FREEMARK K., 1995, The use of plants for environmental monitoring and assessment, Ecotoxicol.Environ.Safety, 30, 289-301.

WARWICK F.S., 1990, The pH dependent accumulation of PCP in aquatic microcosms with sediment, Aquat.Toxicol., 18, 199-218.

WAREN J.S., LAMPARSKI L.L., JOHNSON R.L. et GOOCH R.M., 1982, Determination of pentachlorophenol volatilized from wood via collection on silica gel, Bull.Environ. Contam.Toxicol., 29, 719-726.

WATANABE T., 1993, Relationship between volatilization rates and physicochemical properties of some pesticides, J.Pest.Sci., 18, 201-209.

WHO, 1987, World Health Organization Geneva 1987, Pentachlorophenol, Environmental Health Criteria 71, IPCS International Programme on Chemical Safety, 1-236.

WHO, 1975, World Health Organization Geneva 1975, Chlorothalonil, 115-166.

WONG A.S. et CROSBY D.G., 1981 , Photodecomposition of pentachlorophenol in water, J.Agric.Food Chem., 29, pp 125-130.

WOOD T.M.,1982 , Enzymatic and other factors affecting the microbial generation of soluble sugars from cellulosic material, Proc.Tappi Res.Deve.Div.Conf, Asheville, 327-334.

WÜSTENHÖFER V.B., WEGEN H.W et METZNER W., 1993, Triazole-eine neue fungizidgeneration für holzschutzmittel, Holz-Zentralblatt, 58, 984-988.

YUNKER M.B., WHITNEY F.A., CRETNEY W.J. et WONG C.S., 1990, An experimental marine ecosystem study of the pelagic biogeochemistry of pentachlorophenol, Mar.Environ.Res., 30, 273-295.

ZIMMERLI B. et MAREK B., 1977, Der uebergang biozider stoffe aus anstrichen in die gasphase tetrachlor-isophthalonitril (chlorothalonil), Chemosphere, 5, 215-221.

ZIMMERLI B., 1982, Modellversuche zum Übergang von shastoffen aus anstrichen in die luft, dans Luftqualität in Innenräumen,Gustav Fischer Verlag, 235-267, Stuttgart-New York 1982.

ANNEXES

ANNEXE 1

Théorie et principe du calcul de la pression de vapeur saturante d'une substance dans l'air

La détermination de la pression de vapeur d'une substance est un facteur fondamental si l'on veut connaître le devenir d'une substance dans le compartiment aérien ; elle permet d'estimer la tendance que possède cette substance à se volatiliser et nous permet de calculer la concentration saturante de cette substance dans l'air dans des conditions expérimentales bien définies (température, pression...).

1. Pression de vapeur d'une substance

La pression de vapeur d'une substance est définie comme la pression de saturation au-dessus d'une substance solide ou liquide.

L'unité de pression (système international) est le pascal (Pa), cependant la pression de vapeur d'une substance est couramment exprimée en mm de Hg (1 mm Hg = 1,333 * 10² Pa).

1.1. Estimation de la pression de vapeur par calcul

Cette pression de vapeur peut s'estimer par calcul à l'aide de la corrélation modifiée de Watson ; la seule donnée expérimentale requise étant le point d'ébullition normal (OCDE 104, 1995).

$$\ln P \approx \frac{\Delta H_{vb}}{\Delta Z_b R T_b} \left[1 - \frac{(3-2T/T_b)^m}{T/T_b} - 2m(3-2T/T_b)^{m-1} \ln T/T_b \right]$$

où T est la température choisie

T_b est le point d'ébullition normal

P_{vp} est la pression de vapeur à la température T

Δ H_{vb} est la chaleur de vaporisation

Δ Z_b est le coefficient de compressibilité (estimé à 0.97)

m est le facteur empirique dépendant de l'état physique à la température choisie

Cette méthode est applicable entre 10⁵ et 10⁻⁵ Pa.

1.2. Méthodes expérimentales de calcul de la pression de vapeur

L'estimation de la pression de vapeur par calcul est importante si l'on veut déterminer cette même pression de vapeur plus précisément de manière expérimentale ; il existe en effet plusieurs méthodes normalisées et ligne directrices (OCDE, n° 104) permettant de déterminer expérimentalement la pression de vapeur d'une substance pure.

Cependant aucune de ces méthodes n'est applicable à la totalité de la gamme des pressions qui s'étend de moins de 10⁻⁴ Pa à 10⁵ Pa : la ligne directrice de l'OCDE (n° 104, 1995) fournit 7 méthodes pour le calcul expérimental de la pression de vapeur d'une substance s'appliquant dans différentes gammes de pression de vapeur .

Il faut donc estimer la valeur de la pression de vapeur d'une substance par calcul avant de choisir la méthode expérimentale adéquate. Ces méthodes sont fournies avec leur champs d'application et leur répétabilité et reproductibilité respectives.

Principe de l'essai : en général, la pression de vapeur est déterminée à différentes températures. A l'intérieur d'un intervalle de température limité, le logarithme de la pression de vapeur d'une substance pure est une fonction linéaire de l'inverse de la température thermodynamique, suivant la forme simplifiée de l'équation de Clayperon-Clausius

$$\log P = \Delta H_v / 2,3RT + \text{constante}$$

Cette équation simplifiée de Clapeyron-Clausius montre la relation existant entre la pression de vapeur de la substance P en pascal, la température T en degré Kelvin et la chaleur latente (ou chaleur de vaporisation) ΔH_v de changement d'état (liquide ou solide à gazeux) en $J \text{ mol}^{-1}$ R étant la constante molaire des gaz parfaits = $8.314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$

1.3. Valeurs des pressions de vapeur des pesticides étudiés dans la partie atmosphérique

Comme plusieurs méthodes permettent l'estimation expérimentale de la pression de vapeur d'une substance, les valeurs des pressions de vapeur fournies par la littérature pour une même substance sont variables selon les auteurs.

Ainsi, pour les trois pesticides étudiés dans cette partie expérimentale, les valeurs fournies par la littérature sont les suivantes :

Pesticide	Pression de vapeur en mm Hg
Pentachlorophénol	1.7*10 ⁻⁴ mm Hg (20 °C) Carswell& Hatfield 1938
	1.1*10 ⁻⁴ mm Hg (20 °C) Morgan 1973
	1.1-1.7*10 ⁻⁴ mm Hg (20 °C) Neumüller 1974
	1.5*10 ⁻⁵ mm Hg (20 °C) Zimmerli 1982
chlorothalonil	3.5*10 ⁻⁷ mm Hg (20 °C) Zimmerli 1982
	5.7*10 ⁻⁷ mm Hg (25 °C) ISK-Biotech 1990
Propiconazole	1.9*10 ⁻⁶ mm Hg Van Leemput 1987
	10 ⁻⁶ mm Hg
	1.2*10 ⁻⁶ mm Hg Horn 1993

Valeurs des pressions de vapeurs pour les trois pesticides fournies par la littérature.

2. Calcul de la concentration saturante d'un pesticide dans l'air

Dans une pièce hypothétique dans laquelle il n'y a pas de renouvellement d'air va s'établir, au bout d'un temps donné, un équilibre entre la concentration du produit et l'air ; cette concentration d'équilibre est plus petite ou légèrement plus haute que la concentration saturante qui se calcule à partir de la tension de vapeur de la substance pure.

Cette concentration saturante va s'établir dans cette pièce si il y a un apport suffisant de matériel émettant la substance (autrement dit si le taux de charge est élevé).

Ainsi, la concentration saturante du pentachlorophénol peut se calculer comme suit (Zimmerli, 1982) :

$$\begin{aligned} C_s &= (P \cdot M / R \cdot T) \cdot 10^{12} \\ &= (1.06 \cdot 10^{-4} \cdot 266,2 / 293,2 \cdot 62361) \cdot 10^{12} \\ &= 154,7 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{si l'on prend comme pression de vapeur la} \\ &\quad \text{moyenne des valeurs de la littérature à } 20^\circ\text{C} \\ &= (1,5 \cdot 10^{-5} \cdot 266,2 / 293,2 \cdot 62361) \cdot 10^{12} \\ &= 218 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{selon la pression de vapeur donnée par Zimmerli et pour} \\ &\quad \text{une température de } 20^\circ\text{C} \end{aligned}$$

Pour le chlorothalonil, la concentration saturante est la suivante :

$$\begin{aligned} C_s &= (P \cdot M / R \cdot T) \cdot 10^{12} \\ &= (3,5 \cdot 10^{-7} \cdot 265,9 / 293,2 \cdot 62361) \cdot 10^{12} \\ &= 5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{si l'on prend la pression de vapeur fournie par Zimmerli} \\ &\quad \text{à } 20^\circ\text{C} \\ &= (5,7 \cdot 10^{-7} \cdot 265,9 / 298,2 \cdot 62361) \cdot 10^{12} \\ &= 8 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{si l'on prend la pression de vapeur fournie par ISK} \\ &\quad \text{Bioteck à } 25^\circ\text{C} \end{aligned}$$

Pour la propiconazole, la concentration saturante est la suivante :

$$\begin{aligned} C_s &= (P \cdot M / R \cdot T) \cdot 10^{12} \\ &= 10^{-6} \cdot 342,2 / 293,2 \cdot 62361 \cdot 10^{12} \\ &= 18,7 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{si l'on prend la pression de vapeur fournie par Van} \\ &\quad \text{Leemput à } 20^\circ\text{C} \\ &= 35,5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad \text{si l'on prend la pression de vapeur fournie par Valke} \\ &\quad \text{à } 25^\circ\text{C} \end{aligned}$$

Cette concentration de saturation du pesticide dans l'air est très importante puisque sa valeur va limité les concentrations de pesticide dans l'air si le taux de charge est très élevé ; elle pourra expliquer les cinétiques d'émissions de pesticide dans l'air qui sont de type "asymptotique" pour des taux de charge élevés, ce qui sera le cas des pesticides ayant une pression de vapeur relativement élevée (cas du pentachlorophénol notamment).

Il est important de noter que ces valeurs de concentrations saturantes sont estimées à partir de pression de vapeur calculées à 20°C ; dans la majorité des essais "atmosphériques" réalisés dans cette étude , nous sommes à 23°C . Les concentrations saturantes sont donc légèrement plus élevées que celle fournies dans les calculs précédents.

Essai	Analyses du produit actif PCP en % m/m dans la formulation	Analyses du produit actif PCPNa en % m/m dans la formulation	Temps de séchage après imprégnation	Moyenne des 3 premières valeurs du plateau exprimant la concentration de PCP dans l'air de l'enceinte en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour un climat de 23°C et 45 % d'humidité relative et un taux de renouvellement de l'air de 3.5 litres par heure			
				Manipulation sans ventilateur			
				PCP 5.4 m ² /m ³	PCP 2.7 m ² /m ³	PCPNa 5.4 m ² /m ³	PCPNa 2.7 m ² /m ³
A	5.4	5.3	3 semaines	126	111	59	55
			11 semaines	60	24	46	37
B	4.3	4.9	3 semaines	229	195	18	8
			11 semaines	182	159	31	25
C	4.4	4.3	3 semaines	143	115	22	4
			11 semaines	95	69	19	14
Moyenne des 3 manipulations : séchage 3 semaines				166 ± 55	140 ± 47	33 ± 22	22 ± 28
Moyenne des 3 manipulations : séchage 11 semaines				112 ± 63	84 ± 68	32 ± 13	25 ± 11

Moyenne des concentrations pseudo-stationnaire obtenues lors de la phase plateau pour chaque manipulation et moyenne de l'ensemble

	Protocole utilisé et types de résultats	4 blochets traités					2 blochets traités + 2 blochets en verre			4 blochets non traités		
		non séchés		séchés 3 S		séchés 11 S	non séchés	séchés 3 S	séchés 11 S	non séchés	séchés 3 S	séchés 11 S
P	Séchage du bois											
	Présence (+) ou absence (-) de ventilateur	v-	v+	v-	v+	v-	v+	v+	v-	v+	v+	v-
P	PCP piégé dans toluène	105	96	185	128	62	125	144	24	10	8	1
C	PCP adsorbé sur les parois	104	102	22	26	7	116	22	3	3	0	1
P	PCP adsorbé dans les tubes téflons	65	57	NE	8	2	29	<1	1	<1	<1	<1
	Total PCP volatilisé (piégage + adsorption)	274	255	207	162	71	270	167	28	13	9	2
	% PCP adsorbé/PCP volatilisé	62%	62%	NE	21%	13%	54%	14%	14%	23%	<10%	50%

P	PCP piégé dans toluène					40					38
C	PCP adsorbé sur les parois					7					4
P	PCP adsorbé dans les tubes téflons					NE					1
N	Total PCP volatilisé (piégage + adsorption)					NE					43
A	% PCP adsorbé/PCP volatilisé					NE					12%

PCP récupéré par piégage dans les ampoules à solvant (toluène) et par adsorption sur les parois des enceintes et dans les tubes téflon. Les résultats sont exprimés en μg de PCP et également en % de PCP adsorbé par rapport à la totalité du pesticide volatilisé.

Annexe 4

Analyses du produit actif chlorothalonil m/m en % dans la formulation organique	Analyses du produit actif chlorothalonil m/m en % dans la formulation aqueuse	Temps de séchage après imprégnation	Moyenne des 3 premières valeurs pseudo-stationnaires du plateau exprimant la concentration de chlorothalonil dans l'air de l'enceinte en µg/m ³ pour un climat de 23°C et 45 % d'humidité relative et un taux de renouvellement d'air de 3.5 litres par heure					
			Manipulations sans ventilateur					
			Chloro 5.4 m ² /m ³	Chloro 4.1m ² /m ³	Chloro 2.7m ² /m ³	Chloro 1.3m ² /m ³	Chloro 0.67m ² /m ³	Chloro 0.33m ² /m ³
4.50%		3 semaines	7.7±0		6±0.8			
		11 semaines	2.5±0.7		2.2			
	5.90%	3 semaines	5.8±0.6		5.3±0.6			
		11 semaines	3.2±0.5		2.2±0.3			
		15 semaines	5±0.2	4.9±0.1	4.5±0.4	4.2±0.2		
1.10%		3 semaines	5.8±0.6		5.7±0.1			
		12 semaines	5±0.2		4.9±1			
	1.00%	3 semaines	5.2±0.1		3.9±0			
		12 semaines	5.3±0.3		5.1±0.3			
		15 semaines	4.4	3.3±0.2	3.2±0.1	2.3±0.4		
		3 semaines		3.6±0.7		2±0.2	1.6±0.2	1.2±0.1

Moyenne des concentrations pseudo-stationnaires obtenues lors de la phase plateau pour des blocs traités par des formulations

ANNEXE 5

Toxicité aquatique	PCP pur	PCP technique	PCPNa technique	Propiconazole	Cyperméthrine	chlorothalonil
<i>Vibrio fischeri</i> CE 50-15 min	1.1	0.9	0.9	5.9	NT	0.9
<i>Chlorella vulgaris</i> CE 50 48H	3.5	0.85	1	NE	NE	NE
<i>Daphnia magna</i> CE 50-24H	0.46	0.53	0.49	12.6	3 µg/l	0.22